

ISABELLE OUELLET-MORIN

**ÉTIOLOGIE DES DIFFÉRENCES INDIVIDUELLES
LIÉES À LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE À LA
PETITE ENFANCE : UNE ÉTUDE DES FACTEURS
GÉNÉTIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX**

Thèse présentée
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de doctorat en psychologie
pour l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)

ÉCOLE DE PSYCHOLOGIE
FACULTÉ DES SCIENCES SOCIALES
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

2008

© Isabelle Ouellet-Morin, 2008

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

L'objectif de cette thèse de doctorat consiste à étudier l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires à la petite enfance, une période du développement caractérisée par une forte plasticité de certaines structures cérébrales. Une attention particulière est accordée à l'investigation des variations des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale, indice d'une possible interaction entre les gènes et l'environnement. L'adversité familiale renvoie à une mesure composite de 7 facteurs périnataux et postnaux ayant été liés à la sécrétion cortisolaires (l'exposition prénatale à la cigarette, le faible poids à la naissance, le faible revenu familial, pas de diplôme d'études secondaires, mère monoparentale, le jeune âge de la mère et les comportements maternels hostiles ou réactifs envers les jumeaux). Considérant que les mesures cortisolaires ont été effectuées dans des contextes différents (prélèvements salivaires réalisés à deux temps au cours de la journée vs une réponse à un stress de nouveauté sociale) et à des âges distincts (6 vs 19 mois), la poursuite de cet objectif s'effectue séparément pour ces mesures. Dans un premier temps (article 1; mesure réactive à un contexte de nouveauté sociale à 19 mois), les résultats indiquent une variation des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale, prenant la forme d'un effet organisationnel de l'adversité environnementale. Cet effet se traduit par une contribution réduite des facteurs génétiques combinée à une plus forte contribution de l'environnement partagé en contexte d'adversité familiale comparativement à une contribution génétique modérée du cortisol réactif en absence d'adversité familiale. Dans un deuxième temps (article 2; mesures diurnes à 6 mois), les résultats indiquent une variation des contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaires matinales en fonction de l'adversité familiale. Cette variation prend cette fois la forme d'une plus forte héritabilité en présence d'adversité familiale alors que seuls les facteurs environnementaux uniques entrent en jeu en l'absence de ce contexte de vie adverse. Aucune variation des contributions génétiques et environnementales n'est notée sur la sécrétion cortisolaires mesurée au réveil en fonction de l'adversité familiale. Pour cette mesure, seuls les facteurs génétiques expliquent la ressemblance entre les jumeaux d'une même paire.

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été pour moi un cheminement, une quête personnelle, une transformation. Oser s'approprier une idée, la travailler, la bonifier, la faire sienne et la proposer aux autres avec confiance. Dans mon cas, le processus a été aussi important que l'apprentissage effectué et le demeurera pour longtemps. Sans aucun doute, bien plus longtemps que les propos de cette thèse resteront d'actualité. En effet, les connaissances voyagent à une vitesse grand V ces temps-ci. Faire partie de la vague est pour moi une expérience enivrante... Il faut croire que je commence à avoir la piqûre!!!

Cette transformation, je la dois en grande partie à mon directeur de thèse, Dr Michel Boivin. Certains diront « Goodness of Fit », j'ajouterai : en raison de nos différences. Par ta supervision et ta grande disponibilité, je commence à acquérir (il paraît que l'apprentissage se poursuit pendant plusieurs années!) une rigueur intellectuelle qui m'a toujours impressionnée chez toi. Le « Fit » était parfait aussi en raison de l'inspiration transmise par ma co-directrice, Dr Ginette Dionne. Voir plus grand que nature (nurture)! Je tiens aussi à remercier les Drs Lupien et Tarabulsy pour leur contribution indispensable à ce projet. Merci à mon groupe de recherche: Nancy, Emmanuel, Nathalie, Amélie, Stéphane, Éric, Sandra, Annie, Natalia, Nadine, Jean-Pascal, Stéphanie, Catherine, Édith, Hélène, Bei, Rachel. J'ai été honorée de faire partie de votre équipe. Je tiens également à remercier Patricia pour son aide indispensable aux moments critiques.

Je désire également exprimer toute ma gratitude à ma famille et à mes amis. La rédaction de cette thèse a notamment été possible en raison de votre soutien constant. Denise, Gaston, Maryse et Jean-François, votre confiance était sans borne et sans égal. Merci à Julie et à Véronique pour vos encouragements. Un remerciement tout spécial va à Séverine, ma grande complice... Trouver ce qui fait écho, voilà notre défi! Je tiens finalement à remercier mon compagnon de vie, Thomas. La force que tu perçois en moi a été inspirante et déterminante tout au long de ce projet. Tes encouragements étaient justes et motivants. L'amour donne des ailes!!!

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ DE LA THÈSE	i
AVANT-PROPOS	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES FIGURES	iv
CHAPITRE 1. PERSPECTIVES THÉORIQUES SUR L'ÉTIOLOGIE GÉNÉTIQUE ET ENVIRONNEMENTALES DE LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE À LA PETITE ENFANCE	1
1.0 INTRODUCTION	1
1.1 LE CORTISOL: HORMONE GLUCOCORTICOÏDE LIÉE AU STRESS	5
1.2 L'EXPOSITION À DES ENVIRONNEMENTS ADVERSES ET LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE	11
1.2.1 La petite enfance : une période de sensibilité accrue à l'environnement	13
1.3 CONTRIBUTION DES FACTEURS GÉNÉTIQUES À LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE CHEZ L'HUMAIN	16
1.4 INTERACTION GÉNOTYPE ET ENVIRONNEMENT : UNE HYPOTHÈSE À INVESTIGUER	20
1.4.1 Le modèle « diathèse-stress »	21
1.4.2 L'effet organisationnel de l'environnement adverse précoce	25
1.5 CONCLUSION	30

1.6	OBJECTIFS DE LA THÈSE	31
CHAPITRE 2. LES PREMIER ET DEUXIÈME ARTICLES EMPIRIQUES DE LA THÈSE		
		33
CHAPITRE 3. CONCLUSION GÉNÉRALE		
		98
3.0	RETOUR SUR LES OBJECTIFS	98
3.1	ÉTIOLOGIE GÉNÉTIQUE ET ENVIRONNEMENTALE DE LA RÉACTIVITÉ CORTISOLAIRE: UN EFFET ORGANISATIONNEL DE L'ADVERSITÉ FAMILIALE	99
3.2	ÉTIOLOGIE DE LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE DIURNE: CONTRIBUTIONS GÉNÉTIQUES ET ENVIRONNEMENTALES DISTINCTES AU RÉVEIL (MAISON) ET EN MATINÉE (LABORATOIRE)	101
3.3	INTÉGRATION DES RÉSULTATS ET PISTES D'INTERPRÉTATION	103
3.3.1	Patrons étiologiques distincts: considération des structures cérébrales sollicitées	103
3.3.2	Patrons étiologiques distincts: considération des périodes de sensibilité des structures cérébrales liées à l'axe HPS	106
3.4	LIMITES DE LA THÈSE ET ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES	112
3.5	AVENUES DE RECHERCHE PROMETTEUSES	114
3.5.1	La stabilité des patrons étiologiques	114
3.5.2	Une étude approfondie des gènes mesurés	115
3.5.3	Une étude approfondie des environnements mesurés	116

3.5.4	Considérations temporelles : séquence des évènements et chronicité de l'adversité	116
3.5.5	Exposition à un environnement adverse précoce et processus cognitifs	117
3.5.6	Émergence de patrons cortisolaires atypiques : la pointe de l'iceberg	118
3.6	CONCLUSION	119
	RÉFÉRENCES (CHAPITRES 1 ET 3)	120

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Principales structures cérébrales liées à la régulation de l'axe HPS, incluant ces principales voies d'activation (+) et d'inhibition (-). 6
- Figure 2. Profils normatifs et atypiques de sécrétion cortisolaire au cours d'un cycle de 24 heures. 7
- Figure 3. Périodes de sensibilité correspondant à la maturation des principales structures cérébrales liées à la sécrétion cortisolaires et à la période d'hyporéactivité au stress. 14

CHAPITRE 1. PERSPECTIVES THÉORIQUES SUR L'ÉTIOLOGIE GÉNÉTIQUE ET ENVIRONNEMENTALES DE LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE À LA PETITE ENFANCE

1.0 INTRODUCTION

Hans Selye introduit en 1936 la notion de *stress* qu'il a défini comme un agent susceptible de menacer l'homéostasie de l'organisme et de déclencher plusieurs réponses physiologiques et comportementales. Selye avait observé que les individus confrontés à un stress montrent généralement un ensemble similaire de réponses physiologiques et comportementales, qu'il a nommé le *syndrome général d'adaptation* (Selye, 1936). Les réponses sont multiples et habituellement caractérisées par l'augmentation de l'état de vigilance, des capacités attentionnelles, du rythme cardiaque et respiratoire et par l'inhibition de la digestion, de la croissance et de la sexualité (Chrousos & Gold, 1998). Selye a aussi soutenu qu'une réponse adaptative au stress est limitée dans le temps et permet d'accroître les chances de survie d'un individu. Or, lorsque la réponse au stress se chronicise, est exagérée ou est inutilement répétée, l'action préalablement protectrice de la réponse au stress peut s'avérer nuisible.

McEwen et Stellar (1993) ont proposé le modèle de la surcharge allostatique afin d'intégrer l'action biphasique (i.e. protectrice et dommageable) des réponses physiologiques activées en réponse à un stress (McEwen & Stellar, 1993). Le processus d'adaptation au stress est initié par des médiateurs primaires (cortisol, catécholamines et dehydroépiandrosterone [DHEA]), qui modulent l'activation de nombreux systèmes (ex. cardiovasculaire, hormonal, digestif, immunitaire, etc.) afin d'augmenter l'énergie disponible pour permettre à l'organisme de combattre ou de fuir (Charmandari, Kino, Souvatzoglou, & Chrousos, 2003). Ce processus réfère à l'« allostasis » ou au « maintien de la stabilité par le changement » (McEwen & Stellar, 1993). À court terme, les médiateurs primaires exercent une action protectrice puisqu'ils contribuent au maintien de l'homéostasie en optimisant l'adaptation de l'organisme à des contextes de vie changeants (McEwen & Wingfield, 2003). À long terme cependant, l'effet cumulé des médiateurs

primaires sur l'organisme donne lieu à des changements physiologiques secondaires (ex. augmentation de la pression sanguine, des niveaux de cholestérol et de glucose, affaiblissement du système immunitaire) notables dès l'enfance (Evans, 2003; Johnston, Lewis, Evans, & Whalen, 1998), à l'adolescence (Evans, Kim, Ting, Teshler, & Shannis, 2007) et à l'âge adulte (Karlman, 2002; Sapolsky, Romero, & Munck, 2000; Seeman, McEwen, Rowe, & Singer, 2001; Singer & Ryff, 1999). L'accumulation des changements physiologiques primaires et secondaires peut compromettre la santé des individus en les rendant davantage vulnérables aux maladies cardiovasculaires, aux psychopathologies, ou encore aux problèmes cognitifs (Crimmins, Johnston, Hayward, & Seeman, 2003; McEwen, 2000b; McEwen, 2003; McEwen & Lasley, 2002; McEwen & Wingfield, 2003; Sapolsky et al., 2000; Seeman et al., 2001).

La réactivité au stress est une composante importante de la surcharge allostatique. Sans grande surprise, la nature et l'intensité de l'agent stressant modulent la réactivité au stress (Miller, Chen, & Zhou, 2007). Or, la réactivité au stress ne dépend pas exclusivement des caractéristiques inhérentes à l'agent de stress. En fait, chaque individu perçoit, analyse et interprète le stimulus et lui attribue une connotation émotionnelle (ex. peur). Ainsi, la réactivité d'un individu en réponse à un stress est modulée par un ensemble de facteurs influençant ces processus, dont les expériences passées, les aptitudes intellectuelles, l'autoévaluation des capacités à surmonter le défi, les schémas cognitifs et/ou les habitudes de vie (Lupien et al., 2006; McEwen & Lasley, 2002; Scher, Ingram, & Segal, 2005). Ces facteurs sont à leur tour influencés par la contribution variable des facteurs génétiques et environnementaux.

En somme, la surcharge allostatique souligne l'action protectrice et destructrice des médiateurs primaires en général, et du cortisol en particulier. Ce modèle théorique se distingue par la description des mécanismes physiologiques pouvant décrire la relation entre l'adversité environnementale et l'émergence de problèmes physiques, psychologiques et cognitifs (Adler et al., 1994; Duncan, Brooks-Gunn, Yeung, & Smith, 1998; McLoyd, 1998). L'exposition de l'enfant à de plus fortes concentrations cortisoliennes consécutives à des contextes adverses est particulièrement importante à la petite enfance, période au cours

de laquelle les régions cérébrales impliquées dans la réactivité au stress sont plus sensibles à l'environnement (ex. hippocampes, amygdales, cortex préfrontal) (Compas, 2006; Gunnar & Vazquez, 2006). Procéder à un examen approfondi des facteurs influant la sécrétion cortisolaire à la petite enfance apparaît particulièrement indiqué puisque le cortisol est considéré comme la pierre angulaire de la surcharge allostatique (McEwen & Lasley, 2002).

Le cortisol est l'hormone liée au stress la plus étudiée. La mise en évidence de patrons cortisolaires atypiques chez des personnes atteintes de psychopathologies contribue certainement à cet intérêt. Les psychopathologies les plus fréquemment associées à des patrons cortisolaires atypiques sont l'anxiété (Feder et al., 2004; Klaassen, Riedel, van Praag, Menheere, & Griez, 2002; Smider et al., 2002), la dépression (Sapolsky, 2004), le syndrome de stress post-traumatique (Olf, Langeland, & Gersons, 2005; Vanitallie, 2002; Yehuda, Hallig, & Grossman, 2001), les problèmes extériorisés (McBurnett, Lahey, Rathouz, & Loeber, 2000; Snoek, Van Goozen, Matthys, Buitelaar, & van Engeland, 2004) et les troubles cognitifs (Bremner & Narayan, 1998; Lupien et al., 1994; Sapolsky, 2000). Les différences individuelles sur le plan de la sécrétion cortisolaire moduleraient la vulnérabilité (ou la résilience) de l'individu aux conditions de vie stressantes et seraient, conséquemment, associées au risque plus ou moins grand des individus à être atteints de ces psychopathologies (Bauer, Quas, & Boyce, 2002; McEwen, 2000a; Schulkin, Gold, & McEwen, 1998). Pour toutes ces raisons, cette thèse examinera les facteurs associés à la sécrétion cortisolaire au cours de la petite enfance.

Plusieurs études se sont attardées à investiguer l'association entre l'adversité environnementale et les différences individuelles sur le plan de la sécrétion cortisolaire (Bugental, 2004; Cicchetti & Rogosch, 2001a, 2001b; Essex, Klein, Cho, & Kalin, 2002; Evans & English, 2002; Gunnar & Vazquez, 2006; Gunnar, Morison, Chisholm, & Schuder, 2001; Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2000). Par ailleurs, même s'il y a consensus quant à une modulation génétique de la sensibilité des individus à l'environnement (Boyce & Ellis, 2005; Charmandari et al., 2003; De Kloet, Vreugdenhil, Oitzl, & Joels, 1998; Kagan, Reznick, & Snidman, 1987; McEwen & Lasley, 2002),

aucune recherche conduite auprès d'humains n'a examiné si les facteurs génétiques et environnementaux interagissent pour rendre compte des différences individuelles sur le plan de la sécrétion cortisolaires. Il importe également d'accorder une attention particulière à la période de développement étudiée car les structures cérébrales impliquées dans la sécrétion cortisolaires sont plus sensibles à l'influence de l'environnement à la petite enfance (Gunnar & Vazquez, 2006), et peuvent ainsi donner lieu à des patrons étiologiques différents à cette période comparativement à l'âge adulte.

L'objectif de la présente thèse de doctorat est d'étudier les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaires à la petite enfance. L'aspect le plus novateur de la thèse est sans doute d'examiner si ces contributions varient en fonction de l'exposition à l'adversité familiale à une période du développement caractérisée par une grande plasticité des structures cérébrales. Compte tenu que les mesures cortisolaires ont été effectuées au cours de différents contextes (prélèvements réalisés au réveil et en matinée vs une exposition à une situation de nouveauté sociale) et à des âges distincts (6 vs 19 mois), l'examen de l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires sera effectué en deux temps. Pour le premier article, les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaires seront investiguées dans le cadre d'une situation de nouveauté sociale qui s'est déroulée lorsque les jumeaux étaient âgés de 19 mois. Pour le deuxième article, l'étiologie génétique et environnementale sera examinée pour les mesures cortisolaires effectuées en avant-midi auprès de jumeaux âgés de 6 mois.

Les deux articles empiriques sont précédés d'un chapitre théorique présentant une recension des écrits sur l'activité cortisolaires et les facteurs étiologiques engagés. La première section examine les principales notions liées à l'activité et la régulation de la sécrétion cortisolaires. La deuxième section discute de la sécrétion cortisolaires sous l'angle de l'adversité familiale, en s'attardant aux particularités inhérentes à la petite enfance. La troisième section résume les études génétiquement informatives ayant porté sur la sécrétion cortisolaires et laisse place à la synthèse des modèles conceptuels décrivant les interactions possibles entre les facteurs génétiques et environnementaux. Ces éléments sont décrits à la

quatrième section. Finalement, les objectifs principaux et spécifiques des articles empiriques sont exposés.

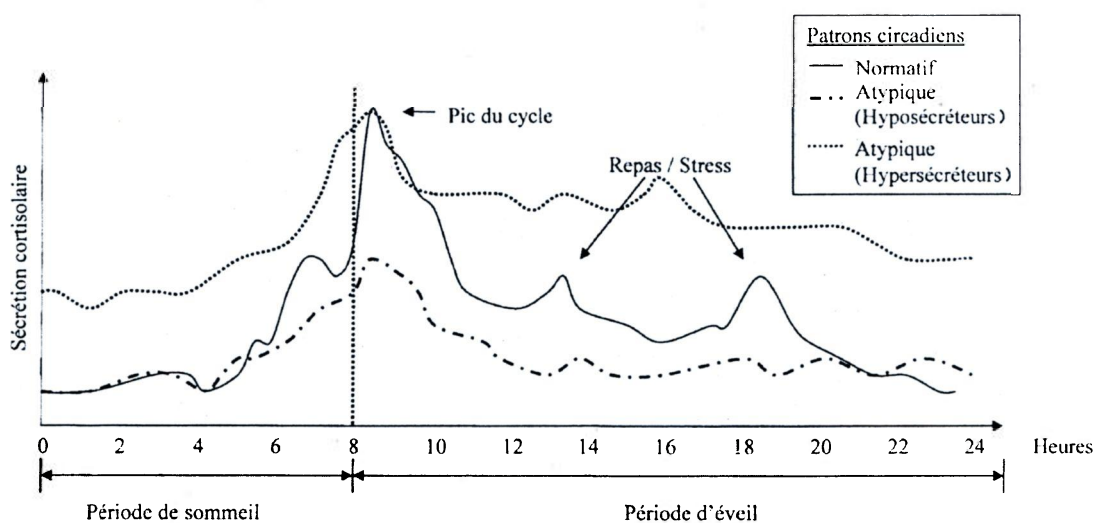
1.1 LE CORTISOL: HORMONE GLUCOCORTICOIDE LIÉE AU STRESS

Lorsqu'une situation est perçue comme nouvelle, imprévisible, incontrôlable ou menaçant l'intégrité physique, sociale ou psychologique de l'individu, le cortex cérébral et le système limbique reçoivent et traitent (consciemment ou inconsciemment) cette information puis envoient des influx nerveux aux noyaux paraventriculaires (NPV) de l'hypothalamus qui sécrètent l'hormone de libération de la corticotropine (HLC) (Compas, 2006; Kirschbaum & Hellhammer, 1994; Olf et al., 2005; Taylor, Repetti, & Seeman, 1997). Les NPV correspondent à l'endroit où l'information provenant de plusieurs structures cérébrales converge et est intégrée (Lopez, Akil, & Watson, 1999). La HCL est acheminée vers l'hypophyse antérieure par voie sanguine et provoque la sécrétion de la corticotropine (ACTH). Une fois libérée dans le sang, l'ACTH atteint les corticosurrénales où elle module la sécrétion du cortisol. Cette séquence est communément nommée l'axe HPS (Hypothalamus-Pituitaire-Surrénal). Une fois secrété, le cortisol est régulé par des boucles de rétroaction négative qui agissent principalement sur les composantes de l'axe HPS, les hippocampes et le cortex frontal, au-delà de la barrière hémato-encéphalique (référez-vous à la Figure 1) (Brown, 1994; Erkut, Pool, & Swaab, 1998; Keller-Wood & Dallman, 1984).

Le cortisol n'est pas libéré dans le sang de façon continue, mais selon un mode de sécrétion pulsatif qui varie pendant la journée. Le rythme circadien du cortisol est caractérisé par des concentrations élevées au réveil et qui diminuent au cours de la journée (référez-vous à la Figure 2). Un profil circadien plat est considéré comme l'indice de stress chronique (Gunnar & Vazquez, 2001; Miller et al., 2007), vraisemblablement causé par une modification de l'amplitude et de la fréquence des pulsations de cortisol (de Kloet, Sibug, Helmerhorst, & Schmidt, 2005). Un profil circadien altéré est associé à plusieurs

l'hypothalamus, l'une des principales structures sollicitées, seraient suffisamment développés pour permettre la mise en place du rythme circadien dès la 31^{ème} semaine de gestation (Antonini, Jorge, & Moreira, 2000). La consolidation du rythme circadien du cortisol serait davantage liée à la mise en place d'une routine stable de sommeil et d'éveil (Antonini et al., 2000; Gunnar & Donzella, 2002; Spangler, 1991). Finalement, aucune différence n'est notée quant à l'émergence du rythme circadien entre les jumeaux identiques et fraternels (Custodio et al., 2007), suggérant que la mise en place du rythme circadien ne serait pas influencée par des facteurs génétiques.

Figure 2. Profils normatifs et atypiques de sécrétion cortisolaire au cours d'un cycle de 24 heures.



Le cortisol exerce une influence sur l'organisme par le biais de l'action médiatrice des récepteurs glucocorticoïdes (RG) et minéralocorticoïdes (RM) qui modulent la transcription des gènes auprès des structures cibles (Sapolsky et al., 2000). Puisque les RM ont une affinité aux glucocorticoïdes 10 fois supérieure à celle des RG, les RM modulent l'activation de l'axe HPS principalement lorsque les concentrations de cortisol sont basses. Lorsque les concentrations sont élevées et/ou que les RM sont saturés (ex. stress ou au pic matinal du rythme circadien), les RG entrent en jeu (de Kloet et al., 1998). Au niveau des hippocampes, les RM potentialisent les transmissions efférentes de l'hypothalamus

inhibant ainsi l'axe HPS tandis que les RG situés dans les hippocampes réduisent les transmissions efférentes de l'hypothalamus, se traduisant par une désinhibition de l'axe HPS. Au niveau de l'hypothalamus et de la glande pituitaire, l'activation des RG inhibe l'axe HPS (de Kloet, Oitzl, & Joels, 1993; Erkut et al., 1998).

Une relation en forme de U inversé s'observe entre les concentrations cortisolaires et l'action protectrice et dommageable du cortisol. L'action biphasique du cortisol serait notamment imputable aux modes de fonctionnement opposés combinés à la sensibilité distinctes des RM et des RG au cortisol (Gunnar & Quevedo, 2007). L'activité tonique du cortisol, modulée principalement par les RM, favorise la sensibilité de l'axe HPS et la mobilisation de l'organisme lorsque les concentrations sont basses (effet protecteur) et s'interrompt lorsque les concentrations sont insuffisantes (absence d'effet protecteur) (de Kloet & Oitzl, 2003). L'action réactive du cortisol, initiée par les RG (en plus des RM), permet à l'individu de s'adapter efficacement à un stress et d'amorcer le retour aux conditions qui prévalaient antérieurement (effets protecteurs) (de Kloet et al., 1998). Néanmoins, si les concentrations sont trop élevées, fréquentes ou se prolongent indûment, le cortisol pourrait induire une suppression de la neurogénèse et une neurodégénérescence des structures neuronales où les RG abondent (ex. hippocampes, hypothalamus, cortex préfrontal), réduisant ainsi le nombre de récepteurs justement sensés inhiber la réponse au stress (effets destructeurs) (Sapolsky et al., 2000). En d'autres termes, la relation entre les concentrations de cortisol et le fonctionnement adaptatif de l'organisme ne serait pas linéaire (de Kloet et al., 1998). Par ailleurs, l'équilibre du ratio RM et RG serait critique à la mise en place des seuils d'activation et de régulation de l'axe HPS (de Kloet et al., 1998). Le fonctionnement inadéquat des récepteurs RM et RG pourrait conséquemment entraver la capacité d'adaptation de l'organisme (Lopez et al., 1999). L'action biphasique du cortisol renvoie aux effets délétères de « l'hypo- et l'hyper (ré)activité » cortisolaire sur le développement physique, cognitif, psychologique et social (Gunnar, 2000; McEwen, 1998).

Les modes de fonctionnement tonique et réactif du cortisol sont modulés par différentes structures cérébrales. Pour la fonction réactive, trois principales structures

cérébrales contribuent à l'appréciation d'une menace potentielle dans l'environnement: le cortex frontal, les hippocampes et les amygdales. Bien que ces structures travaillent de concert, les hippocampes et les amygdales remplissent aussi des fonctions spécifiques distinctes. Les hippocampes effectuent la mise en mémoire et la localisation d'un souvenir dans le temps, le lieu et le contexte (Bremner & Narayan, 1998), alors que les amygdales lui attribuent une connotation émotionnelle (Phillips & LeDoux, 1992). Particulièrement riches en RG, les hippocampes et les amygdales modulent l'activité des neurones du NPV de l'hypothalamus, qui sécrètent le HLC, par l'intermédiaire du GABA (un neurotransmetteur inhibiteur). L'activation des hippocampes se traduit par l'augmentation de l'action inhibitrice du GABA (inhibition de l'axe HPS), alors que l'activation des amygdales inhibe l'action du GABA (désinhibition de l'axe HPS) (référez-vous à la Figure 1) (de Kloet et al., 1998; Lopez et al., 1999; Shekhar, Truitt, Rainnie, & Sajdyk, 2005). Les fortes élévations induites par un stress chronique peuvent atrophier les neurones des hippocampes et ainsi modifier l'activité des amygdales, ce qui met en péril l'aptitude de l'organisme à distinguer les menaces réelles ou perçues. Ce déséquilibre pourrait aussi réduire la capacité d'inhibition de l'axe HPS en réponse à un stress (Hart, Gunnar, & Cicchetti, 1995). La neurodégénérescence et la suppression de la neurogénèse entraîneraient donc des concentrations de cortisol encore plus élevées pour des périodes prolongées. Il est entendu que d'autres structures cérébrales et corrélats physiologiques agissent sur la réactivité de l'axe HPS. À titre d'exemple, une étude a démontré qu'un stress social répété dans le temps modulait la réactivité de l'axe HPS en altérant le fonctionnement de la dopamine dans le cortex cingulaire antérieur (Lucas et al., 2004). Par ailleurs, rien n'indique que les effets délétères d'une exposition prolongée à de fortes concentrations de cortisol soient nécessairement permanents (McEwen & Lasley, 2002). Il a été noté qu'un retour des conditions favorables (ex. baisse de la concentration de cortisol) permet parfois aux neurones des hippocampes de se régénérer (Starkman, Gebarski, Berent, & Schteingart, 1992).

D'autres structures cérébrales interviennent dans le mode de fonctionnement tonique du cortisol. L'alternance du cycle de la lumière (i.e. jour et nuit) est transmise, par le biais de la rétine et du chiasma optique, aux noyaux suprachiasmatiques (NSC; référez-vous à la

Figure 1). Cette structure située dans l'hypothalamus synchronise plusieurs rythmes circadiens, dont celui du cortisol, de la température du corps et de l'alternance des états de sommeil et d'éveil (Bear, Connors, & Paradiso, 1996). Les projections du NSC excitent et inhibent l'hypothalamus afin de contribuer à la variance des concentrations cortisolaire au cours du rythme circadien. D'une part, les NSC inhibent la sécrétion de HLC dans les neurones du NPV et des noyaux dorsomédians de l'hypothalamus par l'action de la vasopressine. L'effet inhibiteur de la vasopressine s'intensifie à partir de la moitié du cycle diurne, d'où l'obtention de concentrations cortisolaire plus faibles à cette période (Kalsbeek, van Heerikhuize, Wortel, & Buijs, 1996). Il serait toutefois étonnant que seule l'action inhibitrice directe de la vasopressine explique l'ensemble de la variation notée au rythme circadien. En effet, les neurones du NPV produisent aussi de la vasopressine stimulant la sécrétion d'ACTH en potentialisant l'effet de la HLC (Kalsbeek et al., 1996). Ainsi, alors que l'action inhibitrice des NSC s'amenuise vers la fin de la nuit chez l'humain, la stimulation de l'axe HPS, par le biais des neurones du NPV, s'intensifie pour une période d'environ quatre heures, puis se résorbe rapidement (\approx 2h30 après le pic du rythme circadien) (référez-vous à la Figure 2).

En somme, les modes d'action tonique et réactif du cortisol se caractérisent par la modulation de structures cérébrales et de récepteurs glucocorticoïdes distincts. Les mesures toniques sont principalement modulées par l'action des RM (conjointement avec les RG au réveil), alors que les RG sont davantage sollicités dans la régulation des mesures réactives (en plus des MR). Plus précisément, en ce qui concerne la sécrétion cortisolaire tonique, la période du réveil semble avoir un mode d'activation et de régulation différent comparativement à celui noté dans le reste du cycle circadien. À cette période, la sécrétion est modulée par les neurones du NPV (en plus des NSC). Le pic du rythme circadien du cortisol est aussi régulé par l'action des RG à cette période de la journée, à la différence du reste du cycle circadien pour lequel c'est essentiellement l'action des RM qui est requise (Bradbury, Akana, & Dallman, 1994).

Un point commun caractérise les modes de sécrétion cortisolaire tonique et réactif: ils sont influencés par plusieurs facteurs endogènes (gènes, récepteurs, neurotransmetteurs,

structures cérébrales, etc.) et exogènes (lumière, comportements parentaux, pauvreté économique, etc.) (Bauer et al., 2002; Kalsbeek et al., 1996). Toutefois, eut égard aux différentes structures interpellées, on ne peut présumer que les modes d'action tonique et réactif du cortisol montrent une même sensibilité à l'environnement. En d'autres mots, la contribution des facteurs endogènes et exogènes pourrait différer selon qu'il s'agisse de sécrétions cortisolaires réactives ou toniques. Cette contribution pourrait aussi varier selon que les mesures toniques sont prélevées au réveil (pic du rythme circadien) ou plus tard pendant la journée.

1.2 L'EXPOSITION À DES ENVIRONNEMENTS ADVERSES ET LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE

Plusieurs facteurs de stress environnementaux vécus pendant l'enfance et à l'adolescence ont été associés à des dysfonctions de l'axe HPS (Heim & Nemeroff, 1999). Les contextes adverses liés à une sécrétion cortisolaire tonique atypique sont variés : le statut socio-économique de la famille (Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2001), la pauvreté économique (Evans & English, 2002), la monoparentalité (Flinn & England, 1997), le stress vécu par les parents (Essex et al., 2002), les conflits entre les membres de la famille (Flinn & England, 1997), la dépression maternelle (Ashman, Dawson, Panagiotides, Yamada, & Wilkinson, 2002; Lupien et al., 2000), l'indisponibilité émotionnelle des parents (Bugental, Martorell, & Barraza, 2003), le retrait de la famille (Dozier et al., 2006; Gunnar & Fisher, 2006), la négligence (Gunnar, 2000; Gunnar et al., 2001) et les abus sexuels et physiques (Cicchetti & Rogosch, 2001b).

Relativement peu d'études ont examiné la relation entre l'adversité environnementale et le mode de fonctionnement réactif du cortisol au cours de l'enfance. Bugental et ses collègues (2003) rapportent que les enfants âgés de moins d'un an et ayant reçu des formes « modérées » de mauvais traitements (ex. taper l'enfant pour le punir) montraient une réactivité cortisolaire plus élevée suite à la procédure expérimentale de la *Situation Étrangère* (Ainsworth & Wittig, 1969) que les enfants du même âge n'ayant pas subi ces traitements ($n = 44$) (Bugental et al., 2003). Hart et ses collègues (1995) ont noté que les

enfants âgés entre 4 et 6 ans ayant été abusés et/ou négligés inscrits à une école préscolaire spécialisée pour ces problèmes ($n = 33$) montraient une réactivité cortisolaire réduite comparativement aux enfants issus d'une école appariée pour le niveau socio-économique ($n = 16$) (Hart et al., 1995). Heim et ses collègues (2002) ont montré que les femmes ayant une histoire d'abus pendant l'enfance avaient une réactivité cortisolaire accrue à l'âge adulte (entre 18 et 45 ans), alors que le nombre d'abus sexuels subis avant la puberté était associé à une réactivité cortisolaire réduite (Heim et al., 2002).

En résumé, l'adversité vécue dans l'environnement familial est associée à des patrons cortisolaires tonique et réactif atypiques. Les recherches menées auprès de sujets humains et non humains laissent aussi entendre que la chronicité du stress réduit l'intensité et la durée de la réponse cortisolaire (processus d'habituation) (Fries, Hesse, Hellhammer, & Hellhammer, 2005; Miller et al., 2007), alors que les stress aigus accentueraient l'intensité et la durée de la réponse au stimulus (sensibilisation) (Heim et al., 2002; Liberzon, Krstov, & Young, 1997). Qu'il s'agisse « d'hyper- ou d'hypo- réactivité », ces patrons atypiques de l'axe HPS modifient l'état d'alerte et d'éveil de l'enfant, limitant ainsi sa capacité à s'adapter à l'environnement. Ce changement physiologique le rendrait aussi plus vulnérable à souffrir d'une psychopathologie, particulièrement lorsque confronté à une source de stress concomitante (Charmandari et al., 2003; Cicchetti & Rogosch, 2001b; Ellis, Essex, & Boyce, 2005; Gunnar & Vazquez, 2001; Hart et al., 1995; Heim, Ehlert, & Hellhammer, 2000).

En bas âge, la qualité de l'attachement entre l'enfant et ses parents modulerait l'influence des facteurs de stress extérieurs à la dyade et par conséquent, l'incidence de patrons cortisolaires atypiques (Ahnert, Gunnar, Lamb, & Barthel, 2004; Gunnar & Quevedo, 2007; Gunnar & Donzella, 2002; Hertsgaard, Gunnar, Erickson, & Nachmias, 1995). Nachmias et ses collègues (1996) ont montré que les enfants inhibés et ayant un attachement de type « insécure » exhibent une plus forte réactivité cortisolaire lorsque confrontés à des situations nouvelles (i.e. un clown, un robot qui bouge et fait de la lumière) et à la *Situation Étrangère* comparativement aux enfants inhibés ayant un type d'attachement « sécure » avec leurs parents (Nachmias, Gunnar, Mangelsdorf, Parritz, &

Buss, 1996). Selon les auteurs, ce résultat s'expliquerait par l'inquiétude ressentie par les enfants ayant un attachement insécure face aux ressources personnelles disponibles pour s'adapter à une situation nouvelle ou à une menace présumée.

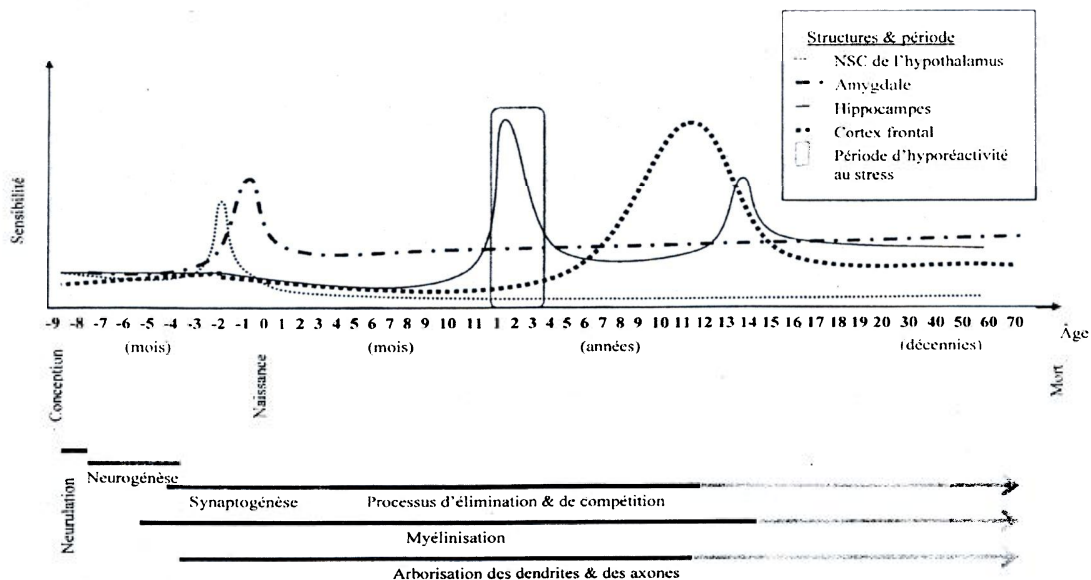
Bref, plusieurs études rapportent que les caractéristiques de l'environnement (adverses ou protectrices) modifient l'activité de l'axe HPS pendant l'enfance. En revanche, peu de recherches examinent la relation entre l'adversité environnementale vécue plus tôt au cours de la vie et l'axe HPS. Sachant que la sensibilité des structures cérébrales à l'environnement n'est pas constante dans le temps, l'influence exercée par l'adversité environnementale pourrait différer qualitativement et quantitativement en fonction de la période de développement examinée (Charmandari et al., 2003).

1.2.1 *La petite enfance : une période de sensibilité accrue à l'environnement*

Au cours des deux premières années de la vie, les structures cérébrales se développent plus rapidement qu'à toute autre période du développement. La séquence du développement neuronal est prédéterminée génétiquement et se caractérise d'abord par une prolifération et la surproduction d'axones, de dendrites et de synapses (Glaser, 2000). Or, tous les neurones ne sont pas appelés à survivre. Ceux qui n'auront pas établi suffisamment d'interconnexions synaptiques actives seront éliminés (Singer, 1995). L'environnement exerce ainsi une grande influence à cette période dite « sensible » parce qu'il détermine l'information exposée au cerveau et « consignée » par le biais des interconnexions synaptiques conservées (Greenough, 1992). La plasticité cérébrale favorise ainsi, au cours de la petite enfance, la malléabilité et la sensibilité de certaines structures cérébrales à l'expérience (McEwen & Lasley, 2002). Théoriquement, la plasticité cérébrale notée tôt au cours du développement s'opérerait par le biais de modifications de l'organisation des structures sollicitées dans la sécrétion cortisolaire (particulièrement auprès des structures immatures) et par l'intermédiaire de changements dans la connectivité des circuits neuronaux régulant l'échange d'information entre ces structures cérébrales.

Avec l'objectif probable de protéger l'organisme contre les effets délétères induits par de fortes élévations de cortisol, plus particulièrement sur le plan des structures cérébrales impliquées dans la régulation du stress (ex. hippocampes, amygdales et cortex frontal), il deviendrait de plus en plus difficile d'initier une réponse cortisolaire en réponse à un stress pendant une période circonscrite du développement. Cette période d'hyporéactivité au stress (PHRS) surviendrait entre le 4^{ème} et 14^{ème} jours après la naissance chez le rat et, présumément, à partir de la fin de la première année de vie jusqu'à la fin de la période préscolaire chez l'humain (Gunnar & Quevedo, 2007; Tarullo & Gunnar, 2006). Ainsi, les élévations de cortisol initiées par un contexte d'adversité au cours de la PHRS auraient plus d'effets dommageables pour l'organisme étant donné la sensibilité accrue de plusieurs structures à cette période. Mentionnons toutefois que l'existence de la PHRS chez l'humain n'est pas encore établie avec certitude. La figure 3 situe les périodes du développement où les principales structures cérébrales impliquées dans la sécrétion cortisolaire seraient davantage sensibles à l'influence de l'environnement, en raison de la maturation des structures et circuits neuronaux (ex. élimination ou myélinisation des neurones) ou de la PHRS.

Figure 3. Périodes de sensibilité correspondant à la maturation des principales structures cérébrales liées à la sécrétion cortisolaire et à la période d'hyporéactivité au stress.



Note. NSC = Noyaux suprachiasmatiques.

Au-delà de cette période « sensible » (incluant la PHRS ou non), la plasticité cérébrale décroît progressivement sans pourtant se résorber complètement (Gould, McEwen, Tanapat, Galea, & Fuchs, 1997). Conséquemment, les facteurs environnementaux nécessaires pour induire des changements cérébraux notables devraient être plus intenses ou persister pour une plus longue période à l'âge adulte comparativement à ce qui est requis à la petite enfance. En raison de la plus grande sensibilité des structures cérébrales à l'activité de l'axe HPS à la petite enfance, l'exposition des enfants à des environnements variables (i.e. plus ou moins adverses) pourrait donner lieu à des différences individuelles dans la sécrétion cortisolaire, modifiant ainsi les capacités d'adaptation aux conditions environnementales présentes et futures (Bremner & Vermetten, 2001; Glaser, 2000; Heim & Nemeroff, 1999; Owen, Andrews, & Matthews, 2005). Bien que cette hypothèse soit biologiquement plausible, aucune étude conduite chez l'humain n'a encore documenté l'impact de l'exposition précoce à des environnements adverses sur la sécrétion cortisolaire en prenant en compte la contribution des facteurs génétiques. De ce fait, il est impossible de déterminer la nature exacte de la contribution des environnements adverses précoces à la sécrétion cortisolaire puisque ces environnements peuvent refléter en partie l'influence du bagage génétique des parents transmis à l'enfant (Plomin, 1995; Plomin, DeFries, McClearn, & Rutter, 2001).

En fait, peu d'études ont tenté d'estimer les contributions des facteurs génétiques et environnementaux à la sécrétion cortisolaire à l'âge adulte. Parmi ces études, aucune n'a examiné l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire à la petite enfance. Bien que ces études n'aient pas pris en compte les effets potentiellement délétères de l'adversité subie tôt au cours du développement, elles permettent de jeter un premier regard sur l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire chez l'humain.

1.3 CONTRIBUTION DES FACTEURS GÉNÉTIQUES À LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE CHEZ L'HUMAIN

De grandes variations sont notées entre les individus sur le plan de la sécrétion cortisolaire tonique et réactive (DeRijk, Schaaf, & de Kloet, 2002; Kirschbaum & Hellhammer, 1994). Selon plusieurs chercheurs, ces différences individuelles seraient en partie dues à l'action des facteurs génétiques (Booth, 2000; Boyce & Ellis, 2005; Caldji, Diorio, & Meaney, 2000; Hardie, Moss, Vanyukov, Yao, & Kirillovac, 2002). Les facteurs génétiques agiraient ainsi sur plusieurs aspects de l'activité de l'axe HPS, dont la détermination des seuils d'activation et de régulation de la sécrétion cortisolaire tonique et réactive (Lewis, 1992). Bartels, Van den Berg et leurs collègues (2003) soulignent que les estimés d'héritabilité (h^2) rapportés pour les mesures de sécrétion toniques diffèrent grandement d'une étude à l'autre (les valeurs de h^2 varient entre 0 et .84), alors que ceux-ci semblent plus convergents pour les mesures réactives (une absence d'héritabilité du phénotype) (Bartels, Van den Berg, Sluyter, Boomsma, & de Geus, 2003). Considérant la disparité des estimés recensés et la petite taille des échantillons concernés, Bartels et al. (2003) ont effectué une méta-analyse à partir des données issues des cinq études génétiquement informatives présentant les méthodes de prélèvements les plus similaires (Froehlich, Zink, Li, & Christian, 2000; Inglis, 1999; Linkowski, 1993; Meikle, 1988; Wüst, 2000). La méta-analyse indique une héritabilité des mesures cortisolaires toniques estimée à 62%. Aucune contribution de l'environnement partagé (i.e., qui amplifient la similarité entre les jumeaux d'une même paire) n'a été détectée.

Parmi ces études, Wüst et ses collègues (2000) avaient effectué des prélèvements salivaires au réveil de 52 jumeaux monozygotes (MZ) et 52 jumeaux dizygotes (DZ) âgés entre 8 et 65 ans. Un effet génétique modéré était noté ($h^2 = .40$) (Wüst, 2000). Cet estimé est similaire à ceux qui sont obtenus par Kirschbaum et al. (1992) pour les trois prélèvements salivaires réalisés avant une situation stressante (injection de HLC, ergométrie et un exposé oral) (Kirschbaum, Wüst, Faig, & Hellhammer, 1992). Meikle et ses collègues (1988) ont aussi obtenu des estimés d'héritabilité modérés pour la

concentration totale de cortisol dans le sang ($h^2 = .45$) et les molécules de cortisol non liées à des protéines « unbound cortisol » ($h^2 = .51$) (Meikle, 1988) .

Plus récemment, Kupper et al. (2005) ont rapporté une contribution modérée des facteurs génétiques aux mesures de cortisol prélevées au réveil et 30 minutes plus tard auprès de 310 jumeaux adultes ($h^2 = .34$ et $h^2 = .32$, respectivement). En revanche, les mesures prises plus tard au cours de la journée (i.e., 11h00, 15h00, 20h00 et 22h30) ne montraient aucune contribution des facteurs génétiques (Kupper et al., 2005). Seule la contribution des facteurs environnementaux uniques (i.e., environnements qui amplifient les différences entre les jumeaux d'une même paire) était détectée. Les résultats rapportés par Schreiber et ses collègues (2006) montrent aussi une absence de contribution des facteurs génétiques aux mesures prises en après-midi auprès de 233 familles de jumeaux âgés entre 6 et 12 ans. Contrairement à Kupper et al. (2005) et à Bartels et al. (2003), une contribution marquée (62%) des facteurs de l'environnement partagé a été décelée dans un modèle intégrant les mesures des parents et des enfants.

La seule étude génétiquement informative ayant examiné des mesures cortisolaires toniques auprès d'un échantillon d'enfants d'âge scolaire (≈ 12 ans) a montré que les facteurs génétiques contribuent de façon significative aux mesures prélevées le matin (7h30 et ≈ 8 h20) et au début de l'après-midi (12h30), mais pas en soirée (20h30) (Bartels, de Geus, Kirschbaum, Sluyter, & Boomsma, 2003). Les mesures prélevées au réveil s'expliqueraient par une contribution modérée des facteurs génétiques ($h^2 = .22$ et $.24$, respectivement) alors que les mesures effectuées environ 45 minutes plus tard (≈ 8 h20) montrent des estimés d'héritabilité plus élevés ($h^2 = .56$ et $.59$, respectivement) et aucune contribution de l'environnement commun. L'étiologie génétique et environnementale des mesures cortisolaires toniques est similaire auprès des garçons et des filles pour tous les prélèvements. Aucune corrélation significative n'a été notée entre les mesures. Cette étude appuie l'hypothèse d'une médiation génétique de la sécrétion cortisolaire tonique matinale. Par la suite, les facteurs génétiques cèderaient progressivement leur place à l'influence de l'environnement au cours de la journée.

En somme, les différences individuelles liées à la sécrétion cortisolaire tonique traduiraient en partie l'action des facteurs génétiques (Linkowski, 1993; Young, Aggen, Prescott, & Kendler, 2000). L'étude de Froehlich et ses collaborateurs (2000) fait exception en rapportant une absence d'héritabilité de la mesure effectuée 15 minutes avant la procédure expérimentale (i.e. baseline; 22 paires MZ et 22 paires DZ) (Froehlich et al., 2000). Or, étant donné que l'heure des prélèvements n'est pas spécifiée, nul ne peut déterminer si ce résultat contraste avec les études qui montrent une héritabilité du phénotype en matinée ou concorde avec ces études qui indiquent une contribution accrue de l'environnement plus tard au cours de la journée.

Le portrait semble différent pour les mesures réactives. Kirschbaum et ses collègues (1992) notent des corrélations similaires entre les jumeaux MZ et DZ pour des mesures réactives prélevées suite au test d'ergométrie et de l'exposé oral (Kirschbaum et al., 1992). Seul le prélèvement effectué après l'injection de HLC (i.e. neurohormone stimulant la sécrétion d'ACTH) révèle des corrélations intraclasses supérieures pour les jumeaux MZ. Ces résultats suggèrent que l'activation des glandes hypophysaires et surrénales en réponse au HLC serait partiellement sous contrôle génétique. Outre ce résultat isolé, les études soulignent une absence d'héritabilité des mesures réactives (Froehlich et al., 2000; Inglis, 1999; Pritchard et al., 1998).

Plusieurs limites méthodologiques et statistiques sont associées aux études de jumeaux recensées. D'abord, les heures et la fréquence de prélèvements varient d'une étude à l'autre. La plupart des estimés d'héritabilité sont basés sur de petits échantillons de jumeaux d'âges forts différents (i.e. de 8 à 64 ans). Or, aucun résultat empirique nous laisse supposer que les estimés des facteurs génétiques et environnementaux demeurent constants pendant toute la vie. S'il s'avérait que les estimés d'héritabilité du cortisol soient différents en fonction de l'âge des participants, les résultats obtenus à partir de ces échantillons seraient approximatifs. De plus, la plupart des études réalisées manquent de puissance statistique afin de distinguer la variance associée aux facteurs génétiques de celle liée à l'environnement commun (Kupper et al., 2005). Finalement, aucune étude n'évalue la possibilité que les différences individuelles notées aux mesures cortisolaires s'expliquent

par l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux plutôt que par le seul cumul de leurs effets additifs.

Quelques études en génétique moléculaire ont été menées afin de clarifier le rôle de gènes mesurés quant à la sécrétion cortisolaire tonique et réactive. En théorie, l'action des gènes sur l'activité de l'axe HPS s'exercerait notamment par la modification du nombre et de la sensibilité des récepteurs RM et RG (Welberg & Seckl, 2001) et par l'activité d'autres molécules endogènes qui modulent l'activité de l'axe HPS (ex. sérotonine et vasopressine) (Charmandari et al., 2003). Différents polymorphismes associés aux gènes liés aux RG et RM ont été associés à l'activation et la régulation de l'axe HPS (DeRijk et al., 2002; Stevens et al., 2004; van Rossum et al., 2004). À titre d'exemple, les variantes du gène des RG modulent la sensibilité au cortisol des cellules cibles (DeRijk et al., 2002). Certains polymorphismes génétiques ont été associés aux mesures cortisolaire toniques (Rosmond, Chagnon, Chagnon et al., 2000), à la réactivité cortisolaire (Rosmond, Chagnon, Holm et al., 2000; Wust et al., 2004) de même qu'à une hypersensibilité aux glucocorticoïdes (Huizenga, Koper, De Lange et al., 1998; Huizenga, Koper, de Lange et al., 1998). De toute évidence, la sécrétion cortisolaire tonique et réactive de l'axe HPS apparaît modulée, en partie du moins, par l'action des gènes.

En résumé, les études génétiquement informatives recensées renvoient à un patron étiologique distinct en ce qui a trait aux modes de sécrétion cortisolaire tonique et réactif. Plus précisément, les résultats issus d'études de jumeaux suggèrent la contribution des facteurs génétiques aux mesures cortisolaire toniques prélevées à l'heure du réveil, alors que les mesures prélevées plus tard au cours de la journée seraient influencées majoritairement par la contribution des facteurs environnementaux. Les résultats sont plus variables en regard de la sécrétion cortisolaire réactive et dépendraient de la nature du stress examiné (exposé oral vs injection de HLC). Soulignons qu'aucune étude génétiquement informative n'a été menée à la petite enfance, période du développement caractérisée par une sensibilité accrue des structures cérébrales à l'environnement.

1.4 INTERACTION GÉNOTYPE ET ENVIRONNEMENT : UNE HYPOTHÈSE À INVESTIGUER

Selon plusieurs modèles théoriques, les différences individuelles notées sur les plans du développement normatif et pathologique de l'enfant seraient le résultat d'interactions survenant à plusieurs niveaux (ex. génétique, hormonal, cérébral, environnemental) qui varieraient en fonction de la période de développement étudiée (Boyce & Ellis, 2005; Bronfenbrenner & Ceci, 1994; Casey, 2003; Gottlieb, 2003; Maccoby, 2000; Pollak, 2005; Repetti, Taylor, & Seeman, 2002; Rowe, 2001; Rutter, Moffitt, & Caspi, 2006; Suomi, 2006; Susman, 1998). L'importance accordée aux interactions survenant entre ces divers systèmes n'est guère surprenante si l'on considère les mécanismes biologiques par lesquels les gènes sont présumés avoir un impact sur le comportement. La contribution des facteurs génétiques à l'explication du comportement est nécessairement indirecte puisque c'est la synthèse des protéines qui initie une cascade d'événements agissant de près ou de loin sur la membrane cellulaire, le milieu extracellulaire, la connectivité neuronale, le système nerveux central, etc. (Greenough, 1992; Johnston & Edwards, 2002). Un constat similaire s'applique à l'influence de l'environnement sur les comportements. Les stimuli présents dans l'environnement sont d'abord captés par les systèmes sensoriels (ex. vision, odorat) qui les intègrent et les analysent (cortex cérébral) en regard des informations gardées en mémoire, du contexte (hippocampes) et de la connotation émotive (amygdales). Bref, les gènes et l'environnement ne sont pas deux boîtes au contenu indéfini qui affectent indépendamment le développement normatif et pathologique de l'enfant. Au contraire, il apparaît de plus en plus manifeste que les contributions des facteurs génétiques et environnementaux s'exercent habituellement par le biais d'interactions survenant entre plusieurs systèmes situés à différents niveaux d'analyse.

Le rôle des interactions entre les facteurs génétiques et l'environnement (GxE) dans le développement est de plus en plus reconnu (Gottlieb, 2003; Repetti et al., 2002; Rutter et al., 2006). Au sens large, les GxE réfèrent soit à la modulation génétique de l'influence de l'environnement sur un phénotype ou à la modulation environnementale (actuelle ou passée) de l'influence de l'expression génétique sur un phénotype. Si on accorde beaucoup

d'importance aux GxE dans les modèles théoriques du développement humain, il n'y a qu'un nombre limité d'études empiriques sur la question. Les résultats de ces études suggèrent la présence de GxE dans l'émergence des conduites antisociales (Caspi et al., 2002; Jaffee et al., 2005; Riggins-Caspers, Cadoret, Knutson, & Langbehn, 2003), de la dépression (Carmelli et al., 2000; Caspi et al., 2003; Kendler et al., 1995), de la dépendance à l'alcool (Heath & Nelson, 2002; Suomi, 2003) et de l'anxiété (Bakshi & Kalin, 2000; Gross et al., 2002). Aucune étude conduite chez l'humain n'a toutefois examiné le rôle des GxE dans la sécrétion cortisolaire (tonique ou réactive).

Plusieurs modèles théoriques ont été proposés afin d'expliquer la nature des contributions des facteurs génétiques et environnementaux sur la sécrétion cortisolaire. Certains modèles ont en commun l'hypothèse que les gènes et l'environnement interagissent (se combinent non-linéairement) afin de prédire la sécrétion cortisolaire. L'examen des GxE peut s'effectuer par le biais de stratégies diverses, dont la mise en évidence d'une variation des contributions génétiques et environnementales au sein de contextes environnementaux distincts (Moffitt, Caspi, & Rutter, 2005). Dans ce contexte, deux formes de GxE peuvent être anticipées à partir des modèles théoriques proposés et des résultats de recherches passées : le modèle « diathèse-stress » et l'effet organisationnel de l'environnement adverse précoce.

1.4.1 Le modèle « diathèse-stress »

Depuis plus d'un siècle, le stress est considéré comme un facteur étiologique important associé à l'émergence de psychopathologies diverses (ex. troubles de l'humeur et anxieux). Les individus montrent toutefois une grande variabilité en regard du risque d'être atteint d'une psychopathologie. Le modèle *diathèse-stress* propose que l'exposition à un stress exacerbe la prédisposition (diathèse) d'un individu à être atteint d'une psychopathologie (Monroe & Simons, 1991; Zubin & Spring, 1977). D'abord conceptualisée comme étant d'origine génétique, une diathèse renvoie plus généralement aux facteurs de risque qui accroissent la vulnérabilité de l'individu à souffrir d'une psychopathologie lorsque confronté à une situation adverse. Ainsi, une diathèse pourrait

être un gène, un mode de régulation atypique de corrélats neurophysiologiques (ex. rythme cardiaque, tonus vagal, cortisol, sérotonine), des schèmes cognitifs inadéquats (Cohen & Manuck, 1995; Gaab et al., 2003; Scher et al., 2005) ou des expériences passées adverses (ex. trauma) (de Kloet & Oitzl, 2003; Heim & Nemeroff, 1999; Heim et al., 2002; Heim, Plotsky, & Nemeroff, 2004; Kaufman, Plotsky, Nemeroff, & Charney, 2000; Suomi, 2006). À titre d'exemple, Heim et ses collègues (2002) ont montré que l'interaction entre les abus sexuels subis pendant l'enfance et les événements traumatisants vécus à l'âge adulte est associée à une réponse accrue d'ACTH lors d'une situation stressante présentée en laboratoire (Heim et al., 2002).

Dans le contexte où la diathèse est définie exclusivement par le génotype, le modèle *diathèse-stress* renvoie à la modulation génétique de la sensibilité des individus aux conditions de vie adverses sur la sécrétion cortisolaire et, indirectement, sur la vulnérabilité d'être atteint d'une psychopathologie (de Kloet & Oitzl, 2003). Parmi les gènes candidats étudiés dans le contexte des GxE, une attention soutenue est accordée aux gènes liés à la production et la régulation de la sérotonine (5-HT) puisque le déséquilibre de ce neurotransmetteur est associé à plusieurs psychopathologies (ex. dépression, trouble obsessionnel-compulsif, dépendance aux drogues) et comportements problématiques (ex. impulsivité et suicide). Or, ces études sont marquées par de nombreux résultats inconsistants (Bellivier et al., 1998; Bellivier et al., 2000). Ce constat peut s'expliquer par l'absence d'un effet direct (i.e. indépendant) des gènes liés à la production et à la sécrétion de la 5-HT sur l'incidence des psychopathologies examinées (Murphy et al., 2001). En accord avec cette hypothèse, Caspi et al. (2003) ont montré que la version courte d'un polymorphisme situé dans la région du promoteur du gène transporteur de la sérotonine (5HTTLPR) modulait l'influence des événements de vie stressants sur la dépression (Caspi et al., 2003). Un résultat similaire a été obtenu par Kaufman et al., (2004) auprès d'enfants ayant subi des mauvais traitements (Kaufman et al., 2004). Dans ces deux cas, le génotype n'avait aucun impact direct sur la dépression. De la même façon, le polymorphisme codant pour la transcription de l'enzyme de la monoamine oxidase A (MAOA) modère l'effet des mauvais traitements subis au cours de l'enfance sur la manifestation des problèmes antisociaux au début de l'âge adulte (Caspi et al., 2002; Foley et al., 2004).

La modulation génétique de la vulnérabilité d'un individu aux environnements adverses s'exprime fort probablement par le biais de traits neurobiologiques simples (ex. 5-HT, MAOA, cortisol), dont l'activité modulerait les processus cognitifs primaires (ex. contrôle de l'inhibition, attention, réactivité au stress, émotions, schémas cognitifs) et les phénotypes complexes (ex. dépression, agressivité) (de Geus, 2002; Repetti et al., 2002). À cet effet, Champoux et son équipe (2002) ont rapporté, dans leur étude menée auprès de singes rhésus, une interaction entre le rh-5HTTLPR (version du 5HTTLPR chez les macaques rhésus) et le contexte de vie précoce (i.e. élevés avec leur mère ou des pairs) sur les déficits d'orientation et d'attention (composantes cognitives liées à l'éveil émotionnel) (Champoux et al., 2002). Bennett et ses collaborateurs (2002) ont montré que l'allèle court du rh-5HTTLPR était associé à l'activité sérotonergique du système nerveux central chez les singes rhésus élevés avec leurs pairs alors que cette relation n'est pas présente chez ceux qui ont été élevés avec leur mère (Bennett et al., 2002). Chez l'humain, la version courte du gène transporteur de la sérotonine (5-HTT) est liée à une plus grande sensibilité des amygdales (structure limbique liée aux émotions) (Hariri et al., 2002). Ce même polymorphisme serait aussi lié, en interaction avec un manque de soutien social à l'âge de 4 ans, à une plus forte inhibition comportementale à l'âge de 7 ans. En somme, certains polymorphismes liés à la production et à la régulation de la 5-HT modèleraient l'impact de l'adversité environnementale sur certains traits neurobiologiques simples (ex., 5-HTT, amygdales) et processus cognitifs primaires (ex. attention), modifiant ainsi le risque subséquent de souffrir d'une psychopathologie.

Plusieurs chercheurs ont émis l'hypothèse que les facteurs génétiques associés à un risque accru (ou à la résilience) de manifester un mode de sécrétion cortisolaire atypique risquent davantage de s'exprimer si l'individu est soumis à des conditions de vie adverses alors qu'ils demeureraient « silencieux » lorsque exposé à des conditions plus normatives (Heim et al., 2000; Heim & Nemeroff, 1999; Heim et al., 2004; Kaufman et al., 2000). Ainsi, l'exposition à des contextes de vie adverses n'induirait pas nécessairement un mode de sécrétion cortisolaire atypique chez *tous* les enfants (de Kloet & Oitzl, 2003). En effet, certains enfants pourraient se montrer plus ou moins résilients en regard de l'adversité subie, notamment en raison de traits hérités. Les résultats indiquant une plus forte

contribution des facteurs génétiques dans des conditions de vie adverses comparativement à ce qui est observé dans des situations plus normatives seraient consistants avec le modèle *diathèse-stress*. Bien que plusieurs chercheurs aient suggéré l'importance des GxE à l'étiologie des différences individuelles notées à la sécrétion cortisolaire, aucune recherche conduite auprès d'humains n'a exploré cette hypothèse à ce jour.

Peu d'études ont examiné la présence de GxE dans l'étiologie de la sécrétion cortisolaire. Les quelques études portant sur cette question ont été menées auprès de rongeurs et de primates non humains. Considérant l'étroite relation entre l'activité sérotonergique et l'axe HPS (Lopez et al., 1999), les polymorphismes de la 5-HT ont aussi été examinés sous l'angle de l'activité de l'axe HPS. Li et ses collègues (1999) ont noté que les souris dont le gène du transporteur de la 5-HT était modifié génétiquement en homozygotes (-/-) et hétérozygotes (-/+) sécrétaient plus d'ACTH en réponse à un stress comparativement aux homozygotes (+/+) (gène intact) (Li et al., 1999). Ce résultat laisse entendre que le gène du transporteur de la 5-HT serait lié à la sécrétion réactive d'ACTH. Barr et ses collaborateurs (2004) ont rapporté que le rh-5HTTLPR modulait la relation entre l'exposition à un environnement adverse précoce et la sécrétion cortisolaire auprès de macaques rhésus âgés de six mois (Barr et al., 2004). Plus spécifiquement, l'allèle court du rh-5HTTLPR est lié à une sécrétion moindre de cortisol avant le début de la procédure expérimentale (pré-test) et ce, exclusivement auprès de macaques élevés avec leurs pairs. Les macaques regroupés dans les trois autres conditions expérimentales (i.e., élevés par leur mère [avec ou sans l'allèle court du rh-5HTTLPR] et élevés avec leurs pairs et homozygotes pour l'allèle long) ne se différencient pas les uns des autres. En réponse à la situation stressante, les mesures d'ACTH au cours des heures suivant la période de séparation (1h et 2h post-séparation) étaient plus élevées chez les macaques ayant un allèle court du rh-5HTTLPR et ayant été élevés avec leurs pairs. À nouveau, aucun effet direct du rh-5HTTLPR et des conditions de vie précoces (élevé ou non avec la mère biologique) n'était observé à la mesure pré-test. Aucun effet (principal ou d'interaction) n'était observé en lien avec la sécrétion cortisolaire réactive (i.e., 1 h et 2h post-séparation) (Barr et al., 2004). En résumé, l'allèle court du rh-5HTTLPR est associé à une sécrétion cortisolaire réduite au pré-test et à une sécrétion réactive accrue d'ACTH exclusivement chez les

macaques rhésus soumis à un environnement adverse, suggérant un modèle *diathèse-stress*. L'allèle court du rh-5HTTLPR constituerait ainsi une vulnérabilité génétique (diathèse) dont l'effet tendrait à s'exprimer suite à l'exposition à des conditions de vie adverses.

1.4.2 L'effet organisationnel de l'environnement adverse précoce

Étant donné la sensibilité accrue des structures cérébrales impliquées dans l'activation et la régulation de l'axe HPS à la petite enfance, l'exposition à des environnements adverses tôt au cours du développement pourrait influencer la sécrétion cortisolaire au-delà des traits génétiques transmis par les parents. Cette hypothèse stipule un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce sur l'activité cortisolaire. En d'autres mots, la sécrétion cortisolaire des enfants tendrait à devenir plus atypique en contextes de conditions de vie adverses, particulièrement si cette adversité est vécue tôt au cours de leur développement. L'influence de l'environnement précoce s'exercerait en dépit de la transmission génétique de traits associés (ex. réactivité cortisolaire, anxiété) des parents aux enfants. En absence de contextes de vie adverses, les différences individuelles quant à la sécrétion cortisolaire tendraient à refléter davantage le bagage génétique transmis par les parents. Ce patron distinct de contributions génétiques et environnementales en fonction d'environnements distincts traduirait un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce sur la sécrétion cortisolaire.

La plupart des études empiriques ayant signalé un effet organisationnel de l'environnement sur l'activité de l'axe HPS ont été menées auprès de rongeurs et de primates non humains. Dans ces études, les chercheurs peuvent manipuler systématiquement les expériences vécues tôt au cours du développement dans un environnement contrôlé et observer les effets à long terme. Higley, Suomi et Linnoila (1992) ont comparé des singes rhésus élevés avec leur mère depuis la naissance jusqu'à l'âge de six mois à ceux qui ont grandi parmi leurs pairs (Higley, Suomi, & Linnoila, 1992). Soumis à des procédures de séparation sociale répétées à l'âge de 6 et 18 mois, les singes élevés dans un groupe de pairs montraient une réactivité cortisolaire supérieure à celle des singes élevés par leur mère. Ce patron réactif s'était maintenu jusqu'à

l'adolescence et s'accompagnait habituellement d'anxiété, d'inhibition comportementale et d'impulsivité (Champoux, Coe, Schanberg, Kuhn, & Suomi, 1989; Suomi, 1997, 2003, 2006).

Plusieurs études menées auprès de rongeurs soulignent aussi un effet organisationnel des expériences vécues tôt au cours du développement sur la sécrétion cortisolaire et ce, particulièrement si ces expériences surviennent au cours de la période d'hyporéactivité au stress (entre le 4^{ième} et le 14^{ième} jour suivant la naissance chez le rat). Ces études montrent que les petits rats séparés de leur mère et manipulés par l'expérimentateur pendant de courtes périodes (i.e. 3-15 minutes) au cours des premières semaines suivant la naissance ont une moins grande réactivité cortisolaire et comportementale (ex. peur, immobilisation, problèmes d'alimentation de sommeil) en réponse à un stress que les rats n'ayant subi aucune perturbation (Caldji et al., 1998; Francis et al., 1996; Meaney, 2001; Meaney, Aitken, Viau, Sharma, & Sarrieau, 1989). Aucune différence n'est cependant observée dans la sécrétion tonique (Levine, 2005; Meaney et al., 1989; Workel et al., 2001). Ce résultat est d'autant plus remarquable que les effets sur la réactivité tendent à persister dans le temps et surviendraient uniquement lorsque les manipulations sont effectuées avant le sevrage (incluant la période prénatale) (de Kloet et al., 2005). Ces résultats sont cohérents avec l'hypothèse d'une « période sensible » au cours de laquelle les expériences vécues ont un effet organisationnel sur la réactivité cortisolaire (Meaney, 2001; Meaney, Aitken, Bhatnagar, & Sapolsky, 1991).

La manipulation des petits rats aurait un effet indirect sur la réactivité cortisolaire par le biais de l'augmentation des soins maternels (Caldji et al., 1998; Liu et al., 1997), qui seraient eux-mêmes transmis de la mère à la fille sans que ne soit changée la séquence d'ADN (Champagne et al., 2006). La relation entre les soins maternels mesurés par la fréquence de comportements de léchage et de toilettage (LT) et de position de maternage (PM) (dos cambré) et la réactivité cortisolaire des petits rats appuie cette affirmation (Caldji et al., 2000; Francis, Champagne, Liu, & Meaney, 1999). En effet, il se dégage de ces études que les petits rats ayant reçu une fréquence élevée de LT et de PM montrent une augmentation de l'expression du gène des RG dans les hippocampes et le cortex frontal. Ce

changement se traduit par une action accrue des boucles de rétroaction négative de l'axe HPS en situation de stress et donc, par une expression réduite de l'ARN messenger de la HLC (activation réduite de l'axe HPS) (Liu et al., 1997).

À l'inverse, la séparation maternelle pendant des périodes de temps prolongées (environ 3 heures) induit une plus grande réactivité cortisolaire en contexte de stress, différences qui tendent à perdurer jusqu'à l'âge adulte. Ces changements semblent principalement liés à une réduction de la capacité de liaison des RG dans les hippocampes ainsi qu'à une augmentation de la réponse noradrénergique (de Kloet & Oitzl, 2003; Plotsky & Meaney, 1993; Vallee et al., 1997; Workel et al., 2001). En résumé, les soins maternels auraient un effet organisationnel sur la réactivité cortisolaire pendant la période où les structures impliquées dans la réactivité au stress (ex. hippocampes, amygdales) montrent une grande plasticité. Après cette période, les différences quant aux comportements maternels n'auraient plus d'impacts notables (Caldji et al., 1998; Liu et al., 1997).

Alors que les comportements maternels apparaissent contribuer à l'émergence des différences individuelles liées à la sécrétion cortisolaire, il est aussi possible que ce phénotype soit transmis de la mère à sa progéniture par voie génétique. En effet, les mères ayant des traits anxieux (et qui ont tendance à sécréter plus de cortisol en réponse à un stress) accordent généralement moins de soins à leur progéniture (Liu et al., 1997). Francis et ses collègues (1999) ont effectué une étude dans laquelle un nombre restreint de rats issus de mères biologiques montrant *peu* de LT et de PM (inférieur à un écart-type de la moyenne) étaient assignés à des mères exposant *beaucoup* de LT et de PM (supérieur à un écart-type de la moyenne) et vice-versa (Francis, Diorio, Liu, & Meaney, 1999). À ces groupes expérimentaux, deux groupes contrôles s'ajoutent et regroupent les petits rats qui demeurent avec leur mère biologique. Les résultats indiquent que les rats issus de mères biologiques montrant peu de LT et de PM et élevés par des mères exposant beaucoup de LT et de PM avaient des patrons cortisolaires tonique et réactif similaires aux rats issus de mère exhibant beaucoup de LT et de PM et demeurés avec elles. Ces résultats laissent croire que les différences individuelles liées à la réactivité cortisolaire se perpétueraient de

génération en génération par l'influence de l'environnement précoce (soins maternels avant la fin de la période de sevrage) et non pas par la transmission génétique du phénotype. Les résultats obtenus par Weaver et ses collègues (2004) appuient ce constat (Weaver et al., 2004). Ils ont montré que les comportements maternels (i.e., ± 1 écart-type de LT et de PM) prodigués pendant les premières semaines de vie provoquent des changements stables dans la méthylation de la structure de la chromatine du gène promoteur des RG dans les hippocampes. La méthylation de la région impliquée dans l'initiation de la transcription du RG, l'exon 17, varie de façon systématique selon les comportements maternels manifestés, qu'il s'agisse de la mère biologique ou adoptive. Ces changements se maintiendraient jusqu'à l'âge adulte et seraient associés à des différences d'expression du gène des RG qui influenceraient par la suite le nombre de RG présents au niveau des hippocampes (Weaver et al., 2004). Parce que les RG sont impliqués dans la terminaison de la réponse de stress, ces changements seraient également notables sur le plan de la réactivité de l'axe HPS au stress. Cette étude souligne ainsi un effet épigénétique (i.e. transmission des phénotypes d'une génération à une autre sans qu'il n'y ait de modification de la séquence d'ADN) initié par les comportements maternels (± 1 écart-type de LT et de PM) émis pendant la période sensible. Il est toutefois incertain si la démonstration de l'effet organisationnel de l'environnement adverse précoce au-delà de toutes contributions génétiques se généralise à l'ensemble du continuum décrivant les comportements maternels ou si l'effet est limité aux extrêmes.

La transmission de phénotypes par le biais d'effets épigénétiques représente un certain avantage pour le jeune enfant en lui permettant de s'ajuster rapidement aux particularités de l'environnement dans lequel il est né (ou naîtra) (Boyce & Ellis, 2005). De plus, compte tenu que ces environnements montrent un fort potentiel de variations (ex. disponibilité de la nourriture, insécurité économique), les effets épigénétiques ont l'avantage de ne pas être encryptés dans la séquence d'ADN. Or, en dépit de cette valeur adaptative, la transmission de traits (ex. réactivité au stress) s'accompagne aussi d'effets délétères s'ils sont maintenus alors que les conditions environnementales ne le justifient plus (de Kloet et al., 2005). Une série d'études menées par Yehuda et son équipe (2007) montrent que les enfants (devenus adultes) de parents ayant survécu à l'Holocauste et ayant

souffert d'un état de stress post-traumatique (ESPT) montrent des différences cortisolaires notables sur plusieurs aspects du rythme circadien comparativement aux enfants de parents ayant aussi survécu à l'Holocauste mais n'ayant jamais souffert d'un ESPT (Yehuda et al., 2007). Aucun participant ne souffrait d'un ESPT au moment de l'étude et ne se distinguait sur le plan des événements traumatiques rapportés dans leur enfance. Les auteurs émettent la possibilité que ces différences représentent un effet organisationnel de l'environnement (prénatal et/ou postnatal) et que cette « vulnérabilité » sur le plan de la sécrétion cortisolaire ait été transmise par le biais d'un effet épigénétique (Champagne et al., 2006; Sutherland & Costa, 2003). Aucun contrôle des facteurs génétiques n'a été effectué.

En somme, les recherches conduites auprès de primates non humains et de rongeurs suggèrent que l'environnement précoce contribue à l'émergence de patrons stables de réactivité cortisolaire (Meaney, 2001; Parker, Buckmaster, Schatzberg, & Lyons, 2004). Aucun effet direct n'est noté quant à la sécrétion tonique. Ces différences individuelles représenteraient ainsi un mécanisme biologique plausible par lequel les enfants confrontés à l'adversité tôt au cours de leur développement seraient plus vulnérables à souffrir de problèmes sur les plans physiques et psychologiques (Kaufman et al., 2000).

Malgré la vaste contribution de la recherche animale à la compréhension des effets du stress vécu tôt au cours du développement, plusieurs limites sont à considérer. Premièrement, l'avantage des modèles animaux tient à ce qu'ils examinent l'impact d'un stress circonscrit en exerçant un contrôle expérimental des « variables nuisibles ». Toutefois, il est difficile de situer la période de sensibilité chez l'humain en fonction de la période identifiée chez les rongeurs considérant que le développement des primates (incluant la période fœtale) est considérablement ralenti comparativement aux rongeurs (Glaser, 2000). La similarité de la séquence de développement de l'axe HPS chez les primates à la naissance permet cependant de situer approximativement la période sensible à la petite enfance (Suomi, 1997). Contrairement aux études effectuées chez les rongeurs, aucune étude effectuée auprès de primates n'a démontré un effet épigénétique des soins maternels sur l'expression des gènes des RG au niveau des hippocampes. Ainsi, il est aussi possible que l'effet organisationnel présumé des conditions environnementales adverses sur

la sécrétion cortisolaire réactive s'effectue par le biais de certaines structures cortico- limbiques immatures (ex. hippocampes, amygdales), particulièrement sensibles aux effets de l'environnement à cette période du développement et impliquées dans la régulation de la réponse au stress (Gunnar & Quevedo, 2007; Gunnar & Vazquez, 2006). Aussi, bien que l'organisation cérébrale des rongeurs et des primates s'apparente à celle de l'humain, les fonctions cognitives supérieures de ce dernier pourraient influencer la perception de soi et du monde extérieur et par le fait même, la réactivité cortisolaire en réponse à un stress (Bremner & Vermetten, 2001; Lewis & Ramsay, 1997; Scher et al., 2005). À titre d'exemple, l'ARN messenger des RM a été décelé dans la région préfrontale des primates alors qu'il est non détecté à ce jour chez les rongeurs. Dans le cortex frontal, les RM participerait à la modulation de l'humeur, du comportement social et des processus cognitifs. Ces différences limitent conséquemment l'extrapolation des résultats issus d'études effectuées auprès des rongeurs à l'ensemble des processus opérant auprès des primates (Lopez et al., 1999). La généralisation des connaissances tirées des études effectuées auprès de rongeurs et de primates non humains est donc limitée par l'absence de repères empiriques fiables chez l'humain.

Aucune étude n'a encore examiné la relation entre l'adversité environnementale et la sécrétion cortisolaire (tonique ou réactive) dans un contexte génétiquement informatif chez l'humain. Par conséquent, il est impossible de conclure que les différences de sécrétion cortisolaire en fonction de l'adversité précoce résultent de l'action exclusive de l'environnement sans que n'intervienne une transmission génétique du phénotype.

1.5 CONCLUSION

En définitive, des dysfonctions de l'activité de l'axe HPS ont été associées à la symptomatologie de plusieurs psychopathologies à l'enfance et à l'âge adulte. L'examen des facteurs génétiques et environnementaux contribuant à l'émergence des différences individuelles quant à la sécrétion cortisolaire tonique et réactive doit être poursuivi en précisant la période de développement étudiée. À la petite enfance, les structures cérébrales liées à la sécrétion réactive de l'axe HPS montrent une plasticité exceptionnelle. Or, toutes

les structures cérébrales ne montrent pas une même sensibilité aux effets délétères de l'adversité précoce en raison de leur immaturité ou de la précarité des circuits décrivant leurs interactions avec d'autres structures cérébrales. Les hippocampes, les amygdales et le cortex frontal, structures engagées lorsque l'individu perçoit et interprète une source de stress potentielle, sont les structures cérébrales les plus sensibles à l'environnement postnatal. De toute évidence, la petite enfance s'avère une période exceptionnelle afin d'étudier la contribution des facteurs génétiques et environnementaux liées à la sécrétion cortisolaires.

1.6 OBJECTIFS DE LA THÈSE

L'objectif principal de la présente thèse de doctorat est d'étudier l'étiologie de la sécrétion cortisolaires tonique et réactive à la petite enfance. Cet objectif sera poursuivi en examinant les variations de la contribution des facteurs génétiques et environnementaux en fonction de l'adversité familiale. Compte tenu du fait que la petite enfance est une période du développement caractérisée par une plasticité accrue de certaines structures neuronales, les variations des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale pourraient, si elles sont présentes, prendre la forme d'un effet organisationnel de l'adversité environnementale précoce ou d'un effet *diathèse-stress*. Plus précisément, un effet organisationnel de l'adversité environnementale se traduirait par une contribution réduite des facteurs génétiques et une plus forte contribution de l'environnement partagé auprès des jumeaux exposés à l'adversité familiale alors que l'estimé des facteurs génétiques tendrait à augmenter en l'absence d'adversité familiale (contexte dans lequel la plupart des jumeaux se retrouvent). En revanche, un effet *diathèse-stress* serait plus susceptible de donner lieu à une plus forte contribution des facteurs génétiques auprès des jumeaux soumis à l'adversité familiale comparativement à ceux qui sont exempts de ce type d'environnement. Considérant que les mesures cortisolaires ont été effectuées au cours de différents contextes (prélèvements réalisés au réveil et en matinée vs une exposition à une situation de nouveauté sociale) et à des âges distincts (6 vs 19 mois), l'examen de l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires sera effectué en deux temps.

Article 1

L'objectif principal du premier article est d'examiner l'étiologie de la sécrétion cortisolique réactive auprès de jumeaux âgés de 19 mois confrontés à une situation de nouveauté sur les plans social et physique. Avant de débiter cet exercice, l'association souvent rapportée entre l'adversité environnementale et les patrons atypiques de sécrétion cortisolique réactive sera étudiée. Finalement, l'examen de la contribution des facteurs génétiques et environnementaux en fonction de l'adversité familiale sera effectué. La présence d'un modèle pour lequel les estimés des facteurs génétiques et environnementaux diffèrent en fonction de l'adversité familiale indiquera la possibilité que les facteurs génétiques et environnementaux interagissent pour donner lieu aux différences individuelles notées à la réactivité cortisolique à 19 mois.

Article 2

L'objectif principal du deuxième article est d'évaluer les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolique diurne auprès de jumeaux âgés de 6 mois. Deux prélèvements salivaires seront examinés. La première mesure consiste en un prélèvement effectué au réveil (à la maison) alors que la deuxième mesure a été effectuée tôt en avant-midi (à l'arrivée de la famille au laboratoire). Cette investigation permettra aussi d'examiner la variation des contributions des facteurs génétiques et environnementaux en fonction de l'adversité familiale.

CHAPITRE 2. LES PREMIER ET DEUXIÈME ARTICLES EMPIRIQUES DE LA THÈSE

ARTICLE 1. VARIATION IN HERITABILITY OF CORTISOL REACTIVITY TO STRESS AS A FUNCTION OF EARLY FAMILIAL ADVERSITY AMONG 19 MONTH-OLD TWINS

ARTICLE 2. HOME AND LABORATORY DAYTIME CORTISOL SECRETION IN 6 MONTH-OLD TWINS: GENETIC AND ENVIRONMENTAL CONTRIBUTIONS AS A FUNCTION OF EARLY FAMILIAL ADVERSITY

Title of the article: Variations in Heritability of Cortisol Reactivity to Stress as a Function of Early Familial Adversity among 19 Month-Old Twins

Running head: Early Adversity and cortisol reactivity in infancy

Isabelle Ouellet-Morin, M.Ps.^a, Michel Boivin, Ph.D.^a, Ginette Dionne, Ph.D.^a, Sonia J. Lupien, Ph.D.^b, Louise Arseneault, Ph.D.^c, Ronald G. Barr, MDCM, FRCPC^d, Daniel Pérusse, Ph.D.^e, and Richard E. Tremblay, Ph.D.^f

^a School of Psychology, Université Laval, Québec city, CANADA

^b Center for Human Stress Research, Douglas Hospital Research Center, McGill University, Montréal, CANADA

^c Institute of Psychiatry, King's College, London, UK

^d Child and Family Research Institute, University of British Columbia, Vancouver, CANADA

^e Department of Anthropology, Université de Montréal, Montréal, CANADA

^f Department of Psychology, Université de Montréal, Montréal, CANADA

Correspondance to: Michel Boivin
GRIP, École de Psychologie
Pavillon Félix-Antoine-Savard
Université Laval
Québec (Québec)
CANADA, G1K 7P4
tel: (418) 656-2131 ext. 2825
fax: (418) 656-3646
e-mail: michel.boivin@psy.ulaval.ca

Funding support:

This research was supported by grants from the National Health Research Development Program, the Social Sciences and Humanities Research Council of Canada, the Québec Ministry of Health and Social Services, the Canadian Institutes of Health Research, the Canada Research Chair program, the Fonds Québécois de la Recherche sur la Société et la Culture, and the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. Isabelle Ouellet-Morin is supported by fellowships from the Canadian Institutes of Health Research and the Behavioral, Gene and Environment Training Grant Program.

Word counts: 4876

The manuscript contains 2 tables and 2 figures

Abstract

Context: Cortisol reactivity is a marker of vulnerability for a variety of stress-related diseases that likely arises from the contributions of both genetic and environmental sources of influence. However, very little is known about gene-environment interplay in early cortisol reactivity.

Objective: The goal of this study was to examine the genetic and environmental contributions to early cortisol reactivity in a population-based sample of 19 month-old twins, and to determine whether these contributions vary as a function of early familial adversity.

Method: Salivary cortisol samples were collected before and after the participating twins (346 twins: 130 monozygotic and 216 dizygotic) had been exposed to unfamiliar situations. Familial adversity was based on 7 perinatal and postnatal risk factors (e.g. at 6 and 19 months of age): maternal smoking during pregnancy, low birth weight, low family income, low maternal education, single parenthood, young motherhood, and maternal hostile/reactive behaviors. Twins exposed to 4 or more risk factors at either time were considered as having been exposed to high (versus low) familial adversity (23% of the sample).

Results: Distinct patterns of genetic and environmental contributions to cortisol reactivity were evidenced as a function of familial adversity, suggesting a possible gene-environment interplay. Under low familial adversity settings that characterized the majority of the families, both genetic and unique but not shared environmental factors accounted for individual differences in cortisol reactivity, with shared genes explaining the similarity observed within twin pairs. By contrast, under conditions of high familial adversity, both shared and unique environmental factors, but not genetic factors, accounted for the variance in cortisol reactivity.

Conclusions: This pattern of differing genetic and environmental contributions according to familial adversity suggests that, early in life, high familial adversity may have a programming developmental effect on cortisol reactivity.

Word counts: 295

Introduction

The hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis underlies both adaptive and maladaptive responses to stress (McEwen, 2000, 2002). Adaptive responses to stress are characterized by relatively rapid activation and inhibition of cortisol secretion (McEwen, 2000; Sapolsky, 2004), a glucocorticoid hormone produced by the HPA axis. However, responses to stress may become maladaptive when they are prolonged, fail to habituate, are repeatedly activated, or quiescent when needed (Lupien et al., 2006).

Large individual differences in cortisol secretion have been observed under stressful conditions (DeRijk, Schaaf, & de Kloet, 2002; Kirschbaum & Hellhammer, 1994). Substantial deviations from normative cortisol responses to stress may result from dysfunctional HPA axis reactivity and have damaging effects over time (McEwen, 2000; Sapolsky, 2004). Disrupted cortisol reactivity has been associated with behaviour problems and psychiatric disorders, such as anxiety (Granger, Weisz, & Kauneckis, 1994; Klaassen, Riedel, van Praag, Menheere, & Griez, 2002; Smider et al., 2002), depression (Kaufman, Plotsky, Nemeroff, & Charney, 2000; Luby et al., 2003), behavioral inhibition (Buss et al., 2003; Kagan, Reznick, & Snidman, 1987), post-traumatic stress disorder (Carrion et al., 2002; Yehuda, Hallig, & Grossman, 2001), and conduct problems (McBurnett, Lahey, Rathouz, & Loeber, 2000; Snoek, Van Goozen, Matthys, Buitelaar, & van Engeland, 2004). Cortisol reactivity is thus a marker of vulnerability for a variety of stress-related diseases (McEwen, 2002). Understanding the aetiology of cortisol reactivity early in development may clarify the role of early vulnerability to stress in later onset of stress-related diseases.

The inter-individual variability in cortisol reactivity likely arises from the joint contributions of genetic and environmental sources of influence. However, research has mainly documented the association between adverse environments and cortisol reactivity during childhood and adolescence (Evans, 2003; Heim, Ehlert, & Hellhammer, 2000; Vazquez, 1998). Cortisol reactivity has been associated with low socioeconomic status

(Evans & English, 2002; Flinn & England, 1997; Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2001), maternal depression (Ashman, Dawson, Panagiotides, Yamada, & Wilkinson, 2002; Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2000), maltreatment and abuse (Cicchetti & Rogosch, 2001; Glaser, 2000; Hart, Gunnar, & Cicchetti, 1995; Heim, Newport et al., 2000), and exposure to community violence (Scarpa & Ollendick, 2003).

Only a handful of studies have documented the relation between adverse environments, such as harsh and insensitive parenting, and cortisol reactivity during the preschool-years (Bugental, Martorell, & Barraza, 2003; Gunnar, Morison, Chisholm, & Schuder, 2001; Hart et al., 1995). These studies suggest a likely contribution of early adverse environments to cortisol reactivity. However, because they remain blind as to the role of genetic factors in that association, it is difficult to clearly establish the nature of this contribution (Boivin et al., 2005; Dionne, Dale, Boivin, & Plomin, 2003; Plomin, DeFries, McClearn, & Rutter, 2001; Scarr, 1992). Twin studies are useful to this end, but very few twin studies have examined the genetic and environmental contributions to cortisol reactivity. Kirschbaum et al. showed that monozygotic (MZ) twins were more similar than dizygotic (DZ) twins in cortisol response to corticotrophin releasing factor (CRF) injection, but not with respect to physical and psychological stress (Kirschbaum, Wüst, Faig, & Hellhammer, 1992). Pritchard et al. (Pritchard et al., 1998) found no genetic contribution to cortisol response to overfeeding in young adult twin pairs. However, the small sample sizes (i.e., less than 25 pairs), and the fact that these studies were conducted with young adults preclude any conclusion about possible genetic contributions to cortisol reactivity in early childhood. The genetic and environmental contributions to cortisol reactivity in early childhood have yet to be documented.

Genetic and environmental factors may contribute to early cortisol reactivity in various ways. One prevailing hypothesis states that genes and environmental factors are likely to combine non-linearly to affect cortisol reactivity (Rutter, Moffitt, & Caspi, 2006). Gene-environment interplay has been documented through different approaches, including variations in genetic and environmental contributions according to environmental

circumstances (Moffitt, Caspi, & Rutter, 2005; Rutter et al., 2006). Accordingly, two forms of gene-environment interplay may be anticipated from previous research. First, as suggested by a “diathesis-stress” model (Zubin & Spring, 1977), genetic factors could predispose a child to react with an increased cortisol response if exposed to stressful environments (McEwen & Lasley, 2002). In this case, a genetic vulnerability to stress would be more likely to be expressed under adversity than under favourable conditions. Results showing higher heritability of cortisol reactivity under conditions of environmental constraints, such as high versus low family adversity, would be consistent with such a model. The findings by Caspi et al. (Caspi et al., 2002; Caspi et al., 2003) that genetic liabilities (i.e., low MAOA, 5-HTT short allele) exacerbated the impact of adverse environments (i.e., maltreatment, life stress events) on later psychopathology (i.e., antisocial behavior, depression) is consistent with this form of GxE process.

A second possibility is that of a developmental programming effect on the HPA axis by early adverse environment reducing genetic influences on cortisol reactivity (Gunnar & Vazquez, 2006; Meaney, 2001). This idea is consistent with the well-documented increased sensitivity of stress-reactive systems to environmental influences in early development (Casey, 2003; De Kloet, Vreugdenhil, Oitzl, & Joels, 1998; Hardie, Moss, Vanyukov, Yao, & Kirillovac, 2002; Schulkin, 2003). In rodents, prolonged periods of maternal separation have been associated with increased corticosterone reactivity (Liu, Caldji, Sharma, Plotsky, & Meaney, 2000; Plotsky & Meaney, 1993; Vallee et al., 1997). Cross-fostering studies have also shown that HPA axis reactivity is modulated by early maternal care through epigenetic processes (Francis, Diorio, Liu, & Meaney, 1999; Weaver et al., 2004). Confirmation that these processes operate among humans awaits, although a marked brain plasticity to environment during infancy has been documented (Gunnar & Donzella, 2002; Kaufman et al., 2000; Teicher et al., 2003). In a twin design, a finding showing 1) reduced genetic contributions to cortisol reactivity among twin siblings exposed to high family adversity, and 2) higher genetic contributions among twins exposed to low familial adversity, would be consistent with this model.

The main goal of the present study was to analyze the genetic and environmental contributions to cortisol reactivity to an unfamiliar context in 19 month-old twins, and to examine variations in genetic and environmental contributions to cortisol reactivity according to early family adversity. At this age, children typically react with marked anxiety to unfamiliar situations and adults, but large individual differences in behavioral and physiological responses have been documented (Buss, Davidson, Kalin, & Goldsmith, 2004; Kagan, 1998). Familial adversity was defined as a function of prenatal and postnatal risk factors previously associated with cortisol reactivity, so as to reflect the cumulative effects of stressful environments in children's lives (Moffitt et al., 2005).

Method

Sample

Participants were families of twins from the *Québec Newborn Twin Study* (QNTS) recruited between April 1995 and December 1998 in the greater Montréal area. A total of 989 families were contacted, of which 672 agreed to participate (68%). Twins were first seen when they were 6 months of age and then prospectively assessed on a variety of child and family characteristics. After informed consent was obtained from the parents, saliva samples were collected at 19 months (Mean 18.85 months, SD = .74) for 466 twins at pre-test, 474 twins at post-test, and 423 children at both times. Interviews regarding environmental variables were conducted with the mother in 99.7% of cases.

Zygoty was determined through the Zygoty Questionnaire for Young Twins when they were 6 and 19 months of age (Goldsmith, 1991), using independent ratings of the twins' physical similarities. DNA-based zygoty was determined for 31.3% of the same sex twin pairs randomly selected, using 8-10 highly polymorphic micro-satellite markers. The two methods yielded a concordance of 93.8% (Forget-Dubois et al., 2003).

The stressful context: exposure to unfamiliar situations

At 19 months of age, each participating twin was successively brought in the laboratory and exposed to two unfamiliar situations known to be moderately stressful at that age (Goldberg et al., 2003; Mullen, Snidman, & Kagan, 1993; van Bakel & Riksen-Walraven, 2004). In the first situation, one twin and the mother were alone in a corner of a room when a woman dressed up as a clown entered the room, went to the opposite corner, and invited the child to approach by offering a set of familiar toys. In the second situation, a noisy, odd-looking, moving toy-robot was placed on a platform in the opposite corner of the room. Each session lasted 280 seconds separated by 6 minutes of mother-child free play. For the first 140 seconds, the mother was asked to remain passive and not to interact with her child, responding only to child-initiated talk with very brief statements (e.g. "It's okay", "It's a clown"). For the last 140 seconds, the mother was allowed to do whatever she felt was needed to help her child be at ease with the stimulus.

Saliva collection

Salivary cortisol sampling is a non invasive and valid way to assess HPA axis activity (Kirschbaum & Hellhammer, 1989; Schwartz, Granger, Susman, Gunnar, & Laird, 1998). All saliva samples took place in the morning between 8h05 and 12h15 during the 19-month lab visit. Mothers were instructed not to give their child anything to eat or drink 20 minutes before each sampling time. Using the Salivette sampling device (Sarstedt, Germany), saliva was collected before and after the unfamiliar situations and stored at -80° Celsius until analysis. The post-test sample was obtained 20 minutes after the end of the procedure to capture the peak cortisol response (Ramsay & Lewis, 2003). All samples were analyzed in a single batch using RadioImmunoAssay (RIA) (Diagnostic Systems Laboratories inc., Texas). The technician was blind as to the zygosity status of the samples. Intra-assay variability was less than 10%.

Assessment of Family Adversity

Family adversity (FA) was assessed to reflect the putative cumulated adverse effects of environmental risk factors on children's adjustment (Evans, 2003). In the present study, a FA index was created by combining information about seven risk factors: maternal smoking during pregnancy, low birth weight, low family income, low maternal education, single parenthood, young motherhood, and maternal hostile/reactive behaviors. Information about these risk factors was collected prospectively when the twins were 6 and 19 months of age, allowing changes in some risk factors (e.g. low family income) to be taken into account. A score of 1 was counted for the presence of each risk factor at each time. The scores were summed to reflect the cumulated impact of these risk factors over time, assuming equal weight for each risk factor. The FA score could thus vary from 0 to 12. A risk factor was scored if the mother smoked cigarettes across all trimesters (24.9% of the families), birth weight was inferior to 2500g (46.5%), family income was below CDN \$20,000 (19.2% and 15.4% at 6 and 19 months, respectively), the mother had not completed high school (19.0% at both 6 and 19 months), the twins were not living with both of their biological parents (5.5% and 11.0% at 6 and 19 months, respectively), the mother was aged less than 20 years old when she gave birth to the twins (3.2%). Finally, a seven-item, 10-point Likert-like (0 = *not at all* to 10 = *exactly*) self-report scale was used at 6 and 19 months to assess the mother's hostile/reactive parenting toward the twins (e.g., "I have shaken my baby when he/she was particularly fussy", "I have lost my temper when he/she was particularly fussy") (Cronbach alpha = .77 and .73 at 6 and 19 months, respectively) (Boivin et al., 2005). The mother's scores for both twins were averaged, and a risk was counted if the maternal hostile/reactive behaviors were above the median.

The resulting family adversity index (FA) was distributed as follow: a FA of (0): 16.6%, (1): 21.7%, (2): 21.9%, (3): 16.4%, (4): 10.0%, (5): 5.1%, (6): 4.5%, (7): 1.4%, (8): 0.8%, (9): 0.5%, (10): 0.8%, (11): 0.3%. The FA was then dichotomized for the genetic modeling: families with a FA score of four and above were considered to have high levels

of FA (23.4%), whereas those who scored below four were considered to have low levels of FA (76.6%).

Statistical Analysis

A reactive cortisol ratio was computed according to the law of initial values (LIV) (Lacey, 1956) that takes into account the dependency of the post-test values on the initial values. According to the LIV, the change score should be adjusted if the correlation between the initial value (t_1) and the change score ($t_2 - t_1$ or Δt) is negative, which was the case ($r(348) = -.74, p = .00$) (Lacey, 1956; Lewis & Ramsay, 1999; Ramsay & Lewis, 2003). A cortisol reactivity ratio was thus computed by dividing Δt by t_1 (Luby et al., 2003). This score was examined for outliers, defined as values $\pm 3SD$ from the mean (Grunau, Weinberg, & Whitfield, 2004; Gunnar, Connors, & Isensee, 1989; Ramsay & Lewis, 2003). Four children (1 MZ and 3 DZ) were excluded from the subsequent analyses. Cortisol reactivity ratios were positively skewed and were normalized using a Log10 transformation prior to statistical analysis (Tabachnick & Fidell, 1996).

Differences in mean cortisol values according to zygosity and gender were investigated through ANOVAs. The association between FA and cortisol reactivity was tested using a two-tailed χ^2 test and multinomial logistic regressions were performed on the discrete patterns of cortisol reactivity. For the latter, children of the second and third quartiles were clustered as the reference category. All statistical tests, except for the genetic modeling, were conducted on a subsample composed of only one twin, selected at random, per family.

Genetic (A), shared environment (C), and unique environment (E) contributions were estimated through structural equation modeling (SEM) of variance and covariance patterns among MZ and DZ pairs, using the MX software package (Neale, Boker, Xie, & Maes, 1999). All twin pairs were concordant for FA. Models allowing parameters to vary according to FA were compared to models constraining parameters to be equal across FA

groups. Best models were selected according to goodness of fit (χ^2) and parsimony indices such as Akaike's Information Criteria (AIC) and the Root Mean Squared Error of Approximation (RMSEA).

Results

Table 1 presents means and standard deviations for pre-test, post-test, and cortisol reactivity ratio for the total sample and as a function of zygosity and sex. The reactivity ratio did not vary according to zygosity, $F(1, 211) = .37, p = .54$, sex, $F(1, 211) = .98, p = .32$, or ethnicity (i.e., Caucasian versus Other; $F(1, 158) = .08, p = .59$). The time of day when saliva was collected was not associated with pre-test or post-test cortisol levels (pre-test: $F(1, 220) = .37, p = .54$; post-test: $F(1, 233) = 1.06, p = .30$). FA status did not differ across zygosity ($\chi^2(2, 211) = 2.45, p = .29$) or sex ($\chi^2(2, 211) = 2.07, p = .15$). Eleven twins were taking steroid medication occasionally. Since they did not differ significantly from the rest of the sample ($t(211) = .36, p = .55$) and excluding them did not affect the results, they were retained in the analyses.

There was no significant cortisol increase overall between the pre-test and the post-test (Mean $\Delta t = -.01$ ug/dl, SD = .35), except for those falling in the 4th quartile of the distribution who showed a significant cortisol increase ($\Delta t = .37$ ug/dl, SD = .26).

Family adversity and patterns of cortisol reactivity

Adverse environments have been associated to both lower and higher cortisol reactivity (Charmandari, Kino, Souvatzoglou, & Chrousos, 2003). We partitioned the sample into quartiles of cortisol reactivity, allowing for different associations to emerge at the lower (1st quartile) or higher (4th quartile) ends of the distribution (Ellis, Essex, & Boyce, 2005; Hart et al., 1995; Kagan et al., 1987). Figure 1 presents the distribution in quartiles of cortisol reactivity for high and low FA ($\chi^2(2, 211) = 9.86, p = .007$).

In the low FA group, 57.8% of twins fell into the middle quartiles, while 21.1% and 21.1% were assigned to the first and fourth quartiles, respectively. In the high FA group, only 34.0% of twins were in the middle quartiles compared to 40.0% in the highest quartile and 26.0%, in the lowest quartile. Using the two middle quartiles as the reference category, multinomial logistic regression analyses revealed that high FA was linked to an increased probability of belonging to the highest quartile (Wald = 9.17, $p = .007$), but not to the lowest quartile of the cortisol reactivity distribution (Wald = 3.10, $p = .07$), although there was a trend for signification.

This pattern of association between cortisol reactivity and FA remained significant when a more restrictive criteria was used (i.e., 5 risk factors or more) ($\chi^2(2, 211) = 11.01, p = .004$), but not when a more liberal criteria was employed (i.e., 3 risk factors or more), ($\chi^2(2, 211) = 3.97, p = .14$).

MZ-DZ intraclass correlations

Only complete pairs were retained for the genetic analyses, leaving a sample of 170 pairs: 64 MZ pairs, 31 male pairs and 33 female pairs, and 106 DZ pairs, 35 male pairs, 30 female pairs, and 41 different-sex pairs. Twins who were excluded did not differ from those selected in cortisol reactivity [$F(1,211) = .15, p = .70$], although they tended to experience higher FA [$\chi^2(4, N = 221) = 3.67, p = .06$].

Figure 2 shows the MZ and DZ intraclass correlations (ICC) for cortisol reactivity for the total sample and according to FA. For the total sample, the ICCs were moderate to low and the MZ-DZ discrepancy was small, suggesting low heritability and little shared environment contributions overall. However, a differentiated pattern of MZ and DZ ICC emerged according to FA. For the low FA group, the MZ-DZ difference in correlation suggested a moderate genetic contribution, whereas for the high FA group, both ICCs were large and of similar magnitude, suggesting a substantial shared environment, but no genetic contributions (scatter plots of these MZ-DZ correlations, as well as those describing the

association between pretest and post-test cortisol are available upon request). The MZ-DZ ICCs were also examined for the pre-test cortisol values, but did not support any of the putative models: Low FA: MZ: ICC = .18; DZ = -.11; High FA; MZ: ICC = .19; DZ = .36.

Genetic and environmental contributions to cortisol reactivity

Model-fitting results for cortisol reactivity are presented in Table 2. We first examined models assuming the invariance of parameters across the FA groups (i.e., constraining the parameters to be equal across FA groups: Equal models or EQ). Models nested within the full ACE-EQ model were fitted through the elimination of parameters. Subtracting A deteriorated the fit (model 2: $\Delta\chi^2 = 4.11, p = .04$), whereas removing C did not (model 3: $\Delta\chi^2 = .00, p = 1.0$). Removing A from model 3 resulted in a worse fit ($\Delta\chi^2 = 21.84, p = .0001$), indicating that A was essential to the fit. Consequently, the AE model was more parsimonious than the general ACE-EQ model, as confirmed by the AIC criteria. However, the RMSEA value indicated a weak fit to the data (Neale et al., 1999).

We then tested models allowing the estimates in the low (LFA) and high FA groups (HFA) to differ (Non-equal models or NEQ). Again, nested models were fitted through the successive elimination of parameters from the full ACE-NEQ model (model 5). Eliminating C for LFA (model 6) or A for HFA (model 7) did not deteriorate the fit ($\Delta\chi^2 = .00, p = 1.0$ and $\Delta\chi^2 = .22, p = .64$, respectively), indicating that they were not useful. However, eliminating A for LFA (model 8) or C for HFA (model 9) weakened the fit ($\Delta\chi^2 = 8.65, p = .003$ and $\Delta\chi^2 = 15.49, p = .0001$, respectively). Consequently, the model 7 (AE-CE) was considered the best model among the NEQ models.

In summary, models 3 and 7 were retained according to their goodness of fit (χ^2). Because they were not nested, these models could not be compared directly using the χ^2 . However, based on the AIC and RMSEA values, model 7 clearly offered the best balance between explanatory power and parsimony (AIC = -10.392 and RMSEA = .025), and was thus retained. Specifically, under low FA, cortisol reactivity was mainly accounted for by

genetic ($A = .40$) and unique environmental ($E = .60$) factors, whereas, under high FA, both shared ($C = .55$) and unique ($E = .45$) environmental factors contributed to cortisol reactivity. This pattern did not vary as a function of gender (not shown).

Comment

The goal of this study was to examine the genetic and environmental contributions to cortisol reactivity in a population-based sample of 19 month-old twins, and to determine whether these contributions varied according to family adversity (FA). FA was associated with higher cortisol reactivity to stress. More importantly, FA moderated the genetic and environmental contributions to cortisol reactivity. Under low FA settings, a condition typical of most families, both genetic and unique environmental factors accounted for individual differences in cortisol reactivity, with genes explaining the similarity observed among twin pairs. In contrast, under high FA, both shared and unique environmental factors, but not genetic factors, accounted for the variance. In the latter case, environments shared by twins of the same family explained their similarity in cortisol reactivity.

These findings are important on many accounts. First, the findings underscore the importance of FA for the expression of cortisol reactivity early in life. Previous singleton studies had reported an association between disturbed patterns of cortisol reactivity and a variety of adverse environments, such as parental coercive behaviors and neglect, and poverty (Bugental et al., 2003; Gunnar, Brodersen, Nachmias, Buss, & Rigatuso, 1996). However, these studies overlooked the possible gene-environment interplay in those associations.

Second, the results reveal for the first time in humans differential patterns of genetic and environmental contributions to cortisol reactivity as a function of early adverse environmental conditions. These distinct patterns are consistent with the idea that, under adverse conditions, environment factors may have a programming developmental effect on the HPA axis that supersedes genetic factors. Stressors provoking prolonged activation of

the HPA axis early in development have been posited to inhibit ongoing neurogenesis, intensify neuronal death, and modify the localization, sensitivity, and expression of glucocorticoid receptors (Kaufman et al., 2000). These changes could lead to long-term alterations in HPA axis reactivity over and above genetic contributions (De Kloet et al., 1998; Repetti, Taylor, & Seeman, 2002). Recent animal studies have provided evidence that corticosterone reactivity in rodent offspring is mediated by maternal care, not by inherited genes (Francis et al., 1999; Meaney, 2001). This environmental contribution has been shown to operate through an epigenetic programming effect (e.g. DNA methylation) of early maternal care on the offspring's GR gene promoter expression in the hippocampus (Weaver et al., 2004). Whether high FA could operate through similar epigenetic mechanisms is still an open question (Gunnar & Quevedo, 2007). High FA settings could also influence cortisol reactivity through its impact on immature cortico-limbic structures and pathways (Gunnar & Vazquez, 2006). Clearly, the mechanisms underlying possible early FA effects on stress reactivity among primates should be investigated further.

Third and more generally, the pattern of findings of the present study is consistent with the Average Expectable Environment view of development (Scarr, 1992, 1993). According to this view, environments within the normal range are required for species-normal development, but are of little value for understanding individual differences within that range. Rather, individual variations among children reared in those environments develop from genetic variation and individually experienced (i.e., unique) environments, which was the case for most of our sample according to the criteria we used. The "average expectable environment" notion does not define the threshold of risk above which normal development may be jeopardized (Baumrind, 1993). However, it is noteworthy that the range of environments covered in this sample was sufficient to reveal a different role of G and E along the continuum of FA. Similar findings suggesting low heritability of traits in presence of social disadvantage have been reported in association with IQ (Turkheimer, Haley, Waldron, D'Onofrio, & Gottesman, 2003) and physical health (Johnson & Krueger, 2005).

Fourth, on a more practical level, the finding of a differing heritability of cortisol reactivity as a function of FA has implications for association studies aimed at identifying quantitative trait loci. The search for genetic variants underlying complex phenotypes, such as the HPA axis reactivity, has revealed mixed results and lack of replication (Rosmond et al., 2000; Wust et al., 2004). The present study suggests that early FA may confound the association between specified polymorphisms and cortisol reactivity: some polymorphisms may be relevant to cortisol reactivity for persons exposed to low FA in their childhood (Lakatos et al., 2003), and not be otherwise informative for their counterparts confronted to more adverse circumstances.

Fifth, given the predictive association between cortisol reactivity and a variety of stress-related disorders (e.g. depression, anxiety, PTSD) (Pollak, 2005), the present findings may also have implications for clinical research and practice. First, they point to the relevance of planning, implementing, and assessing early preventive interventions aimed at reducing early cortisol reactivity through their mitigation of multiple FA factors in families most at risk. Second, they suggest that these early preventive intervention should start during pregnancy, at a time when some of the risk factors may already operate. Third, they signal that children from families at high environmental risk, who are more likely to show high cortisol reactivity, may also benefit most of interventions aimed at reducing the environmental risks. Fourth, they suggest that intervention models should be based on aetiological models of stress that take into account gene and environment interplay. However, because the mechanisms underlying possible early FA effects on stress reactivity are not yet well documented, they should be investigated further to establish aetiological pathways more precisely and guide preventive interventions. Early preventive trials may genuinely contribute to this endeavour by experimentally testing specific hypothesis regarding putative aetiological factors and mechanisms.

Limitations of the study

There were at least five features of the study that may have constrained the findings. First, the cortisol reactivity index was based on single pre-test and post-test saliva samples. In most infants, cortisol response peaks 20 minutes after stress induction, but there is marked individual variability around that point (Ramsay & Lewis, 2003). Multiple post-stress samples may have yielded more reliable assessments of cortisol reactivity and stronger estimates of both genetic and shared-environment contributions.

Second, for ethical reasons, a rather mild, yet developmentally relevant, stressful situation was used (Buss et al., 2004), resulting in an absence of increase in cortisol overall. This lack of increase is consistent with previous studies using similar procedures with this age group (Gunnar, Larson, Hertsgaard, Harris, & Brodersen, 1992; Hertsgaard, Gunnar, Erickson, & Nachmias, 1995). Unfamiliar situations do not consistently produce significant increases in cortisol for all children (Gunnar & Quevedo, 2007), but rather delineate individual differences in cortisol response to mild stressors (Garcia Coll, Kagan, & Reznick, 1984; Goldberg et al., 2003; Parritz, 1996; van Bakel & Riksen-Walraven, 2004). As suggested by the large variability in the reactivity index, the unfamiliar situations were stressful for some, but not for others. Many factors may have accounted for this general lack of increase in cortisol, including an already high level of cortisol at pre-test due to the laboratory context, the counter effect of the circadian downward trend of circulating cortisol in the morning, and the calming presence of the mother throughout the stress paradigm (Gunnar, Brodersen, Krueger, & Rigatuso, 1996; Gunnar & Quevedo, 2007).

Third, the present investigation of a population-based sample implied that extreme levels of family adversity were rare. Whether the findings generalize to the far end of the spectrum of FA is open to question. The fact that significant results were revealed despite this reduced variability in FA suggests they are fairly robust across a considerable range of experience.

Fourth, maternal hostile/reactive behaviors relied on self-report and may have been influenced by social desirability despite the use of contextualized items (i.e., the child's difficult behaviors) (Boivin et al., 2005; Morsbach & Prinz, 2006). Finally, because FA was conceptualized as a family-level variable, it was not possible to clearly establish whether it was genuinely environmental or genetically mediated. Future studies should investigate further the nature of this gene-environment interplay by examining environmental features that are proximal to the child while showing sufficient within-family variation (Rutter et al., 2006).

Conclusion

The present study was the first to reveal distinct patterns of genetic and environmental contributions to early cortisol reactivity according to FA; early in life, genes may partly account for cortisol reactivity under low adversity, and adverse environments may have a programming developmental effect on cortisol reactivity. Clearly, these conditional contributions of adversity and genetic factors need to be replicated in larger samples and further explored with respect to their timing and duration. It will also be important to determine whether they are germane to other aspects of emotion regulation. The mechanisms underlying this putative programming developmental effect of early environment should also be documented in order to understand the early plasticity of stress-related brain structures, how they relate to later vulnerabilities and to resilience to stress and stress-related diseases, with the goal of proposing valid avenues to preventive intervention.

Acknowledgments

We are grateful to the parents and twins of the participating families. We thank Jocelyn Malo for coordinating the data collection, and Hélène Paradis, Bei Feng, Bernadette Simoneau, and Jacqueline Langlois for their assistance in data management and preparation.

References

- Ashman, S. B., Dawson, G., Panagiotides, H., Yamada, E., & Wilkinson, C. W. (2002). Stress hormone levels of children of depressed mothers. *Development and Psychopathology, 14*(2), 333-349.
- Baumrind, D. (1993). The average expectable environment is not good enough: a response to Scarr. *Child Development, 64*(5), 1299-1317.
- Boivin, M., Perusse, D., Dionne, G., Saysset, V., Zoccolillo, M., Tarabulsky, G. M., et al. (2005). The genetic-environmental etiology of parents' perceptions and self-assessed behaviours toward their 5-month-old infants in a large twin and singleton sample. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, 46*(6), 612-630.
- Bugental, D. B., Martorell, G. A., & Barraza, V. (2003). The hormonal costs of subtle forms of infant maltreatment. *Hormones and Behavior, 43*(1), 237-244.
- Buss, K. A., Davidson, R. J., Kalin, N. H., & Goldsmith, H. H. (2004). Context-specific freezing and associated physiological reactivity as a dysregulated fear response. *Developmental Psychology, 40*(4), 583-594.
- Buss, K. A., Schumacher, J. R., Dolski, I., Kalin, N. H., Goldsmith, H. H., & Davidson, R. J. (2003). Right frontal brain activity, cortisol, and withdrawal behavior in 6-month-old infants. *Behavioral Neuroscience, 117*(1), 11-20.
- Carrion, V. G., Weems, C. F., Ray, R. D., Glaser, B., Hessel, D., & Reiss, A. L. (2002). Diurnal salivary cortisol in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry, 51*(7), 575-582.
- Casey, B. J. (2003). Brain, plasticity, learning, and developmental disabilities. *Mental Health Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews, 9*, 133-134.
- Caspi, A., McClay, J., Moffitt, T. E., Mill, J., Martin, J., Craig, I. W., et al. (2002). Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science, 297*(5582), 851-844.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H., et al. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science, 301*(5631), 386-389.

- Charmandari, E., Kino, T., Souvatzoglou, E., & Chrousos, G. P. (2003). Pediatric stress: Hormonal mediators and human development. *Hormone Research, 59*(4), 161 - 179.
- Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2001). Diverse patterns of neuroendocrine activity in maltreated children. *Development and Psychopathology, 13*(3), 677-693.
- De Kloet, E. R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M. S., & Joels, M. (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews, 19*(3), 269-301.
- DeRijk, R. H., Schaaf, M., & de Kloet, E. R. (2002). Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 81*(2), 103-122.
- Dionne, G., Dale, P. S., Boivin, M., & Plomin, R. (2003). Genetic evidence for bidirectional effects of early lexical and grammatical development. *Child Development, 74*(2), 394-412.
- Ellis, B. J., Essex, M. J., & Boyce, T. W. (2005). Biological sensitivity to context: II. Empirical explorations of an evolutionary-developmental theory. *Development and Psychopathology, 17*, 303-328.
- Evans, G. W. (2003). A multimethodological analysis of cumulative risk and allostatic load among rural children. *Developmental Psychology, 39*(5), 924 - 933.
- Evans, G. W., & English, K. (2002). The environment of poverty: multiple stressor exposure, psychophysiological stress, and socioemotional adjustment. *Child Development, 73*(4), 1238-1248.
- Flinn, M. V., & England, B. G. (1997). Social economics of childhood glucocorticoid stress response and health. *American Journal of Physical Anthropology, 102*(1), 33-53.
- Forget-Dubois, N., Perusse, D., Turecki, G., Girard, A., Billette, J. M., Rouleau, G., et al. (2003). Diagnosing zygoty in infant twins: physical similarity, genotyping, and chorionicity. *Twin Research, 6*(6), 479-485.

- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, 286(5442), 1155-1158.
- Garcia Coll, C., Kagan, J., & Reznick, J. S. (1984). Behavioral inhibition in young children. *Child Development*, 55, 1005-1019.
- Glaser, D. (2000). Child abuse and neglect and the brain--a review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 41(1), 97-116.
- Goldberg, S., Levitan, R., Leung, E., Masellis, M., Basile, V. S., Nemeroff, C. B., et al. (2003). Cortisol concentrations in 12- to 18-month-old infants: stability over time, location, and stressor. *Biological Psychiatry*, 54(7), 719-726.
- Goldsmith, H. H. (1991). A zygosity questionnaire for young twins: a research note. *Behavior Genetics*, 21(3), 257-269.
- Granger, D. A., Weisz, J. R., & Kauneckis, D. (1994). Neuroendocrine reactivity, internalizing behavior problems, and control-related cognitions in clinic-referred children and adolescents. *Journal of Abnormal Psychology*, 103(2), 267-276.
- Grunau, R. E., Weinberg, J., & Whitfield, M. F. (2004). Neonatal procedural pain and preterm infant cortisol response to novelty at 8 months. *Pediatrics*, 114(1), e77-84.
- Gunnar, M., & Quevedo, K. (2007). The neurobiology of stress and development. *Annual Review of Psychology*, 58, 145-173.
- Gunnar, M., & Vazquez, D. M. (2006). Stress neurobiology and developmental psychopathology. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology* (Vol. 2, pp. 533-577). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Gunnar, M. R., Brodersen, L., Krueger, K., & Rigatuso, J. (1996). Dampening of adrenocortical responses during infancy: normative changes and individual differences. *Child Development*, 67(3), 877-889.
- Gunnar, M. R., Brodersen, L., Nachmias, M., Buss, K., & Rigatuso, J. (1996). Stress reactivity and attachment security. *Developmental Psychobiology*, 29(3), 191-204.

- Gunnar, M. R., Connors, J., & Isensee, J. (1989). Lack of stability in neonatal adrenocortical reactivity because of rapid habituation of the adrenocortical response. *Developmental Psychobiology*, 22(3), 221-233.
- Gunnar, M. R., & Donzella, B. (2002). Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendocrinology*, 27(1-12), 199-220.
- Gunnar, M. R., Larson, M. C., Hertzgaard, L., Harris, M. L., & Brodersen, L. (1992). The stressfulness of separation among nine-month-old infants: effects of social context variables and infant temperament. *Child Development*, 63(2), 290-303.
- Gunnar, M. R., Morison, S. J., Chisholm, K., & Schuder, M. (2001). Salivary cortisol levels in children adopted from romanian orphanages. *Development and Psychopathology*, 13(3), 611-628.
- Hardie, T. L., Moss, H. B., Vanyukov, M. M., Yao, J. K., & Kirillovac, G. P. (2002). Does adverse family environment or sex matter in the salivary cortisol responses to anticipatory stress? *Psychiatry Research*, 112(2), 121-131.
- Hart, J., Gunnar, M., & Cicchetti, D. (1995). Salivary cortisol in maltreated children: Evidence of relations between neuroendocrine activity and social competence. *Development and Psychopathology*, 7(1), 11-26.
- Heim, C., Ehlert, U., & Hellhammer, D. H. (2000). The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology*, 25(1), 1-35.
- Heim, C., Newport, D. J., Heit, S., Graham, Y. P., Wilcox, M., Bonsall, R., et al. (2000). Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. *Journal of the American Medical Association*, 284(5), 592-597.
- Hertzgaard, L., Gunnar, M., Erickson, M. F., & Nachmias, M. (1995). Adrenocortical responses to the strange situation in infants with disorganized/disoriented attachment relationships. *Child Development*, 66(4), 1100-1106.
- Johnson, W., & Krueger, R. F. (2005). Genetic effects on physical health: lower at higher income levels. *Behavior Genetics*, 35(5), 579-590.

- Kagan, J. (1998). Biology and the child. In N. Eisenberg (Ed.), *Socialemotional and personality development* (5th ed., Vol. 3, pp. 177-235). New York, NY: Wiley.
- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1987). The physiology and psychology of behavioral inhibition in children. *Child Development*, 58(6), 1459-1473.
- Kaufman, J., Plotsky, P. M., Nemeroff, C. B., & Charney, D. S. (2000). Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biological Psychiatry*, 48(8), 778-790.
- Kirschbaum, C., & Hellhammer, D. H. (1989). Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology*, 22(3), 150-169.
- Kirschbaum, C., & Hellhammer, D. H. (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19(4), 313-333.
- Kirschbaum, C., Wüst, S., Faig, H.-G., & Hellhammer, D. H. (1992). Heritability of cortisol responses to human corticotropin-releasing hormone, ergometry, and psychological stress in human. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 75(6), 1526-1530.
- Klaassen, T., Riedel, W. J., van Praag, H. M., Menheere, P. P., & Griez, E. (2002). Neuroendocrine response to meta-chlorophenylpiperazine and ipsapirone in relation to anxiety and aggression. *Psychiatry Research*, 113(1-2), 29-40.
- Lacey, J. I. (1956). The evaluation of autonomic responses: Toward a general solution. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 67, 123-163.
- Lakatos, K., Nemoda, Z., Birkas, E., Ronai, Z., Kovacs, E., Ney, K., et al. (2003). Association of D4 dopamine receptor gene and serotonin transporter promoter polymorphisms with infants' response to novelty. *Molecular Psychiatry*, 8(1), 90-97.
- Lewis, M., & Ramsay, D. S. (1999). Effect of maternal soothing on infant stress response. *Child Development*, 70, 11-20.

- Liu, D., Caldji, C., Sharma, S., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (2000). The effects of early life events on in vivo release of norepinephrine in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and hypothalamic-pituitary-adrenal responses during stress. *Journal of Neuroendocrinology*, *12*, 5-12.
- Luby, J. L., Heffelfinger, A., Mrakotsky, C., Brown, K., Hessler, M., & Spitznagel, E. (2003). Alterations in stress cortisol reactivity in depressed preschoolers relative to psychiatric and no-disorder comparison groups. *Archives of General Psychiatry*, *60*(12), 1248-1255.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2000). Child's stress hormone levels correlate with mother's socioeconomic status and depressive state. *Biological Psychiatry*, *48*(10), 976-980.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2001). Can poverty get under your skin? basal cortisol levels and cognitive function in children from low and high socioeconomic status. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 653-676.
- Lupien, S. J., Ouellet-Morin, I., Hupbach, A., Tu, M. T., Buss, C., Walker, D., et al. (2006). Beyond the stress concept: Allostatic load - A developmental biological and cognitive perspective. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology, second edition* (Vol. 2, pp. 578-628). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- McBurnett, K., Lahey, B. B., Rathouz, P. J., & Loeber, R. (2000). Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Archives of General Psychiatry*, *57*(1), 38-43.
- McEwen, B. S. (2000). Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Feb; Vol 22(2): 108-124.
- McEwen, B. S. (2002). Protective and damaging effects of stress mediators: the good and bad sides of the response to stress. *Metabolism*, *51*(6 Suppl 1), 2-4.
- McEwen, B. S., & Lasley, E. N. (2002). *The end of stress as we know it*. Washington, D.C.: John Henry Press.

- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review Neurosciences*, 24, 1161-1192.
- Moffitt, T. E., Caspi, A., & Rutter, M. (2005). Strategy for investigating interactions between measured genes and measured environments. *Archives of General Psychiatry*, 62(5), 473-481.
- Morsbach, S. K., & Prinz, R. J. (2006). Understanding and improving the validity of self-report of parenting. *Clinical Child and Family Psychology Review*, 9(1), 1-21.
- Mullen, M., Snidman, N., & Kagan, J. (1993). Free-play behavior in inhibited and uninhibited children. *Infant Behavior and Development*, 16, 383-389.
- Neale, M. C., Boker, S. M., Xie, G., & Maes, H. H. (1999). *MX: Statistical Modeling*, 5th ed. Richmond: Medical College of Virginia Commonwealth University, Department of Psychiatry.
- Parritz, R. H. (1996). A descriptive analysis of toddler coping in challenging circumstances. *Infant Behavior and Development*, 19, 171-180.
- Plomin, R., DeFries, J. C., McClearn, G. E., & Rutter, M. (2001). *Behavioral Genetics*. Behavioral Genetics: Worth Publishers.
- Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research*, 18, 195-200.
- Pollak, S. D. (2005). Early adversity and mechanisms of plasticity: integrating affective neuroscience with developmental approaches to psychopathology. *Development and Psychopathology*, 17(3), 735-752.
- Pritchard, J., Després, J.-P., Gagnon, J., Tchernof, A., Nadeau, A., Tremblay, A., et al. (1998). Plasma adrenal, gonadal, and conjugated steroids before and after long term overfeeding in identical twins. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(9), 3277-3284.

- Ramsay, D., & Lewis, M. (2003). Reactivity and regulation in cortisol and behavioral responses to stress. *Child Development, 74*(2), 456-464.
- Repetti, R. L., Taylor, S. E., & Seeman, T. E. (2002). Risky families: family social environments and the mental and physical health of offspring. *Psychological Bulletin, 128*(2), 330-366.
- Rosmond, R., Chagnon, Y. C., Chagnon, M., Perusse, L., Bouchard, C., & Bjorntorp, P. (2000). A polymorphism of the 5'-flanking region of the glucocorticoid receptor gene locus is associated with basal cortisol secretion in men. *Metabolism, 49*(9), 1197-1199.
- Rutter, M., Moffitt, T. E., & Caspi, A. (2006). Gene-environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, 47*(3-4), 226-261.
- Sapolsky, R. M. (2004). Is impaired neurogenesis relevant to the affective symptoms of depression? *Biological Psychiatry, 56*(3), 137-139.
- Scarpa, A., & Ollendick, T. H. (2003). Community violence exposure in a young adult sample: III. Psychophysiology and victimization interact to affect risk for aggression. *Journal of Community Psychology, 31*(4), 321 - 338.
- Scarr, S. (1992). Developmental theories for the 1990s: development and individual differences. *Child Development, 63*(1), 1-19.
- Scarr, S. (1993). Biological and cultural diversity: the legacy of Darwin for development. *Child Development, 64*(5), 1333-1353.
- Schulkin, J. (2003). Allostasis: a neural behavioral perspective. *Hormones and Behavior, 43*(1), 21 - 27.
- Schwartz, E. B., Granger, D. A., Susman, E. J., Gunnar, M. R., & Laird, B. (1998). Assessing salivary cortisol in studies of child development. *Child Development, 69*(6), 1503-1513.

- Smider, N. A., Essex, M. J., Kalin, N. H., Buss, K. A., Klein, M. H., Davidson, R. J., et al. (2002). Salivary cortisol as a predictor of socioemotional adjustment during kindergarten: a prospective study. *Child Development, 73*(1), 75-92.
- Snoek, H., Van Goozen, S. H., Matthys, W., Buitelaar, J. K., & van Engeland, H. (2004). Stress responsivity in children with externalizing behavior disorders. *Development and Psychopathology, 16*(2), 389-406.
- Tabachnick, B. G., & Fidell, L. S. (1996). *Using Multivariate Statistics, 3rd edition*. New York: HarperCollins College Publishers.
- Teicher, M. H., Andersen, S. L., Polcari, A., Anderson, C. M., Navalta, C. P., & Kim, D. M. (2003). The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neuroscience Biobehavioral Reviews, 27*(1-2), 33-44.
- Turkheimer, E., Haley, A., Waldron, M., D'Onofrio, B., & Gottesman, II. (2003). Socioeconomic status modifies heritability of IQ in young children. *Psychological Science, 14*(6), 623-628.
- Vallee, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., & Maccari, S. (1997). Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: Correlation with stress-induced corticosterone secretion. *Journal of Neuroscience, 17*(7), 2626-2636.
- van Bakel, H. J., & Riksen-Walraven, J. M. (2004). Stress reactivity in 15-month-old infants: links with infant temperament, cognitive competence, and attachment security. *Developmental Psychobiology, 44*(3), 157-167.
- Vazquez, D. M. (1998). Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology, 23*(7), 663-700.
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., et al. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience, 7*(8), 847-854.
- Wust, S., Van Rossum, E. F., Federenko, I. S., Koper, J. W., Kumsta, R., & Hellhammer, D. H. (2004). Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 89*(2), 565-573.

Yehuda, R., Hallig, S. L., & Grossman, R. (2001). Childhood trauma and risk for PTSD: relationship to intergenerational effects of trauma, parental PTSD, and cortisol excretion. *Development and Psychopathology*, 13(3), 733-753.

Zubin, J., & Spring, B. (1977). Vulnerability: A new view of schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*, 86, 103-126.

Table 1

Means and standard deviations of raw cortisol values and the ratio of change for the total sample and according to zygosity and sex*

Variables	Baseline			Post-test			Ratio of Change		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N
Total sample	.39	.30	466	.37	.25	474	.29	1.07	418
MZ	.36	.26	182	.35	.22	197	.33	1.08	163
DZ	.41	.33	284	.38	.27	277	.26	.97	255
Males	.40	.31	234	.37	.26	234	.25	.96	212
Females	.39	.30	232	.37	.24	240	.33	1.08	206

Note. * ug/dl. MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins.

Figure 1

Repartition of the twins in the lowest, middle, and highest quartiles of cortisol reactivity according to familial adversity (n =418)

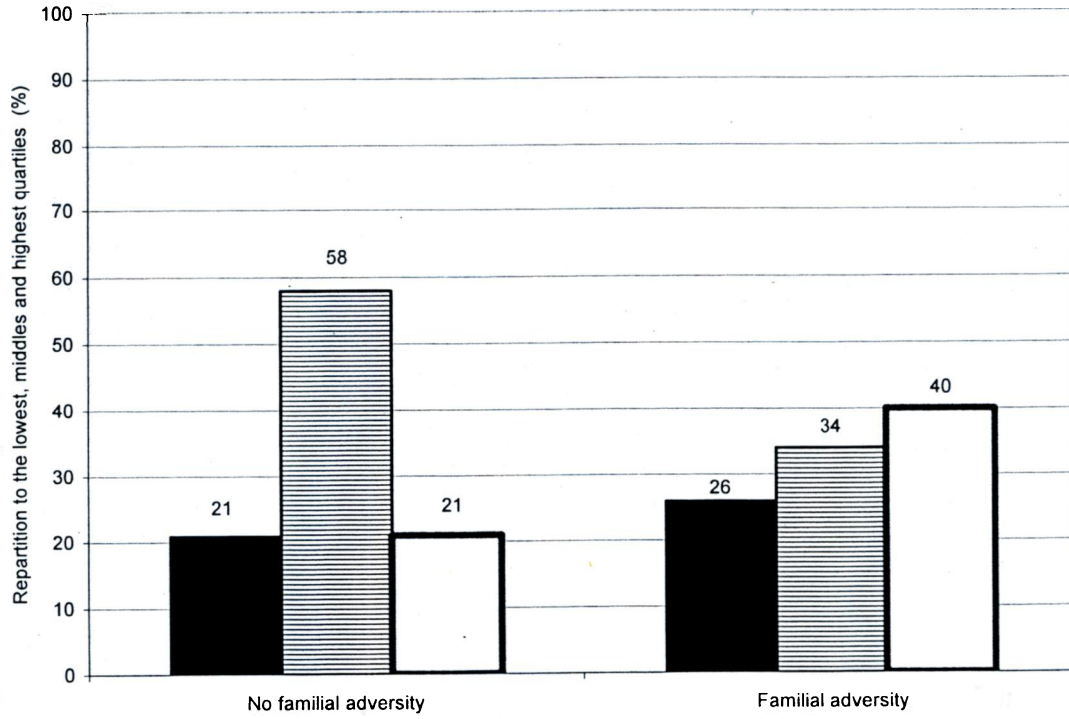
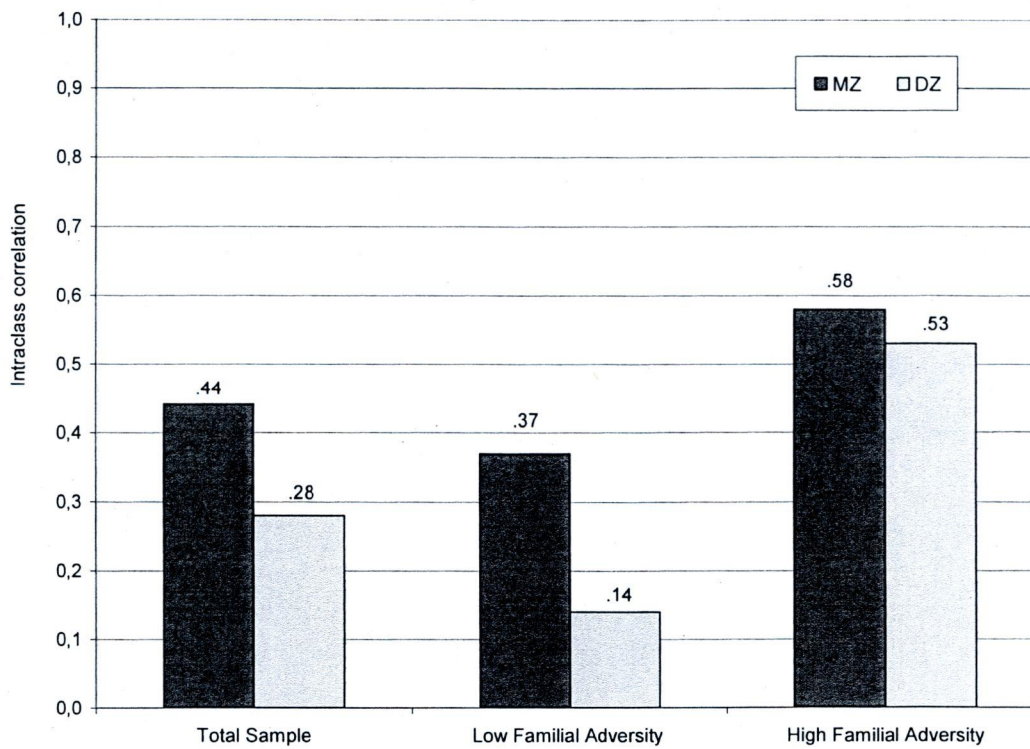


Figure 2

Intraclass MZ and DZ correlations for cortisol reactivity according to familial adversity



Note. Total: MZ (64 pairs), DZ (106 pairs); Low Familial Adversity: MZ (48 pairs), DZ (81 pairs); High Familial Adversity: MZ (16 pairs), DZ (25 pairs). MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins.

Table 2

ACE model-fitting results of reactive cortisol level according to familial adversity

Model	Fit Statistics					Estimated Components (95% conf. intervals)		
	χ^2	df	p	AIC	RMSEA	A	C	E
Equal FA Models								
1. ACE	12.38	9	.19	-5.623	0.105	LFA .51 (.02-.74)	.00 (0-.34)	.48 (.35-.68)
2. CE	16.49	10	.09	-3.509	0.115	HFA .51 (.02-.74)	.00 (0-.34)	.48 (.35-.68)
						LFA _____	.32 (.17 -.50)	.68 (.55-.85)
3. AE	12.38	10	.26	-7.623	0.096	HFA _____	.32 (.17 -.50)	.68 (.55-.85)
						LFA .51 (.30-.74)	_____	.48 (.35-.68)
4. E	34.22	11	.00	12.216	0.241	HFA _____	_____	1.00 (.86-1.0)
						LFA .51 (.30-.74)	_____	1.00 (.86-1.0)
Non-Equal FA Models								
5. A ₁ C ₁ E ₁ A ₂ C ₂ E ₂	5.39	6	.50	-6.612	0.044	LFA .40 (0-.69)	.00 (0-.0)	.60 (.41-.88)
						HFA .19 (0-.82)	.42 (0-.82)	.39 (.20-.72)
6. A ₁ E ₁ A ₂ C ₂ E ₂	5.39	7	.61	-8.612	0.030	LFA .40 (.14-.69)	_____	.60 (.41-.88)
						HFA .19 (0-.82)	.42 (0-.82)	.39 (.20-.72)
7. A ₁ E ₁ C ₂ E ₂	5.61	8	.69	-10.392	0.025	LFA .40 (.14-.69)	_____	.60 (.41-.88)
						HFA _____	.55 (.25-.82)	.45 (.30-.73)
8. E ₁ C ₂ E ₂	14.26	9	.11	-3.734	0.083	LFA _____	_____	1.00 (.84-1.0)
						HFA _____	.55 (.25-.82)	.45 (.30-.73)
9. A ₁ E ₁ E ₂	21.10	9	.01	3.104	0.199	LFA .40 (.14-.69)	_____	.60 (.41-.88)
						HFA _____	_____	1.00 (.86-1.0)

Note. Lg10 transformation. MZNA ($n = 48$ pairs); DZNA ($n = 81$ pairs); MZA ($n = 16$ pairs); DZA ($n = 25$ pairs). NR = Non-risk, R = Risk, MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins. FA = Familial Adversity, LFA = Low Familial Adversity group, HFA = High Familial Adversity group. For the Non-Equal FA Models, the parameters of the LFA are indicated as 1 whereas 2 refers to HFA parameters.

Title of the article: Daytime Cortisol Secretion in 6 month-old twins: Genetic and Environmental contributions as a function of Early Familial Adversity

Isabelle Ouellet-Morin, Ph.D.(c)^a Ginette Dionne, Ph.D.^a, Daniel Pérusse, Ph.D.^b, Sonia J. Lupien, Ph.D.^c, Louise Arseneault, Ph.D.^d, Ronald G. Barr, MDCM, FRCPC^e, Richard E. Tremblay, Ph.D.^f, and Michel Boivin, Ph.D.^a

^a School of Psychology, Université Laval, Québec city, CANADA

^b Department of Anthropology, Université de Montréal, Montréal, CANADA

^c Center for Human Stress Research, Douglas Hospital Research Center, McGill University, Montréal, CANADA

^d Institute of Psychiatry, King's College, London, UK

^e Child and Family Research Institute, University of British Columbia, Vancouver, CANADA

^f Department of Psychology, Université de Montréal, Montréal, CANADA, and International Laboratory for Child and Adolescent Mental Health Development, INSERM U669, Paris, FRANCE

Correspondance to: Michel Boivin, Ph.D.
École de Psychologie
2325 rue des Bibliothèques
Pavillon Félix-Antoine-Savard
Université Laval
Québec (Québec)
CANADA, G1V 0A6
tel: (418) 656-2131 ext. 2825
fax: (418) 656-5236
e-mail: michel.boivin@psy.ulaval.ca

Key Words: HPA-axis; Cortisol; Early adversity; Stress; Genetic-Environment Interaction (GxE); Twin study.

Abstract word counts: 249

Text word counts: 4728

The manuscript contains 3 tables, 2 figures, and 1 supplementary material.

Abstract

Background: Disrupted cortisol secretion has been associated with a variety of adverse life conditions during childhood. While cortisol secretion is proposed to be a marker of vulnerability for stress-related diseases, little is known about its genetic and environmental aetiology, and whether these factors interact early in life. This study aimed to investigate the genetic and environmental contributions of cortisol secretion in a population-based sample of 6 months-old twins, and to determine whether these contributions vary as a function of familial adversity (FA).

Methods: Genetic and environment contributions to cortisol activity were estimated according to FA, an index reflecting the presence of 7 perinatal and postnatal risk factors: maternal smoking during pregnancy, low birth weight, low family income, low maternal education, single parenthood, young motherhood, and maternal hostile/reactive behaviors. Twins exposed to 3 or more risk factors were considered as having been exposed to high (versus low) FA (21.3%). Salivary cortisol samples were collected when the child woke up at home and during the morning, upon arrival at the laboratory ($n = 517$).

Results: A moderate 'main' genetic contribution was evidenced for cortisol secretion at awakening. In contrast, morning cortisol was accounted for by unique environmental factors in low FA, while genetic factors explained the similarity within twin pairs in high FA.

Conclusion: The present findings indicate that FA modulates the heritability of cortisol secretion depending on time and context, suggesting for the first time in humans a genetic and environmental interaction in cortisol secretion at such an early age.

Introduction

The Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis activity underlies the organism's response to adverse stressful conditions and its liability to stress-related diseases (McEwen, 2000a). Cortisol, the end-product of the HPA axis, typically peaks shortly after awakening and progressively decreases throughout the day. This circadian cycle is usually established within the first months of life (Antonini, Jorge, & Moreira, 2000; Custodio et al., 2007; Price, Close, & Fielding, 1983). While cortisol generally helps the organism face daily life obligations, disturbed patterns of cortisol secretion are potentially detrimental in the long run (McEwen, 2000a). Dysregulation of daytime cortisol activity has indeed been associated with a variety of stress-related pathologies, including depression (Luby et al., 2003; Pruessner, Hellhammer, Pruessner, & Lupien, 2003), post-traumatic stress disorder (Carrion et al., 2002; Vanitallie, 2002), anxiety (Feder et al., 2004), externalizing behaviors (McBurnett, Lahey, Rathouz, & Loeber, 2000), obesity (Rosmond, Dallman, & Bjorntorp, 1998), and cognitive deficits (Lupien et al., 1994; McEwen, 2000b). Describing the causes of early differences in cortisol secretion is thus an important first step in understanding the vulnerability to stress-related diseases later in life.

Research has documented an association between disrupted patterns of daytime cortisol and markers of adversity, such as low familial socio-economic status (Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2001), economic poverty (Evans & English, 2002), single motherhood (Flinn & England, 1997), maternal depression (Ashman, Dawson, Panagiotides, Yamada, & Wilkinson, 2002; Lupien, King, Meaney, & McEwen, 2000), low birth weight (Phillips et al., 2000), prenatal alcohol and cigarette exposure (Ramsay, Bendersky, & Lewis, 1996), neglect (Dozier et al., 2006; Gunnar, 2000), and sexual or physical abuse (Bugental, Martorell, & Barraza, 2003; Cicchetti & Rogosch, 2001a, 2001b; Rinne et al., 2002). These findings suggest that early adverse experiences shape the cortisol activity, which may represent a pivotal process linking early exposure to adversity to later onset of stress-related diseases (Anisman, Zaharia, Meaney, & Merali, 1998; Dawes et al., 1999; Evans, 2003; Gunnar & Vazquez, 2001; Heim, Ehlert, & Hellhammer, 2000; Weinstock, 1997). However, because these studies did not consider the role of genetic factors in predicting cortisol, the role of environmental adversity is still open to debate (Boivin et al., 2005; Dionne, Dale, Boivin, & Plomin, 2003; Scarr, 1992).

Individual differences in daytime cortisol levels likely arise from the joint contribution of genetic and environmental factors. Only a handful of twin studies have examined the genetic-environmental aetiology of daytime cortisol activity, altogether suggesting a substantial heritability and no shared environment contribution to daytime cortisol (Bartels, Van den Berg, Sluyter, Boomsma, & de Geus, 2003) (Froehlich, Zink, Li, & Christian, 2000; Inglis, 1999; Linkowski, 1993; Meikle, 1988; Wüst, 2000). However, most of these studies were limited by their reliance on older and age-heterogeneous samples of twins. Due to the early maturation and neural organization of the brain, environmental adversity could influence cortisol activity in unique ways during the first years of life (Gunnar & Quevedo, 2007). Describing the genetic-environmental interplay of daytime cortisol during infancy is crucial because of the presumed increased sensitivity of the yet immature, but fast developing brain structures (Gunnar & Vazquez, 2006). This is the main focus of the present study.

The genetic and environmental contributions to daytime cortisol likely vary as a function of the time of the day: moderate to high heritability has been reported at awakening in adults, but not later during the day (Kupper et al., 2005). The only genetic-environmental study of daytime cortisol levels involving an age-homogenous sample of children (12 year-old) revealed a genetic contribution in the morning and early afternoon, but not in the evening (Bartels, Van den Berg et al., 2003), with the morning samples showing the highest heritability. Thus, there seems to be a gradual circadian shift from genetic to environmental control. However, this environmental contribution does not appear to be experienced similarly by children of the same family (Bartels, de Geus, Kirschbaum, Sluyter, & Boomsma, 2003; Bartels, Van den Berg et al., 2003), which may point to possible GxE interactions.

Gene-environment interplay has been reported for various health-related phenotypes and using different approaches (Caspi et al., 2002; Jaffee et al., 2005; Johnson & Krueger, 2005; Kendler, 1995), including variations in genetic and environmental aetiology according to environmental circumstances (Moffitt, Caspi, & Rutter, 2005; Rutter, Moffitt, & Caspi, 2006). At least two forms of gene-environment interplay may be anticipated. A first possibility, often defined as the “diathesis-stress” model (Zubin & Spring, 1977), posits that genetic factors that increase vulnerability (or resilience) to stress are more likely to be expressed under

adverse/stressful environments than under more favourable conditions (Barr et al., 2004; Heim et al., 2000; Heim & Nemeroff, 1999; Heim, Plotsky, & Nemeroff, 2004; Kaufman, Plotsky, Nemeroff, & Charney, 2000). Results showing higher heritability of daytime cortisol secretion under stressful conditions in infants, such as high (versus low) familial adversity (FA), would be consistent with such a model.

Early adverse environments may also constrain genetic expression. In rodents, early maternal care has been shown to have long-lasting effect on the HPA axis response to stress (Francis, Diorio, Liu, & Meaney, 1999; Weaver et al., 2004). Findings showing a reduced genetic contribution to cortisol among children exposed to stressful conditions, such as high (versus low) FA, would be consistent with that model.

The goal of the present study was to estimate the genetic and environmental contributions to morning cortisol secretion among 6 month-old twins, and to investigate whether and how these contributions varied as a function of FA.

Methods and Materials

Participants

Participants were a subsample of twins recruited between April 1995 and December 1998 in the greater Montréal area to participate in the Québec Newborn Twin Study. A total of 989 families were contacted, of which 672 agreed to participate (68%). Twins were first seen when they were 6 months (gestational) age and then prospectively assessed on a variety of child and family characteristics. Informed written consent was obtained from the parents annually. Interviews regarding environmental variables were generally conducted with the mother (99.7%). Hospital records were used to get information about pregnancy and the delivery. Zygosity was determined through the Zygosity Questionnaire for Young Twins when they were 6 and 18 months of age (Goldsmith, 1991). DNA-based zygosity was then determined for 31% of

randomly selected same-sex twin pairs using 8-10 highly polymorphic micro-satellite markers. The two methods yielded a concordance of 93.8% (Forget-Dubois et al., 2003).

Saliva samples were collected for 523 children when they were 6 months of age (mean [SD], 5.63 months [.93]). Six children (3 twin pairs or 1.2% of the sample) were excluded because they were born very premature (26-29 gestational weeks) and had a very low birth weight ($\leq 1\ 000\text{g.}$), two conditions associated with disturbed HPA axis activity (Jett et al., 1997; Ward, Syddall, Wood, Chrousos, & Phillips, 2004). The final sample was composed of 517 infants who participated in sample collections at least once ($n = 478$ and $n = 393$ for awakening and morning, respectively). Non-genetic statistical analyses (e.g. ANOVAs) were performed with all available twins, but only complete twin pairs were considered for genetic analyses, leaving 232 twin pairs (101 monozygotic (MZ) and 131 dizygotic (DZ) twin pairs) and 192 twin pairs (67 MZ and 125 DZ twin pairs) for the awakening and morning samples respectively. Cortisol levels of infants from complete pairs did not differ from cortisol levels of singleton twins [$t(248) = -1.62, p = .11$ and $t(201) = -1.45, p = .15$].

Procedures and Measures

Saliva collection

Two saliva samples were collected one week apart: 1) 'home-awakening' and 2) 'lab in the morning'. The 'lab in the morning' samples were collected first, immediately upon arrival at the laboratory (≈ 15 minutes, between 8:32 and 10:02; mean [SD], 8:55 [0:14]) using salivette (Sarstedt Canada, Inc., St-Laurent, Québec). Parents were instructed to collect the saliva at home seven days later, as soon as the child naturally awakes and when he or she is still lying in the bed, unfed. Families were reminded by phone to do so the day prior to the sampling. Parents were told to put the salivettes in their freezer until the home visit scheduled the following week. The salivettes were brought back to the laboratory and stored at -80° Celsius until assay. The 'home-awakening' samples were all collected between 6:00 and 10:00 (mean [SD], 7:29 [0:56]). Mothers were instructed not to feed nor give the child anything to drink 20 minutes before each

sampling. All samples were analyzed in a single batch using RadioImmunoAssay (Diagnostic Systems Laboratories inc., Texas). The technician was blind as to the zygosity and familial adversity status of the samples. Intra-assay variability was less than 10%. Cortisol levels were positively skewed and were normalized using a Log10 transformation (Tabachnick & Fidell, 1996).

Familial Adversity

The cumulated risk of FA was assessed by 7 risk factors present during perinatal and postnatal development (Evans, 2003): maternal smoking during pregnancy, low birth weight, low family income, low maternal education, single parenthood, young motherhood, and maternal hostile/reactive behaviors. A risk factor was scored if the mother smoked cigarettes across all trimesters (24.9% of the families), birth weight was lower than 2500 g. (46.5%), family income was below CDN \$20,000 (19.2%), the mother had not completed high school (19.0%), the twins were not living with both of their biological parents (5.5%), and the mother was younger than 20 years when she gave birth to the twins (3.2%). A seven-item, 10-point (0 = *not at all* to 10 = *exactly*) Likert-type self-report scale was used to assess the mother's hostile-reactive parenting toward each twin (e.g., "I have shaken my baby when he/she was particularly fussy") (Cronbach $\alpha = .73$) (Boivin et al., 2005). The mother's hostile-reactive scores were strongly correlated across twins of the same family ($r_{MZ} = .84, p = .00$; $r_{MZ} = .78, p = .00$) and were thus averaged within families. A risk was counted if the score was above the median.

The resulting FA index was distributed as follows: a FA of (0): 19.2%, (1): 30.5%, (2): 29.0%, (3): 15.0%, (4): 3.5%, (5): 1.6%, (6): 1.2% and no FA of 7. Families with an FA score of 3 or above were considered to have high levels of FA (21.3%), whereas those who scored below 3 were considered to have low levels of FA (78.7%). This partition allowed the identification of an FA risk group that was prevalent enough to conduct meaningful statistical analyses.

Data analyses

Non genetic statistical analyses of data were complicated by the fact that our twin study contained 2 children in each family, leading to non-independent observations. Most of the analyses were performed using mixed models, an option available in SAS, with the exception of the correlations and the test of differences between the awakening and morning cortisol values executed with MPlus.

Genetic Modeling

The twin design typically examines the degree of phenotypic similarity among MZ twins of the same family (100% genetically related) and among DZ twins of the same family (50% genetically related on average), and decomposes the phenotypic variance into three putative sources of influence: additive genetic (heritable) variance, shared (common) environmental variance, and non-shared (unique) environmental variance (Petrill, 2002). Genetic sources of variance are implied when MZ twins are more similar than DZ twins. Shared environment is indicated when both MZ and DZ pairs are similar to each other; it refers to environmental factors that make twins of the same family similar to each other (e.g., SES, parental mental health, neighborhood). Non-shared environment refers to differences among twins of the same family. That is, experiences that make twins of the same family grow apart (e.g., differences in parenting behaviors, accidents, children's differing peer experiences).

Genetic (A), shared environment (C), and unique environment (E) contributions were estimated through structural equation modeling of variance and covariance patterns among MZ and DZ twin pairs, using the MX software package (Neale, Boker, Xie, & Maes, 1999). Within that ACE model, within-pair covariance resulting from the additive genetic additive was posited at 100% for MZ pair and 50% for DZ pairs, and shared environment was at 100% for both MZ and DZ twin pairs. Unique environment was estimated as residual variance and thus included measurement error. In this study, all twin pairs were concordant for FA. Models that allowed A, C, and E parameters to vary according to FA were compared to models that constrained parameters to be equal across FA groups. The full ACE models were tested against simpler

nested models (e.g. AE, CE, E models). Best models were selected according to goodness of fit (χ^2 test) and parsimony indices such as Akaike Information Criteria (AIC) and the Root Mean Squared Error of Approximation (RMSEA). Cortisol data were examined for outliers, defined as scores of ± 3 SD from the mean (Gunnar, Brodersen, Krueger, & Rigatuso, 1996; Ramsay & Lewis, 2003); none were found.

Results

Table 1 presents the descriptive statistics of daytime cortisol samples according to pre-, peri- and postnatal variables. No significant differences were found at $p < .05$, excepting the fact that monozygotic twins had higher awakening cortisol levels than those who did not [$t(202) = 2.17, p = .03$]. Lower awakening cortisol levels were noted for samples collected later while no difference was detected for the morning sample [$t(191) = -2.92, p = .003$ and $t(201) = 1.31, p = .19$]. This difference may possibly reflect the instructions given to the parents to sample saliva when the child naturally awakes, as sleep routine often differs across children at this age. However, the time of saliva collection did not vary according to FA status [$t(193) = 1.39, p = .17$ and $t(262) = -.26, p = .79$] and zygosity [$t(193) = -.02, p = .91$ and $t(262) = .03, p = .38$].

Means and standard errors of cortisol samples are illustrated in Figure 1. Consistent with the circadian rhythm, the mixed model confirmed higher cortisol level at awakening than in the morning [β (SE) = $-.14$ (.03), $p = .00$]. This difference did not vary according to FA [β (SE) = $-.05$ (.05), $p = .35$]. The correlation between the samples did not reach significance [$r = .07, p = .19$].

Familial adversity and cortisol secretion

No mean differences were found between twins exposed to low versus high FA for both samples [$t(248) = -1.04, p = .30$ and $t(201) = .15, p = .88$]. We also partitioned the samples into quartiles, allowing for different associations to emerge at the lower (1st quartile) or higher (4th

quartile) ends of the distribution. No significant association was found through polychoric correlation [$\rho = -.11, p = .15$ and $\rho = -.04, p = .65$].

MZ and DZ Intraclass correlations

Figure 2 presents the MZ and DZ intraclass correlation coefficients (ICC) for all twins and according to FA. For all twins, the MZ-DZ ICC discrepancy appeared larger for 'home-awakening' cortisol than for 'lab in the morning' cortisol, suggesting a larger contribution of genetic factors earlier in the day.

A differentiated pattern of MZ-DZ ICCs emerged according to FA. For the 'home-awakening' cortisol, MZ ICCs tended to be higher than DZ ICCs in both FA settings, although the MZ-DZ difference seemed attenuated in high FA. A different pattern was found for 'lab in the morning' cortisol: in low FA, both MZ and DZ ICCs were low, whereas in high FA, a large MZ-DZ discrepancy was found, pointing to a higher genetic contribution to cortisol secretion in high FA than in low FA (scatterplots are presented in the supplementary material). Finally, ICCs were also calculated using a more liberal (≥ 2 risk factors) and restrictive (≥ 4 risk factors) criteria. Similar patterns of results were obtained (figures available on request).

Genetic and Environmental Contributions to Daytime Cortisol samples

Home-Awakening

Model-fitting results for 'home-awakening' cortisol are presented in Table 2. We examined a series of models testing the invariance of the genetic and the environmental parameters across FA groups (i.e., constraining the parameters to be equal across FA groups [Equal models or EQ]). From the full ACE model, the elimination of the A or C parameters did not worsen the fit of the model ($\Delta\chi^2(1) = 3.32, p = .07$ and $\Delta\chi^2(1) = .00, p = >.99$), while the model including only the E parameter did ($\chi^2(2) = 11.56, p = .003$). The AE and CE nested models were thus more parsimonious than the ACE model, with the AE model performing better according to the AIC.

We then tested models allowing the parameters to differ across FA settings (Nonequal models or NEQ). From the ACE-NEQ full model, eliminating successively the C parameters for both low FA (model 6) and high FA groups (model 7) did not deteriorate the model ($\Delta\chi^2(2) = .00, p = >.99$). Then, eliminating the A parameter for either the low FA (model 8) or the high FA (model 9) lead to worse models ($\Delta\chi^2(1) = 7.49, p = <.01$ and $\Delta\chi^2(1) = 13.81, p = <.001$).

Models 2, 3, and 7 were kept according to their goodness of fit (χ^2). AE-EQ model (model 2) was selected because it offered the best balance between explanatory power and parsimony (AIC = -10.434 and RMSEA = 0.058): 'Home-awakening' cortisol was accounted for by genetic (A = .32) and non-shared environmental (E = .68) factors, and this pattern did not vary as a function of FA.

Lab in the Morning

The model-fitting results for the 'lab in the morning' sample are presented in Table 3. From the ACE-EQ full model, reducing to AE or CE models did not significantly worsen the fit ($\Delta\chi^2(1) = .24, p = .62$ and $\Delta\chi^2(1) = .40, p = .53$), whereas the only inclusion of the E parameter did ($\Delta\chi^2(2) = 9.84, p = <.01$). From the ACE-NEQ full model (model 5), removing successively the C in high FA (model 6), the A parameters in low FA (model 7), and the C in low FA (model 8) did not lead to a worse fit ($\Delta\chi^2(1) = .72, p = .40, \Delta\chi^2(1) = .00, p = >.99$, and $\Delta\chi^2(1) = 3.42, p = .06$). However, eliminating the A parameter for the high FA (model 8) weakened the fit ($\Delta\chi^2(1) = 9.75, p = <.01$).

Models 2, 3, and 8 were retained according to their goodness of fit. Model 8 clearly offered the best balance between explanatory power and parsimony (AIC = -11.698 and RMSEA = 0.023), and was thus retained. In low FA, 'lab in the morning' cortisol was accounted for by

unique environment factors, whereas in high FA, both genetic ($A = .69$) and unique environments ($E = .31$) factors contributed to the phenotype.¹

Discussion

The goal of the present study was to examine the genetic and environmental contributions to morning cortisol secretion in 6 month-old twins, and to determine whether these contributions varied according to FA. Genetic factors accounted for cortisol levels in different ways: a moderate 'main effect' of genes was found for home-based awakening cortisol, whereas the contribution of genes to morning cortisol in the laboratory was conditional to FA. Specifically, in low FA settings (typical of most families), there was no genetic contribution and only unique environmental contributions to lab-based morning cortisol. In high FA, lab-based morning cortisol was mainly accounted for by genetic factors, and, to a lesser extent, by unique environmental factors.

While the finding of a genetic 'main effect' for awakening cortisol at home is consistent with results from other studies among children (Bartels, de Geus et al., 2003) and adults (Bartels, Van den Berg et al., 2003; Kupper et al., 2005), the differential pattern of genetic and environmental aetiology of laboratory-based morning cortisol according to FA is a new and striking feature of the present results. Overall, these findings suggest a complex and evolving process of genetic-environment interactions underlying early daytime cortisol. A number of points should be underlined.

First, the differential pattern of genetic and environmental contributions to laboratory-based morning cortisol as a function of FA is consistent with a 'diathesis-stress' model suggesting that the genetic liability (or resilience) to stress is more likely to be expressed in adverse environments than in more favourable conditions. This is the first study to reveal a conditional

¹ This genetic-environmental aetiology did not vary as a function of gender in both samples (not shown).

contribution of genes according to FA at such an early age. Specific genetic liability could thus modulate the impact of early adversity on cortisol activity, and more generally, the vulnerability to stress-related diseases later in life (Taylor et al., 2005). These genetic liabilities could theoretically be expressed in several sites involved in the regulation of cortisol activity, including upstream structures that modulate the HPA axis. For example, increased activation of the right amygdala in response to fearful stimuli has been noted in carriers of the short allele of the 5HTT gene located in the promoter region (Hariri et al., 2002). Future studies should thus examine the potential role of measured genes, such as the short 5HTT allele, in the present conditional association.

Second, at the same time, the strong genetic contribution to morning cortisol levels in high FA, both in absolute and relative (i.e., versus low FA) terms, runs opposite to the idea of a programming effect of early adversity on cortisol activity at 6 months of age. Previous studies have indeed evidenced such a prevailing effect of early experiences in rodents and later demonstrated an epigenetic programming of HPA reactivity by maternal care (Weaver et al., 2004). These robust programming effects of maternal care have been reported during the stress hyporesponsive period (Levine, 2005; Liu et al., 1997; Meaney, 2001). Characterized by a dampened HPA axis response to stress and low circulating basal cortisol levels, the mechanisms involved at this period of development presumably protects the immature, but fast developing brain from repeated and prolonged glucocorticoid exposure (for a review, see Vazquez, 1998). Mostly documented in rodents, evidence is accumulating that a functionally equivalent period emerges by the end of the first year of life in humans². It may thus be too early at 6 months of age for FA to have a programming effect on daytime cortisol activity.

² One major difference is that postnatal adversity is more likely to affect corticolimbic structures and pathways than the HPA axis per se given the relative maturity of this system at birth in primates (Levitt, 2003). Accordingly, adversity experienced during this period could influence corticolimbic structures and circuitry, which in turn, could affect cortisol reactivity and regulation. An important buffering role of the caregiver is also presumed (Anisman et al., 1998; Boyce, Champoux, Suomi, & Gunnar, 1995; Caldji, Diorio, & Meaney, 2000; Gunnar & Quevedo, 2007; Gunnar, Morison, Chisholm, & Schuder, 2001; Meaney, 2001; Suomi, 1997).

Such a programming effect of FA was suggested in a recently reported pattern of genetic and environmental contributions to cortisol response to novelty in 19 months-old twins (Ouellet-Morin et al., 2008). Specifically, both shared and unique environments, not genetic factors, accounted for cortisol reactivity in high FA settings. In contrast, under low FA settings, only genetic and uniquely experienced factors contributed to the phenotype. The divergent patterns found in the two studies could be due to the period of development (6 vs 19 months) or to the nature of HPA activity (daytime cortisol secretion vs response to social novelty). Clearly, additional genetically informative studies collecting multiple daytime cortisol samples longitudinally in early childhood are needed to understand the role of environmental adversity in HPA activity in humans.

Third, the moderation of a genetic contribution to cortisol activity by FA was restricted to the morning cortisol sample in the laboratory and did not affect awakening cortisol levels at home. As stated earlier, a moderate heritability of cortisol secretion in the awakening period has been reported in previous twin studies (Bartels, de Geus et al., 2003; Kupper et al., 2005; Wüst, 2000), although not as early in development. Why was genetic contribution to cortisol conditional to FA for morning cortisol in the laboratory but not for awakening cortisol at home? One possibility is that cortisol activity may be regulated by different structures at awakening versus later during the morning (Kupper et al., 2005). Specifically, the suprachiasmatic nucleus progressively reduces its inhibitory control on the hypothalamus in the second half of the night, resulting in an overall increase in cortisol secretion. Approximately two hours before the awakening, neurons located in the paraventricular nucleus of the hypothalamus enhance its vasopressin secretion for a short period of time, which temporarily boost cortisol secretion at awakening before it decreasing drastically during the next hour (Kalsbeek, van Heerikhuizen, Wortel, & Buijs, 1996; Schmidt-Reinwald et al., 1999). These basic physiological functions are designed to help the organism cope with the drastic, but systematic, increases of external demands at awakening. They could thus be enduring and more attuned to genetic variation. In contrast, cortisol secretion taking place later during the morning is intended to facilitate adaptation to changing environments through cognitive, attention, and emotion regulation processes involving corticolimbic structures and pathways, and thus could be more sensitive to environments.

Fourth, in contrast to previous singleton studies (Gunnar & Quevedo, 2007; Tarullo & Gunnar, 2006), morning cortisol levels did not differ as a function of FA. Many factors could account for this finding. First, as suggested by the difference in heritability in lab-based morning cortisol according to FA, there could be a difference in morning cortisol levels only for infants carrying a genetic risk, i.e. a GxE interaction. Second, differences in morning cortisol as a function of FA may emerge with age, possibly as a result of chronic exposure to adversity (Miller, Chen, & Zhou, 2007). Finally, at 6 months of age, cortisol levels may vary according to FA only later during the morning. The increased environmental control of afternoon cortisol levels in comparison to morning cortisol is consistent with this idea (Bartels, de Geus et al., 2003; Gunnar et al., 2001; Kupper et al., 2005).

The present findings have important clinical implications. Since disrupted cortisol secretion has been reported in association with numerous stress-related diseases, less effective responses to treatment, and higher relapse rates, the genetic modulation of cortisol activity by FA may point to one mechanism through which adverse life conditions may exacerbate individual liabilities (or resilience) to stress and stress-related diseases (Brouwer et al., 2006; Mannie, Harmer, & Cowen, 2007). This finding stresses the importance to identify the genetic variants involved and to better characterize the underlying mechanisms in order to help policy makers and clinicians to implement early preventive interventions especially designed for children at greater risk to show atypical patterns of daytime cortisol secretion in context of FA.

Limitations of the study

A few features of the current study may have constrained the findings. First, the cortisol indices were each based on a single saliva sample. Multiple samples collected over several days would have yielded more reliable measures. However, notwithstanding this limitation, significant heritability estimates were revealed and different patterns of genetic and environmental contributions were found. Second, morning cortisol samples were collected in a non-familiar context (visit to a laboratory) that may have been arousing for some children (including transportation or disturbance of sleep routine). It is thus possible that this sample partly reflected reactive cortisol. However, awakening and morning mean cortisol levels showed the expected

circadian rhythm, suggesting that the visit did not induce a stress response in most children. Third, the study would have benefited from a more extended coverage of the day to examine whether distinct patterns of genetic and environmental contributions as a function of FA would have been found. Fourth, this population-based sample presented a limited number of cases of severe FA. Whether the findings generalize to the far end of the spectrum of FA is open to question. Fifth, the assessment of maternal hostile/reactive behaviours relied on self-report and may have been influenced by social desirability despite the use of contextualized items (i.e. the child's difficult behaviour) (Boivin et al., 2005; Morsbach & Prinz, 2006). Finally, since the FA index was computed as a family-level variable, it was not possible to clearly establish whether the effect was genuinely environmental or genetically mediated. Future studies should investigate further this gene-environment interplay.

Conclusion

The present study was the first to reveal distinct patterns of genetic and environmental contributions to morning cortisol secretion in the laboratory according to adversity in the first year of life. Genetic factors accounted for most of the variance in morning cortisol in high FA, but not in low FA, suggesting the presence of a 'diathesis' more likely to be expressed in adverse settings. Clearly, these conditional contributions of adversity and genetic factors need to be replicated in genetically informative prospective studies with larger samples, and with respect to the nature, timing, duration, and intensity of the adverse setting investigated (Fries, Hesse, Hellhammer, & Hellhammer, 2005; Miller et al., 2007; Pollak, 2005; Rinne et al., 2002; Shea, Walsh, Macmillan, & Steiner, 2005). Finally, future studies should examine the stability of genetic and environmental contributions over time in order to investigate if daytime cortisol secretion early in development predicts later vulnerability to stress and stress-related diseases.

Acknowledgments & Financial disclosures

We are grateful to the parents and twins of the participating families. We thank Jocelyn Malo for coordinating the data collection, and Hélène Paradis, Bei Feng, Bernadette Simoneau, and Jacqueline Langlois for their assistance in data management and preparation. This research was supported by grants from the National Health Research Development Program, the Social Sciences and Humanities Research Council of Canada, the Québec Ministry of Health and Social Services, the Canadian Institutes of Health Research, the Canada Research Chair program, the Fonds Québécois de la Recherche sur la Société et la Culture, and the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. Isabelle Ouellet-Morin was supported by fellowships from the Canadian Institutes of Health Research and the Behavioral, Gene and Environment Training Grant Program.

The authors have no financial interests or potential conflicts of interest.

References

- Anisman, H., Zaharia, M. D., Meaney, M. J., & Merali, Z. (1998). Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *International Journal Developmental Neuroscience*, *16*(3-4), 149-164.
- Antonini, S. R., Jorge, S. M., & Moreira, A. C. (2000). The emergence of salivary cortisol circadian rhythm and its relationship to sleep activity in preterm infants. *Clinical Endocrinology*, *52*(4), 423-426.
- Ashman, S. B., Dawson, G., Panagiotides, H., Yamada, E., & Wilkinson, C. W. (2002). Stress hormone levels of children of depressed mothers. *Development and Psychopathology*, *14*(2), 333-349.
- Barr, C. S., Newman, T. K., Shannon, C., Parker, C., Dvoskin, R. L., Becker, M. L., et al. (2004). Rearing condition and rh5-HTTLPR interact to influence limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in infant macaques. *Biological Psychiatry*, *55*(7), 733-738.
- Bartels, M., de Geus, E. J. C., Kirschbaum, C., Sluyter, F., & Boomsma, D. I. (2003). Heritability of daytime cortisol levels in children. *Behavior Genetics*, *33*(4), 421 - 433.
- Bartels, M., Van den Berg, M., Sluyter, F., Boomsma, D. I., & de Geus, E. J. C. (2003). Heritability of cortisol levels: review and simultaneous analysis of twin studies. *Psychoneuroendocrinology*, *28*(2), 121 - 137.
- Boivin, M., Perusse, D., Dionne, G., Saysset, V., Zoccolillo, M., Tarabulsky, G. M., et al. (2005). The genetic-environmental etiology of parents' perceptions and self-assessed behaviours toward their 5-month-old infants in a large twin and singleton sample. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *46*(6), 612-630.
- Boyce, W. T., Champoux, M., Suomi, S. J., & Gunnar, M. R. (1995). Salivary cortisol in nursery-reared rhesus monkeys: reactivity to peer interactions and altered circadian activity. *Developmental Psychobiology*, *28*(5), 257-267.
- Brouwer, J. P., Appelhof, B. C., van Rossum, E. F., Koper, J. W., Fliers, E., Huyser, J., et al. (2006). Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology*, *31*(10), 1154-1163.

- Bugental, D. B., Martorell, G. A., & Barraza, V. (2003). The hormonal costs of subtle forms of infant maltreatment. *Hormones and Behavior*, *43*(1), 237-244.
- Caldji, C., Diorio, J., & Meaney, M. J. (2000). Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biological Psychiatry*, *48*(12), 1164-1174.
- Carrion, V. G., Weems, C. F., Ray, R. D., Glaser, B., Hessel, D., & Reiss, A. L. (2002). Diurnal salivary cortisol in pediatric posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, *51*(7), 575-582.
- Caspi, A., McClay, J., Moffitt, T. E., Mill, J., Martin, J., Craig, I. W., et al. (2002). Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science*, *297*(5582), 851-844.
- Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2001a). Diverse patterns of neuroendocrine activity in maltreated children. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 677-693.
- Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2001b). The impact of child maltreatment and psychopathology on neuroendocrine functioning. *Development and Psychopathology*, *13*(4), 783-804.
- Custodio, R. J., Junior, C. E., Milani, S. L., Simoes, A. L., de Castro, M., & Moreira, A. C. (2007). The emergence of the cortisol circadian rhythm in monozygotic and dizygotic twin infants: the twin-pair synchrony. *Clinical Endocrinology* *66*(2), 192-197.
- Dawes, M. A., Dorn, L. D., Moss, H. B., Yao, J. K., Kirisci, L., Ammerman, R. T., et al. (1999). Hormonal and behavioral homeostasis in boys at risk for substance abuse. *Drug and Alcohol Dependence*, *55*(1-2), 165-176.
- Dionne, G., Dale, P. S., Boivin, M., & Plomin, R. (2003). Genetic evidence for bidirectional effects of early lexical and grammatical development. *Child Development*, *74*(2), 394-412.
- Dozier, M., Manni, M., Gordon, M. K., Peloso, E., Gunnar, M. R., Stovall-McClough, K. C., et al. (2006). Foster children's diurnal production of cortisol: an exploratory study. *Child Maltreatment*, *11*(2), 189-197.
- Evans, G. W. (2003). A multimethodological analysis of cumulative risk and allostatic load among rural children. *Developmental Psychology*, *39*(5), 924 - 933.

- Evans, G. W., & English, K. (2002). The environment of poverty: multiple stressor exposure, psychophysiological stress, and socioemotional adjustment. *Child Development, 73*(4), 1238-1248.
- Feder, A., Coplan, J. D., Goetz, R. R., Mathew, S. J., Pine, D. S., Dahl, R. E., et al. (2004). Twenty-four-hour cortisol secretion patterns in prepubertal children with anxiety or depressive disorders. *Biological Psychiatry, 56*(3), 198-204.
- Flinn, M. V., & England, B. G. (1997). Social economics of childhood glucocorticoid stress response and health. *American Journal of Physical Anthropology, 102*(1), 33-53.
- Forget-Dubois, N., Perusse, D., Turecki, G., Girard, A., Billette, J. M., Rouleau, G., et al. (2003). Diagnosing zygosity in infant twins: physical similarity, genotyping, and chorionicity. *Twin Research, 6*(6), 479-485.
- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science, 286*(5442), 1155-1158.
- Fries, E., Hesse, J., Hellhammer, J., & Hellhammer, D. H. (2005). A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology, 30*(10), 1010-1016.
- Froehlich, J. C., Zink, R. W., Li, T. K., & Christian, J. C. (2000). Analysis of heritability of hormonal responses to alcohol in twins: beta-endorphin as a potential biomarker of genetic risk for alcoholism. *Alcohol Clinical and Experimental Research, 24*(3), 265-277.
- Goldsmith, H. H. (1991). A zygosity questionnaire for young twins: a research note. *Behavior Genetics, 21*(3), 257-269.
- Gunnar, M., & Quevedo, K. (2007). The neurobiology of stress and development. *Annual Review of Psychology, 58*, 145-173.
- Gunnar, M., & Vazquez, D. M. (2006). Stress neurobiology and developmental psychopathology. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology* (Vol. 2, pp. 533-577). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Gunnar, M. G. (2000). Early adversity and the development of stress reactivity and regulation. In C. A. Nelson (Ed.), *The effects of early adversity on neurobehavioral development, the*

Minnesota symposia on child psychology. (Vol. 31, pp. 163-200). London: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers.

- Gunnar, M. R., Brodersen, L., Krueger, K., & Rigatuso, J. (1996). Dampening of adrenocortical responses during infancy: normative changes and individual differences. *Child Development, 67*(3), 877-889.
- Gunnar, M. R., Morison, S. J., Chisholm, K., & Schuder, M. (2001). Salivary cortisol levels in children adopted from romanian orphanages. *Development and Psychopathology, 13*(3), 611-628.
- Gunnar, M. R., & Vazquez, D. M. (2001). Low cortisol and a flattening of expected daytime rhythm: potential indices of risk in human development. *Development and Psychopathology, 13*(3), 515-538.
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D., et al. (2002). Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science, 297*(5580), 400-403.
- Heim, C., Ehlert, U., & Hellhammer, D. H. (2000). The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology, 25*(1), 1-35.
- Heim, C., & Nemeroff, C. B. (1999). The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biological Psychiatry, 46*(11), 1509-1522.
- Heim, C., Plotsky, P. M., & Nemeroff, C. B. (2004). Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. *Neuropsychopharmacology, 29*(4), 641-648.
- Inglis, G. C., Ingram, M. C., Holloway, C. D., Swan, L., Birnie, D., Hillis, S. W., Davies E., Fraser, R., Connell, J. M. C. (1999). Familial pattern of corticosteroids and their metabolism in adult human subjects - the scottish adult twin study. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 84*(11), 4132-4137.
- Jaffee, S. R., Caspi, A., Moffitt, T. E., Dodge, K. A., Rutter, M., Taylor, A., et al. (2005). Nature X nurture: genetic vulnerabilities interact with physical maltreatment to promote conduct problems. *Development and Psychopathology, 17*(1), 67-84.

- Jett, P. L., Samuels, M. H., McDaniel, P. A., Benda, G. I., Lafranchi, S. H., Reynolds, J. W., et al. (1997). Variability of plasma cortisol levels in extremely low birth weight infants. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(9), 2921-2925.
- Johnson, W., & Krueger, R. F. (2005). Genetic effects on physical health: lower at higher income levels. *Behavior Genetics*, 35(5), 579-590.
- Kalsbeek, A., van Heerikhuize, J. J., Wortel, J., & Buijs, R. M. (1996). A diurnal rhythm of stimulatory input to the hypothalamo-pituitary-adrenal system as revealed by timed intrahypothalamic administration of the vasopressin V1 antagonist. *Journal of Neuroscience*, 16(17), 5555-5565.
- Kaufman, J., Plotsky, P. M., Nemeroff, C. B., & Charney, D. S. (2000). Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biological Psychiatry*, 48(8), 778-790.
- Kendler, K. S. (1995). Genetic epidemiology in psychiatry. Taking both genes and environment seriously. *Archives of General Psychiatry*, 52(11), 895-899.
- Kupper, N., de Geus, E. J., van den Berg, M., Kirschbaum, C., Boomsma, D. I., & Willemsen, G. (2005). Familial influences on basal salivary cortisol in an adult population. *Psychoneuroendocrinology*, 30(9), 857-868.
- Levine, S. (2005). Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology*, 30(10), 939-946.
- Levitt, P. (2003). Structural and functional maturation of the developing primate brain. *Journal of Pediatrics*, 143(4 Suppl), S35-45.
- Linkowski, P., Onderbergen, A. V., Kerkhofs, M., Bosson, D., Mendlewicz, J., Van Cauter, E. (1993). Twin study of the 24h cortisol profile: evidence for genetic control of the human circadian clock. *American Journal of Physiology*, 264(2), 173-181.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., et al. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, 277(5332), 1659-1662.

- Luby, J. L., Heffelfinger, A., Mrakotsky, C., Brown, K., Hessler, M., & Spitznagel, E. (2003). Alterations in stress cortisol reactivity in depressed preschoolers relative to psychiatric and no-disorder comparison groups. *Archives of General Psychiatry*, *60*(12), 1248-1255.
- Lupien, S., Lecours, A. R., Lussier, I., Schwartz, G., Nair, N. P., & Meaney, M. J. (1994). Basal cortisol levels and cognitive deficits in human aging. *Journal of Neuroscience*, *14*(5 Pt 1), 2893-2903.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2000). Child's stress hormone levels correlate with mother's socioeconomic status and depressive state. *Biological Psychiatry*, *48*(10), 976-980.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2001). Can poverty get under your skin? basal cortisol levels and cognitive function in children from low and high socioeconomic status. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 653-676.
- Mannie, Z. N., Harmer, C. J., & Cowen, P. J. (2007). Increased waking salivary cortisol levels in young people at familial risk of depression. *American Journal of Psychiatry*, *164*(4), 617-621.
- McBurnett, K., Lahey, B. B., Rathouz, P. J., & Loeber, R. (2000). Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Archives of General Psychiatry*, *57*(1), 38-43.
- McEwen, B. S. (2000a). Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Feb; Vol 22(2): 108-124.
- McEwen, B. S. (2000b). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Research*, *886*(1-2), 172-189.
- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review Neurosciences*, *24*, 1161-1192.
- Meikle, A. W., Stringham, J. D., Woodward, M. G., Bishop, T. (1988). Heritability of variation of plasma cortisol levels. *Metabolism*, *37*(6), 514-517.

- Miller, G. E., Chen, E., & Zhou, E. S. (2007). If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological Bulletin*, *133*(1), 25-45.
- Moffitt, T. E., Caspi, A., & Rutter, M. (2005). Strategy for investigating interactions between measured genes and measured environments. *Archives of General Psychiatry*, *62*(5), 473-481.
- Morsbach, S. K., & Prinz, R. J. (2006). Understanding and improving the validity of self-report of parenting. *Clinical Child and Family Psychology Review*, *9*(1), 1-21.
- Neale, M. C., Boker, S. M., Xie, G., & Maes, H. H. (1999). *MX: Statistical Modeling*, 5th ed. Richmond: Medical College of Virginia Commonwealth University, Department of Psychiatry.
- Ouellet-Morin, I., Boivin, M., Dionne, G., Lupien, S. J., Arseneault, L., Barr, R. G., et al. (2008). Variations in heritability of cortisol reactivity to stress as a function of early familial adversity among 19-month-old twins. *Archives of General Psychiatry*, *65*(2), 211-218.
- Petrill, S. A. (2002). Examining social behavior and relationships using genetically sensitive designs: An introduction. *Marriage & family review*, *33*(1), 3-10.
- Phillips, D. I., Walker, B. R., Reynolds, R. M., Flanagan, D. E., Wood, P. J., Osmond, C., et al. (2000). Low birth weight predicts elevated plasma cortisol concentrations in adults from 3 populations. *Hypertension*, *35*(6), 1301-1306.
- Pollak, S. D. (2005). Early adversity and mechanisms of plasticity: integrating affective neuroscience with developmental approaches to psychopathology. *Development and Psychopathology*, *17*(3), 735-752.
- Price, D. A., Close, G. C., & Fielding, B. A. (1983). Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Archives of Disease in Childhood*, *58*(6), 454-456.
- Pruessner, M., Hellhammer, D. H., Pruessner, J. C., & Lupien, S. J. (2003). Self-reported depressive symptoms and stress levels in healthy young men: associations with the cortisol response to awakening. *Psychosomatic Medicine*, *65*(1), 92-99.
- Ramsay, D., & Lewis, M. (2003). Reactivity and regulation in cortisol and behavioral responses to stress. *Child Development*, *74*(2), 456-464.

- Ramsay, D. S., Bendersky, M. I., & Lewis, M. (1996). Effect of prenatal alcohol and cigarette exposure on two- and six-month-old infants' adrenocortical reactivity to stress. *Journal of Pediatric Psychology, 21*(6), 833-840.
- Rinne, T., de Kloet, E. R., Wouters, L., Goekoop, J. G., DeRijk, R. H., & van den Brink, W. (2002). Hyperresponsiveness of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone challenge in female borderline personality disorder subjects with a history of sustained childhood abuse. *Biological Psychiatry, 52*(11), 1102-1112.
- Rosmond, R., Dallman, M. F., & Bjorntorp, P. (1998). Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 83*(6), 1853-1859.
- Rutter, M., Moffitt, T. E., & Caspi, A. (2006). Gene-environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, 47*(3-4), 226-261.
- Scarr, S. (1992). Developmental theories for the 1990s: development and individual differences. *Child Development, 63*(1), 1-19.
- Schmidt-Reinwald, A., Pruessner, J. C., Hellhammer, D. H., Federenko, I., Rohleder, N., Schurmeyer, T. H., et al. (1999). The cortisol response to awakening in relation to different challenge tests and a 12-hour cortisol rhythm. *Life Sciences, 64*(18), 1653-1660.
- Shea, A., Walsh, C., Macmillan, H., & Steiner, M. (2005). Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress disorder in females. *Psychoneuroendocrinology, 30*(2), 162-178.
- Suomi, S. J. (1997). Early determinants of behaviour: evidence from primate studies. *British Medical Bulletin, 53*(1), 170-184.
- Tabachnick, B. G., & Fidell, L. S. (1996). *Using Multivariate Statistics, 3rd edition*. New York: HarperCollins College Publishers.
- Tarullo, A. R., & Gunnar, M. R. (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Hormones and Behavior, 50*(4), 632-639.

- Taylor, W. D., Steffens, D. C., Payne, M. E., MacFall, J. R., Marchuk, D. A., Svenson, I. K., et al. (2005). Influence of serotonin transporter promoter region polymorphisms on hippocampal volumes in late-life depression. *Archives of General Psychiatry*, 62(5), 537-544.
- Vanitallie, T. B. (2002). Stress: a risk factor for serious illness. *Metabolism*, 51(6 Suppl 1), 40-45.
- Vazquez, D. M. (1998). Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*, 23(7), 663-700.
- Ward, A. M., Syddall, H. E., Wood, P. J., Chrousos, G. P., & Phillips, D. I. (2004). Fetal programming of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: low birth weight and central HPA regulation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(3), 1227-1233.
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., et al. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8), 847-854.
- Weinstock, M. (1997). Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(1), 1-10.
- Wüst, S., Federenko, I., Hellhammer, D. H., Kirschbaum, C. (2000). Genetic factors, perceived chronic stress, and the free cortisol response to awakening. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 707-720.
- Zubin, J., & Spring, B. (1977). Vulnerability: A new view of schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*, 86, 103-126.

Table 1

Home-awakening and morning in the lab cortisol descriptive statistics according to a variety of pre-, peri- and postnatal variables

Variables	Awakening (Day 1)			Morning (Day 2)		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N
Zygoty						
Monozygotes	.58	.37	205	.45	.37	137
Dizygoty	.57	.45	273	.41	.30	256
Sex						
Males	.54	.42	224	.43	.31	153
Females	.61	.41	254	.42	.34	240
Ethnicity						
Caucasians	.58	.43	412	.44	.34	335
Others	.58	.39	59	.39	.26	54
Birthweight						
≥ 2500g	.55	.34	245	.43	.33	192
< 2500g	.60	.44	203	.41	.30	180
Gestational age at birth						
≥ 37 weeks	.55	.36	195	.43	.34	183
< 37 weeks	.59	.42	229	.41	.30	163
Gestational Diabetes						
Yes	.51	.39	62	.43	.24	52
No	.57	.39	324	.42	.33	316
Gestational Hypertension						
Yes	.50	.38	68	.39	.26	62
No	.57	.39	334	.43	.33	308
Chorionicity						
Monochorionic	.62	.37	104	.42	.37	66
Dichorionic	.55	.38	268	.42	.27	228
Expected Pregnancy						
Yes	.57	.40	294	.42	.32	250
No	.52	.36	110	.42	.31	120
Postnatal Depression						
Yes	.58	.40	88	.39	.33	75
No	.55	.38	312	.43	.32	300
Instrumentation Used for delivery						
None	.60	.37	173	.44	.31	158
Forceps	.44	.31	15	.30	.16	11
Suction-Grip	.53	.54	20	.39	.29	16

Note. Raw data (ug/dl).

Figure 1

Mean and SEM of cortisol levels at awakening and morning for all twins (n = 517)

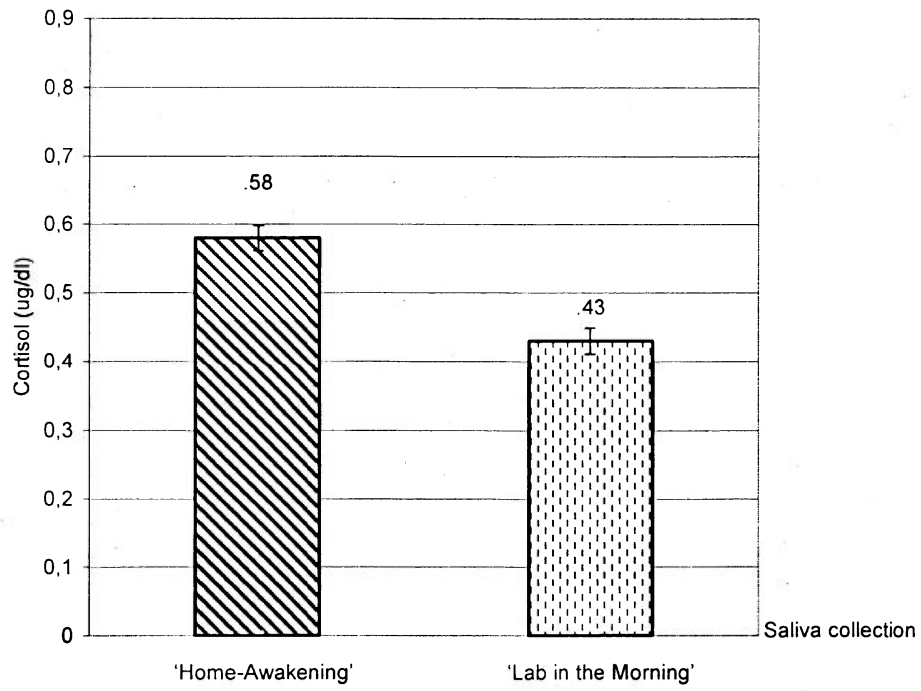
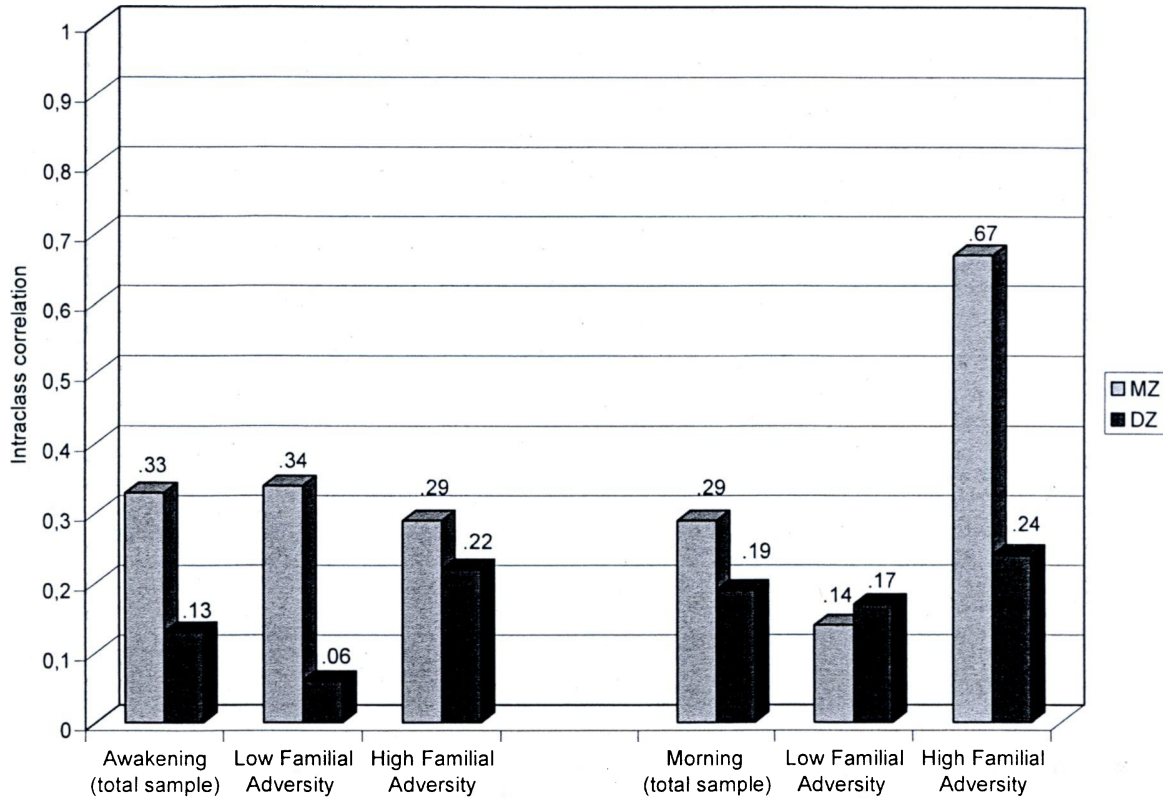


Figure 2

Intraclass monozygotic (MZ) and dizygotic (DZ) correlations for home-awakening (Day 1) and morning in the lab cortisol (Day 2) samples for all twins and according to familial adversity



Note. Awakening: All twins: MZ ($n = 101$ pairs), DZ ($n = 131$ pairs), Low Familial Adversity: MZ ($n = 77$ pairs), DZ ($n = 101$ pairs), High Familial Adversity: MZ ($n = 24$ pairs), DZ ($n = 30$ pairs). Morning: All twins: MZ ($n = 67$ pairs), DZ ($n = 125$ pairs), Low Familial Adversity: MZ ($n = 47$ pairs), DZ ($n = 95$ pairs), High Familial Adversity: MZ ($n = 20$ pairs), DZ ($n = 30$ pairs). MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins.

Table 2

Summary of the ACE model-fitting results of the home-awakening cortisol sample according to familial adversity

Models	Fit Statistics					Estimated Components (95% conf. intervals)			
	χ^2	df	p	AIC	RMSEA	A	C	E	
Equal Models									
1. ACE	9.57	9	.39	-8.434	0.063	LFA	.32 (.00-.51)	.00 (.00-.24)	.68 (.53-.88)
						HFA	.32 (.00-.51)	.00 (.00-.24)	.68 (.53-.88)
2. AE	9.57	10	.48	-10.434	0.058	LFA	.32 (.13-.51)	_____	.68 (.53-.88)
						HFA	.32 (.13-.51)	_____	.68 (.53-.88)
3. CE	12.89	10	.23	-7.115	0.076	LFA	_____	.19 (.06-.33)	.81 (.68-.98)
						HFA	_____	.19 (.06-.33)	.81 (.68-.98)
4. E	21.13	11	.03	-0.871	0.129	LFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
						HFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
Non-Equal Models									
5. A ₁ C ₁ E ₁ A ₂ C ₂ E ₂	5.67	6	.46	-6.334	0.049	LFA	.28 (.00-.50)	.00 (.00-.00)	.72 (.55-.95)
						HFA	.43 (.00-.81)	.00 (.00-.53)	.57 (.33-.81)
6. A ₁ E ₁ A ₂ C ₂ E ₂	5.67	7	.58	-8.334	0.041	LFA	.28 (.08-.50)	_____	.72 (.55-.95)
						HFA	.43 (.00-.81)	.00 (.00-.53)	.57 (.33-.81)
7. A ₁ E ₁ A ₂ E ₂	5.67	8	.69	-10.334	0.037	LFA	.28 (.08-.50)	_____	.72 (.55-.95)
						HFA	.43 (.06-.81)	_____	.57 (.33-.81)
8. E ₁ A ₂ E ₂	13.16	9	.16	-4.843	0.075	LFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
						HFA	.43 (.06-.81)	_____	.57 (.33-.81)
9. A ₁ E ₁ E ₂	19.48	9	.02	1.48	0.150	LFA	.00 (.00-.00)	_____	1.00 (.45-1.0)
						HFA	_____	_____	1.00 (.88-1.0)

Note. For the Non-Equal Models, the parameters of the LFA are indicated as 1 whereas 2 refers to HFA parameters.

MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins. LFA = Low Familial Adversity group, HFA = High Familial Adversity group, AIC = Akaike Information Criteria, RMSEA = Root Mean Squared Error of Approximation, A = Genetic estimate, C = shared environment estimate, and E = unique environment estimates.

Table 3

Summary of the ACE model-fitting results of the morning in the lab cortisol sample according to familial adversity

Models	Fit Statistics				Estimated Components (95% conf. intervals)				
	χ^2	df	p	AIC	RMSEA	A	C	E	
Equal Models									
1. ACE	9.65	9	.38	-8.354	0.071	LFA	.18 (.00-.51)	.10 (.00-.37)	.72 (.53-.95)
						HFA	.18 (.00-.51)	.10 (.00-.37)	.72 (.53-.95)
2. AE	9.89	10	.45	-10.11	0.060	LFA	.31 (.12-.51)	_____	.69 (.53-.91)
						HFA	.31 (.12-.51)	_____	.69 (.53-.91)
3. CE	10.05	10	.44	-9.949	0.076	LFA	_____	.22 (.08-.38)	.78 (.64-.96)
						HFA	_____	.22 (.08-.38)	.78 (.64-.96)
4. E	19.49	11	.05	-2.509	0.138	LFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
						HFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
Non-Equal Models									
5. A ₁ C ₁ E ₁ A ₂ C ₂ E ₂	3.60	6	.73	-8.399	0.013	LFA	.19 (.00-.43)	.00 (.00-.36)	.81 (.60-.10)
						HFA	.69 (.01-.89)	.00 (.00-.00)	.31 (.17-.62)
6. A ₁ C ₁ E ₁ A ₂ E ₂	2.88	7	.90	-11.123	0.000	LFA	.00 (.00-.40)	.16 (.00-.34)	.84 (.67-.10)
						HFA	.69 (.33-.89)	_____	.31 (.17-.62)
7. C ₁ E ₁ A ₂ E ₂	2.88	8	.94	-13.123	0.000	LFA	_____	.16 (.00-.34)	.84 (.67-1.0)
						HFA	.69 (.33-.89)	_____	.31 (.17-.62)
8. E ₁ A ₂ E ₂	6.30	9	.71	-11.698	0.023	LFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)
						HFA	.69 (.33-.89)	_____	.31 (.17-.62)
9. C ₁ E ₁ E ₂	16.05	9	.07	-1.952	0.146	LFA	_____	.16 (.00-.34)	.84 (.67-1.0)
						HFA	_____	_____	1.00 (1.0-1.0)

Note. For the Non-Equal Models, the parameters of the LFA are indicated as 1 whereas 2 refers to HFA parameters.

MZ = monozygotic twins, DZ = dizygotic twins. LFA = Low Familial Adversity group, HFA = High Familial Adversity group, AIC = Akaike Information Criteria, RMSEA = Root Mean Squared Error of Approximation, A = Genetic estimate, C = shared environment estimate, and E = unique environment estimates.

CHAPITRE 3. CONCLUSION GÉNÉRALE

3.0 RETOUR SUR LES OBJECTIFS

L'objectif principal de la thèse était d'étudier l'étiologie de la sécrétion cortisolaires à la petite enfance. Dans ce cadre, une attention spéciale a été accordée à la présence d'adversité dans le milieu familial des jumeaux. Plus précisément, il s'agissait d'investiguer la variation des contributions génétiques et environnementales sur le plan de la sécrétion cortisolaires en fonction de l'adversité familiale. Considérant que les mesures cortisolaires ont été effectuées au cours de contextes différents (prélèvements diurnes effectués au réveil et en matinée vs une exposition à une situation de nouveauté sociale et physique) et à des âges distincts (6 vs 19 mois), l'examen de l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires a été effectué séparément pour ces mesures.

La thèse a permis de poser un regard novateur sur l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires. Elle se distingue par trois caractéristiques particulières. Premièrement, cet examen a été effectué pour la première fois à la petite enfance, une période caractérisée par une plasticité accrue de certaines structures cérébrales impliquées dans l'activité de l'axe HPS. Deuxièmement, la thèse se dissocie des travaux antérieurs par l'investigation de la possibilité que les contributions des facteurs génétiques et environnementaux varient en fonction de l'adversité familiale, ce qui signifierait la présence d'une interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux. Troisièmement, la thèse permettait de porter un nouvel éclairage sur la relation présumée entre l'exposition précoce à des conditions adverses et l'émergence de patrons cortisolaires atypiques chez l'enfant dans un contexte génétiquement informatif.

Un résumé des principaux résultats issus des articles empiriques sera présenté pour la mesure effectuée en réponse à la situation de nouveauté sociale et physique (article 1) et pour les mesures diurnes (article 2). Ce résumé sera suivi par l'énoncé de pistes

d'interprétation qui ont pour objectif d'intégrer les résultats des articles dans un tout cohérent considérant le contexte actuel des connaissances pour ensuite conclure avec l'énoncé des principales limites inhérentes à ces études. Finalement, quelques avenues de recherche prometteuses seront exposées.

3.1 ÉTIOLOGIE GÉNÉTIQUE ET ENVIRONNEMENTALE DE LA RÉACTIVITÉ CORTISOLAIRE: UN EFFET ORGANISATIONNEL DE L'ADVERSITÉ FAMILIALE

Le premier article de la thèse avait pour objectif d'examiner l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire réactive auprès de jumeaux âgés de 19 mois et de déterminer si ces contributions varient en fonction de l'adversité familiale, un indice composé de facteurs de risque prénataux et postnataux ayant déjà été associés à la sécrétion cortisolaire.

Cet article met en lumière l'action modératrice de l'adversité familiale sur les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaire réactive. En l'absence d'adversité familiale (situation propre à la majorité des familles), la réactivité cortisolaire s'explique par les facteurs génétiques et l'environnement unique (i.e., qui amplifie les différences entre les jumeaux d'une même paire). En présence d'adversité familiale, seuls les facteurs environnementaux communs et uniques aux jumeaux sont associés à la sécrétion cortisolaire réactive. Aucune contribution significative des facteurs génétiques n'est notée. La variation des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale met en lumière, pour la première fois chez l'humain, un effet organisationnel de l'environnement adverse sur la sécrétion cortisolaire réactive à la petite enfance. Les mécanismes impliqués demeurent toutefois à clarifier. L'une des hypothèses soulevées propose que l'exposition précoce à des contextes de vie adverses modifie la réactivité cortisolaire par le biais d'altérations des structures et circuits corticolimbiques plus sensibles à l'environnement pendant la petite enfance (ex. hippocampes et amygdales) (Gunnar & Vazquez, 2006). Chez les rongeurs, l'effet organisationnel de l'environnement précoce est lié à un mécanisme épigénétique impliquant les récepteurs glucocorticoïdes situés dans les hippocampes (Weaver et al.,

2004). Or, la généralisation de ces résultats tarde à se faire chez l'humain compte tenu que les rats et les primates se distinguent par une maturité cérébrale différente à la naissance et que la présence d'un effet épigénétique similaire n'a jamais été démontrée chez l'humain.

Les résultats du premier article soulignent également une contribution modérée des facteurs génétiques sur la sécrétion réactive en absence d'adversité familiale. L'héritabilité notée en présence de conditions environnementales normatives pourrait représenter un vecteur important par lequel certains individus montrent une plus grande vulnérabilité (ou résilience) au stress et à souffrir de psychopathologies (Boyce & Ellis, 2005; McEwen, 2003). Bien qu'un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce puisse être associé à une réponse cortisolaire atypique suite à un stress, il est aussi possible que d'autres mécanismes rendent certaines personnes vulnérables à l'émergence d'un patron sécrétion comparable en l'absence de conditions de vie adverses. Parmi ceux-ci figure l'action modératrice de gènes spécifiques (ex. gènes RG, 5-HTT), comme le suggère l'héritabilité du phénotype en absence de conditions de vie adverses.

Finalement, l'article montre une relation entre l'exposition à des conditions de vie adverses et l'émergence de patrons cortisolaires atypiques. Plus précisément, les enfants soumis à l'adversité familiale montrent une plus forte réactivité cortisolaire en réponse à la situation de nouveauté. L'adversité familiale est aussi marginalement associée à une réactivité cortisolaire réduite.

En conclusion, l'article souligne l'importance de l'exposition précoce à des conditions de vie adverses dans l'investigation du rôle de la sécrétion cortisolaire réactive à l'émergence de problèmes de santé mentale ultérieurs. Les résultats de cet article montrent aussi que les mécanismes liant la sécrétion cortisolaire atypique et la présence de psychopathologies diffèrent probablement en fonction de l'adversité vécue tôt au cours du développement.

3.2 ÉTIOLOGIE DE LA SÉCRÉTION CORTISOLAIRE DIURNE: CONTRIBUTIONS GÉNÉTIQUES ET ENVIRONNEMENTALES DISTINCTES AU RÉVEIL (MAISON) ET EN MATINÉE (LABORATOIRE)

Le deuxième article de la thèse avait pour objectif d'estimer les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaire mesurée au réveil et en matinée auprès de jumeaux âgés de 6 mois. Plus précisément, il s'agissait de déterminer si ces contributions varient en fonction de l'adversité familiale.

Cet article suggère pour la première fois chez l'humain que les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaire matinale, prélevée à l'arrivée des enfants au laboratoire, varient en fonction de l'adversité familiale. La mise en évidence d'une plus forte héritabilité du phénotype en contexte d'adversité familiale est conforme à un effet « diathèse-stress ». Ce résultat laisse supposer que les facteurs génétiques marquant une vulnérabilité (ou une résilience) sont plus susceptibles de s'exprimer lorsque les enfants sont soumis à des conditions environnementales difficiles (vs plus normatives). Un résultat similaire a été rapporté par Barr et son équipe (2004) qui notaient que les macaques âgés de 6 mois porteurs d'un allèle court du gène transporteur de la sérotonine (5-HTT) situé dans la région du promoteur *et* qui étaient élevés avec leurs pairs en l'absence de leur mère avaient une sécrétion cortisolaire plus faible avant le début d'une procédure de séparation (Barr et al., 2004). Chez l'humain, Jabbi et al. (2007) ont récemment montré une interaction entre la susceptibilité d'être atteints d'un trouble dépressif majeur (pour lequel la diathèse est de nature génétique et environnementale) *et* le gène du 5-HTT associée à la sécrétion cortisolaire notée avant le début de la situation expérimentale stressante (Jabbi et al., 2007). Finalement, Rautanen et al. (2006) ont aussi rapporté que l'interaction entre un petit poids à la naissance (marquant une adversité prénatale) et un haplotype du gène des récepteurs glucocorticoïdes (RG) était associée à une sécrétion cortisolaire plus élevée (Rautanen et al., 2006).

En absence d'adversité familiale (situation propre à la majorité des familles), les différences individuelles notées sur le plan de la sécrétion cortisolaire matinale étaient

exclusivement dues à l'environnement unique. Ce résultat concorde avec l'influence grandissante des facteurs environnementaux sur la sécrétion cortisolaires au cours de la journée, telle que notée antérieurement par d'autres études (Bartels, de Geus et al., 2003; Kupper et al., 2005).

Aucune variation significative des contributions génétiques et environnementales sur la sécrétion cortisolaires prélevée au réveil (maison) n'a été observée en fonction de l'adversité familiale. Ce résultat laisse entendre que l'adversité familiale ne modifie pas l'étiologie de ce phénotype à 6 mois. En l'absence d'un effet modérateur de l'adversité familiale sur les contributions génétiques et environnementales, la contribution modérée des facteurs génétiques sur la sécrétion cortisolaires au réveil est similaire aux estimés rapportés dans les études effectuées auprès d'enfants d'âge scolaire (Bartels, de Geus et al., 2003) et d'adultes (Kupper et al., 2005; Wüst, 2000). L'environnement commun ne contribue pas au phénotype; la ressemblance entre les jumeaux étant expliquée exclusivement par les facteurs génétiques (Bartels, de Geus et al., 2003; Kupper et al., 2005; Wüst, 2000). Finalement, la consistance des estimés rapportés dans les études effectuées auprès de participants d'âges différents évoque la possibilité que l'héritabilité du phénotype soit stable au cours du développement.

En résumé, des patrons étiologiques distincts sont notés pour les mesures cortisolaires diurnes prélevées à des heures différentes (réveil vs matin) et dans des contextes distincts (maison vs arrivée au laboratoire). Alors que les contributions génétiques et environnementales varient en fonction de l'adversité familiale pour la mesure matinale, la mesure effectuée au réveil ne montre pas une telle variation, suggérant que des mécanismes différents interviennent auprès de ces deux mesures. Ces mécanismes restent toutefois à être identifiés. Or, les différences relatives à l'heure des prélèvements (réveil vs matinée) et au contexte des prélèvements (maison vs arrivée au laboratoire) constituent des pistes d'interprétation à privilégier.

3.3 INTÉGRATION DES RÉSULTATS ET PISTES D'INTERPRÉTATION

Sans grande surprise, les articles de la thèse montrent que les facteurs génétique *et* environnementaux contribuent aux différences individuelles notées sur le plan de la sécrétion cortisolaires à la petite enfance. Ce qui retient d'abord l'attention, c'est le fait que nous obtenons des patrons génétiques et environnementaux distincts en fonction de l'adversité familiale pour les mesures diurnes effectuées au réveil (maison à 6 mois), en matinée (arrivée au laboratoire à 6 mois) et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (laboratoire à 19 mois). Rappelons d'abord qu'aucune variation des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale n'est notée sur la sécrétion au réveil. En revanche, les patrons étiologiques varient en fonction de l'adversité familiale pour les mesures prélevées au matin (6 mois) et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (19 mois). Pour la mesure du matin, l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux prend la forme d'un effet « diathèse-stress ». Cet effet se distingue par une plus forte héritabilité du phénotype en présence d'adversité familiale comparativement à ce qui est noté auprès des enfants exempts de cette condition. À l'inverse, l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux se traduit par un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce pour la réponse cortisolaires notée suite à la situation de nouveauté sociale et physique à 19 mois. Cet effet se manifeste par une contribution réduite des facteurs génétiques en présence d'adversité familiale contrebalancée par une plus forte contribution de l'environnement commun. L'interprétation des résultats obtenus est complexe puisqu'ils ne peuvent pas être directement comparés avec d'autres études génétiquement informatives menées auprès d'humains. Ceci étant, les résultats seront principalement interprétés à la lumière des connaissances issues d'études menées auprès de primates non humains et de rongeurs.

3.3.1 Patrons étiologiques distincts: considération des structures cérébrales sollicitées

Plusieurs pistes d'interprétation peuvent être proposées afin d'expliquer les patrons étiologiques distincts pour les trois indices cortisolaires examinés. Dans un premier temps, les mesures se distinguent par la prégnance de la composante tonique à la mesure effectuée

au réveil (matin à 6 mois) comparativement à la composante réactive liée aux mesures prélevées en matinée et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (6 et 19 mois).

Les modes de sécrétion cortisolaire tonique et réactive se distinguent sur plusieurs plans, notamment sur le plan des structures cérébrales et des récepteurs impliqués. Rappelons que la réactivité au stress dépend en grande partie de l'interprétation des stimuli externes et/ou internes perçus par un individu. À titre d'exemple, plus une situation est perçue comme étant nouvelle, imprévisible, incontrôlable ou menaçant l'intégrité physique, psychologique ou sociale d'un individu, plus cette personne risque de sécréter davantage de cortisol. Plusieurs structures corticolimbiques interviennent dans la réactivité au stress par le biais du traitement des stimuli provenant des organes et des aires cérébrales sensoriels. L'information traitée est ensuite transmise aux noyaux paraventriculaires (NPV) de l'hypothalamus qui intègrent les informations provenant de plusieurs aires cérébrales et induisent, s'il y a lieu, la sécrétion de l'hormone de libération de la corticotropine (HLC) (Compas, 2006; Kirschbaum & Hellhammer, 1994; Lopez et al., 1999; Olff et al., 2005; Taylor et al., 1997).

Chez les rongeurs et primates, la séparation maternelle prolongée et survenant tôt au cours du développement s'accompagne généralement d'une réduction du nombre de RG dans les hippocampes, l'hypothalamus et le cortex frontal, structures cérébrales justement sensées moduler la réactivité au stress (Ladd, Owens, & Nemeroff, 1996). Par ailleurs, les élévations prolongées des glucocorticoïdes (possiblement liées à la réduction des RG) sont accompagnées d'une inhibition de la neurogénèse et d'une dégénérescence des structures neuronales (ex. arborisation des neurones) dans les structures cérébrales où les RG abondent (région CA3 des hippocampes, hypothalamus, cortex frontal). Les changements notés dans ces structures suite à l'exposition à des conditions de vie adverses précoces constitueraient un mécanisme par lequel l'adversité modulerait la sécrétion des glucocorticoïdes en réponse à un stress et la latence à mettre fin à cette réponse (Sapolsky et al., 2000).

Les études menées par Meaney et ses collègues ont aussi souligné le rôle des RG et des hippocampes dans la relation entre les comportements maternels et la réactivité au stress pendant la période d'hyporéactivité au stress (PHRS), période du développement considérée comme particulièrement « sensible » à l'influence de l'environnement (Meaney, 2001). Plus précisément, les comportements maternels prodigués entre les 4^{ème} et 14^{ème} jours suivant la naissance des rats provoquent des changements stables dans la méthylation de la structure de la chromatine du gène promoteur des RG dans les hippocampes, ce qui modifie l'expression génétique et l'efficacité des RG présents dans les hippocampes et donc, la sécrétion réactive de corticostérone (Weaver et al., 2004). L'exposition à ces contextes adverses n'entraîne cependant pas de changements notables dans la sécrétion tonique (Levine, 2005).

Alors que les élévations répétées et prolongées des glucocorticoïdes réduisent l'action inhibitrice des hippocampes sur l'axe HPS en situation de stress (par le biais de changements dans la répartition, le nombre et la sensibilité des RG), un autre mécanisme sous-tendrait le rôle des amygdales dans cette association. Plus spécifiquement, l'exposition à des contextes adverses a été associée à une augmentation de la concentration de la corticotropine (HLC) et de l'activité des récepteurs du HLC dans les amygdales (Gehlert et al., 2005). Puisque les noyaux basaux latéraux des amygdales montrent une grande plasticité aux élévations de HLC et d'autres substrats (5-HT, NA), les conditions environnementales à l'origine de ces élévations produiraient une réduction de la sensibilité des amygdales à l'action inhibitrice de ses structures afférentes (ex. cortex frontal). Ce changement induirait donc une augmentation de l'action excitatrice des amygdales sur l'axe HPS. En d'autres mots, les amygdales enverraient de plus en plus de signaux erronés indiquant une menace perçue à l'axe HPS parce que son activité ne serait plus correctement régulée (inhibée) par ses structures afférentes (Shekhar et al., 2005). Ces changements physiologiques induits par des contextes adverses précoces donneraient lieu à une augmentation subséquente de la sécrétion cortisolairé réactive.

Les structures corticolimbiques qui modulent la réponse cortisolairé au stress seraient, somme toute, peu impliquées dans la sécrétion cortisolairé tonique, alors que

d'autres structures apparaissent davantage liées à ce phénotype. Ainsi, les noyaux suprachiasmatiques (NSC), situés à l'intérieur de l'hypothalamus, contribueraient, par leur action inhibitrice et excitatrice sur l'hypothalamus, à moduler la sécrétion cortisolaire selon le rythme circadien attendu. Les NPV seraient aussi engagés dans l'émergence du cycle circadien et ce, particulièrement à la période du réveil. Chez les primates non humains, les conditions de vie adverses précoces ne semblent pas affecter le nombre de neurones sécrétant de HCL dans le NPV, les concentrations de HCL/vassopressine et le nombre de récepteurs de HCL/vassopressine dans l'hypothalamus (incluant le NPV) (Sanchez, Young, Mathys, Plotsky, & Insel, 1999; Sanchez, Ladd, & Plotsky, 2001). La difficulté à répertorier les effets structuraux de l'adversité précoce au niveau des structures qui composent l'axe HPS (ex. hypothalamus) et qui régulent la sécrétion cortisolaire tonique laisse présager la maturité de ces structures à la naissance chez les primates (comparativement à l'immaturité de ces structures à la naissance chez les rongeurs), réduisant ainsi leur sensibilité à l'environnement postnatal. Inversement, les structures corticolimbiques liées à la régulation de la sécrétion cortisolaire réactive pourraient être davantage affectées par les conditions adverses précoces compte tenu de leur immaturité à la naissance (Sanchez et al., 2001).

En somme, il est possible que les patrons étiologiques distincts de sécrétion cortisolaire tonique et réactive reflètent la régulation de différentes structures cérébrales (en plus, évidemment, de certaines structures communes) qui, par ailleurs, ne présenteraient pas une même sensibilité à l'influence de l'environnement postnatal.

3.3.2 Patrons étiologiques distincts: considération des périodes de sensibilité des structures cérébrales liées à l'axe HPS

Avant de pousser davantage, il convient ici de rappeler que ce sont généralement les structures cérébrales les plus immatures qui montrent une plasticité accrue à l'environnement. Selon ce principe, les expériences postnatales devraient exercer une influence accrue sur les régions cérébrales qui poursuivent leur développement après la naissance. Étant donné que les composantes de l'axe HPS (incluant les NSC et le NPV de

l'hypothalamus) sont matures chez les primates à la naissance (Antonini et al., 2000), l'adversité postnatale aurait un impact direct (organisationnel) limité sur ces structures (référez-vous à la Figure 3 insérée dans l'introduction générale). De ce fait, un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce serait moins susceptible d'être noté sur le plan de la sécrétion cortisolaire tonique, ce qui est d'ailleurs rapporté dans le deuxième article de la thèse pour la mesure du réveil (maison). Par ailleurs, les résultats issus d'études de jumeaux laissent aussi entendre que la sécrétion cortisolaire notée pendant la période du réveil apparaît plus fortement influencée par les facteurs génétiques comparativement aux mesures effectuées plus tard au cours de la journée (Bartels, de Geus et al., 2003; Kupper et al., 2005).

En revanche, les structures limbiques et corticales en amont de l'axe HPS (ex. hippocampes, amygdales et cortex frontal) montrent plusieurs signes d'immatunité à la naissance. Cet état d'immatunité peut être notable au niveau structurel (i.e. à l'intérieur des structures) (ex. processus d'élimination et de compétition, myélinisation, arborisation des dendrites et des axones) et sur le plan de l'établissement d'interconnexions stables (i.e. circuits) définissant les « voies de communication » entre plusieurs régions cérébrales (Giedd, Shaw, Wallace, Gogtay, & Lenroot, 2006; Knudsen, 2004). Au niveau structurel, le développement des amygdales serait complété à la naissance de l'enfant, alors que la maturation des hippocampes et du cortex frontal s'accroîtrait entre le 12^{ème} et 24^{ème} mois et à l'âge préscolaire jusqu'à la fin de l'adolescence, respectivement (Kanemura et al., 1999; Ulfig, Setzer, & Bohl, 2003; Utsunomiya, Takano, Okazaki, & Mitsudome, 1999). Dans un deuxième temps, rappelons qu'il est plus difficile d'induire une réponse cortisolaire à un stress à partir de la fin de la première année postnatale chez l'humain, une période qui correspondrait à la PHRS notée chez les rongeurs. Bien que l'existence d'une PHRS chez l'humain demeure controversée, certains chercheurs évoquent la possibilité que les soins donnés par une personne significative pour l'enfant moduleraient l'activation et la régulation de l'axe HPS en situation de stress à cette période. L'acquisition des capacités d'autorégulation (par le biais notamment d'un lien d'attachement sécure avec cette personne) concorde avec l'émergence de la PHRS à cette période du développement. Cette synchronicité pourrait ne pas être aléatoire. En effet, les structures corticolimbiques

exercent une action modératrice sur la sécrétion cortisolaire réactive en permettant l'interprétation des stimuli sensoriels en regard du soutien disponible dans l'environnement immédiat (perçu ou réel, incluant les ressources personnelles de l'enfant). L'existence d'une PHRS chez l'humain limiterait ainsi, comme cela est proposé chez les rongeurs et les autres mammifères, les élévations excessives de cortisol à un moment où certaines structures corticolimbiques sont en pleine maturation. En définitive, la PHRS favoriserait l'émergence d'une plus grande résilience au stress en protégeant le développement des structures et des circuits justement impliqués dans la régulation de la sécrétion cortisolaire réactive. À l'inverse, l'exposition précoce à des environnements adverses pendant la PHRS modifierait le développement des structures et des circuits corticolimbiques impliqués dans la réactivité au stress (Gunnar & Quevedo, 2007; Gunnar & Vazquez, 2006). Ces modifications pourraient, par la suite, être associées à une plus grande vulnérabilité au stress et à l'émergence de patrons cortisolaires atypiques.

En somme, il est possible que l'exposition précoce à des environnements adverses ait un effet organisationnel sur la sécrétion cortisolaire et ce, particulièrement lorsque les structures impliquées sont immatures et/ou sont en voie de sélectionner les circuits qui définiront les interconnexions prévilégiées avec d'autres structures cérébrales. En conséquence, l'obtention de patrons étiologiques distincts pour la mesure prise au réveil (mesure tonique; absence d'effet modérateur de l'adversité familiale) et les mesures prélevées en matinée et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (mesures comportant une composante réactive; effet modérateur de l'adversité familiale) pourrait s'expliquer par la maturité des structures liées à la sécrétion tonique à la naissance. De ce fait, la maturation et la fonction de ces structures seraient moins susceptibles d'être « organisées » par l'environnement. À l'inverse, les structures sollicitées dans le cadre de la sécrétion réactive présentent une certaine immaturité à la petite enfance et seraient plus sensibles à l'influence de l'environnement à cette période du développement.

Le même rationnel pourrait également contribuer à expliquer les patrons étiologiques distincts pour la mesure du matin (6 mois) et la réponse à un stress de nouveauté sociale et physique noté plus tard au cours du développement (19 mois). En effet, il est possible que

ces périodes de la petite enfance soient caractérisées par une sensibilité différente des structures corticolimbiques liées à la réactivité au stress à l'environnement. À titre d'exemple, le volume des hippocampes augmente abruptement entre le 12^{ième} et 24^{ième} mois. De la même façon, la fin de la première année de vie serait également marquée par le début de la PHRS au cours de laquelle, les interconnexions privilégiées entre les structures corticolimbiques seraient sélectionnées (Gunnar & Quevedo, 2007). Ceci étant, l'accélération des processus de maturation se déroulant lors des prélèvements salivaires effectués à 19 mois (structural au niveau des hippocampes et des interconnexions pour les structures environnantes) pourrait marquer une plus grande sensibilité à l'environnement et donc, une probabilité plus forte que l'environnement adverse exerce un effet organisationnel sur la sécrétion cortisolaire réactive à cette période de la petite enfance.

À la différence, les structures cérébrales impliquées dans la sécrétion cortisolaire réactive seraient moins sensibles à l'influence de l'environnement au cours de la première année. L'exposition de celles-ci à des environnements adverses durant cette période du développement risque donc moins d'induire un effet organisationnel de l'environnement sur la sécrétion cortisolaire réactive. Plutôt, les structures cérébrales sollicitées dans la régulation de la sécrétion cortisolaire réactive « interagiraient » davantage avec l'environnement, ce qui serait consistant avec un effet « diathèse-stress ». En accord avec cette hypothèse, les résultats rapportés par Barr et son équipe (2004) montrent que l'allèle court du rh-5HTTLPR est lié à une sécrétion moindre de cortisol avant le début de la procédure expérimentale et ce, exclusivement auprès de macaques âgés de 6 mois élevés avec leurs pairs (Barr et al., 2004). La prise en compte d'un seul polymorphisme dans ces études limite toutefois la comparaison de ces résultats avec ceux qui sont rapportés dans le deuxième article. En effet, la contribution des facteurs génétiques mis en lumière en présence d'adversité familiale renvoie à l'estimé de *toutes les contributions génétiques latentes* et non pas seulement l'effet d'un seul gène candidat (ex. 5-HTT).

En conclusion, l'obtention de profils distincts pour les mesures cortisolaires effectuées en matinée à 6 mois et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique à 19 mois pourrait être dû à une sensibilité différente de certaines structures et des

circuits corticolimbiques à ces périodes de la petite enfance. Cette piste d'interprétation est toutefois limitée par plusieurs facteurs importants. Premièrement, il existe une certaine ambiguïté quant à la nature de la mesure effectuée en matinée lors de l'arrivée de la famille au laboratoire (6 mois). En effet, bien que cette mesure semble davantage présenter une composante réactive, il est difficile d'identifier les stimuli exacts qui auraient pu induire une réponse cortisolaire chez certains enfants, de déterminer si tous les enfants ont été exposés à ces stimuli (exposition aléatoire ou sélective) et de quantifier leurs effets. Sachant que l'heure des prélèvements salivaires diurnes (i.e., réveil et matinée) ne se distingue pas en fonction du statut d'adversité familiale et que toutes les familles ont utilisé le même moyen de transport pour se rendre au laboratoire (taxi), il apparaît peu probable que la nature des stimuli présentés avant l'arrivée au laboratoire diffère grandement en fonction du statut d'adversité familiale.

L'ambiguïté liée à cette mesure a aussi pour conséquence qu'il est impossible de déterminer si ces stressors étaient *absolus* (i.e., suscitent une réponse chez la plupart des individus) ou *relatifs* (i.e., induisent une réponse variable, plus marquée chez certains individus) (Lupien et al., 2006). Dans le cas où les stimuli étaient *relatifs*, est-ce qu'un traitement cognitif a été effectué afin d'interpréter la « menace » perçue en fonction du contexte? Dans quelle mesure des enfants âgés de 6 mois traitent-ils cognitivement les stimuli sensoriels *relatifs* et modulent-ils en conséquence leur réponse cortisolaire? Ces questions sont importantes parce que certains stimuli *absolus* ou nécessitant un traitement cognitif limité (ex. stimuli induisant une réponse motrice réflexe) peuvent induire l'activation de l'axe HPS au niveau des NPV via le tronc cérébral sans passer par les structures et circuits corticolimbiques (Gunnar & Vazquez, 2006). Les stimuli *relatifs* induisent l'activation de l'axe HPS au niveau des NPV par l'intermédiaire des voies efférentes corticolimbiques (ex. références sociales). Dans ce contexte, le traitement limité des stimuli environnementaux à 6 mois (arrivée en laboratoire) compliquerait la mise en évidence d'un effet organisationnel de l'adversité familiale au niveau des structures et des circuits corticolimbiques et, conséquemment, sur le plan de la sécrétion cortisolaire matinale.

Finalement, il est possible que la nature du stresser et la durée de l'exposition à l'adversité familiale soit aussi liée à la mise en évidence d'un effet organisationnel de l'adversité familiale sur la mesure réactive à 19 mois. Aucune recherche n'a exploré cette question dans un contexte génétiquement informatif. Or, les résultats issus d'une récente méta-analyse laissent entendre que l'activité de l'axe HPS en contexte de stress dépend de plusieurs facteurs, dont la chronicité de l'exposition à l'agent stressant, la nature du stress présenté et la perception subjective des individus concernés (Miller et al., 2007). Plus précisément, les concentrations de cortisol tendraient à être plus élevées peu de temps après l'apparition du stress chronique (hyperactivité de l'axe HPS) et diminueraient par la suite, jusqu'à atteindre des concentrations inférieures à celles qui étaient présentes avant sa première occurrence (hypoactivité de l'axe HPS). Le rôle joué par la chronicité de l'adversité familiale aurait avantage à être investigué dans le cadre d'une étude prospective impliquant des mesures cortisolaire toniques *et* réactives à plusieurs moments au cours de l'enfance et de l'adolescence. De cette façon, les hypothèses alternatives que constituent la sensibilité différentielle de certaines structures et des circuits corticolimbiques au cours du développement et la chronicité de l'exposition à des conditions de vie adverses pourraient être examinées de façon plus approfondie.

En somme, l'obtention de patrons étiologiques distincts en fonction de l'adversité familiale pour les mesures prises au réveil (maison à 6 mois), en matinée (laboratoire à 6 mois) et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (laboratoire à 19 mois) pourrait s'expliquer par deux pistes d'interprétation principales. La première évoque la possibilité que la sécrétion cortisolaire tonique et réactive sollicite la participation de structures cérébrales différentes. La deuxième piste d'interprétation, liée à la première, ajoute que les structures cérébrales liées à la sécrétion cortisolaire tonique et réactive ne montrent pas le même degré de maturité à la naissance et donc, la même sensibilité aux influences environnementales. Par ailleurs, les structures et circuits corticolimbiques impliqués dans la sécrétion réactive ne montrent pas une sensibilité constante à l'influence de l'environnement au cours de la petite enfance. Fait intéressant, les mesures effectuées à l'arrivée au laboratoire à 6 mois et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique à 19 mois ne sont pas associées (corrélées). Il se pourrait donc que différents

mécanismes de régulation soient interpellés pour ces deux mesures effectuées à des âges différents. Il est certain que l'activation et la régulation de l'axe HPS impliquent plusieurs autres facteurs, structures cérébrales et corrélats physiologiques. Les pistes d'interprétation présentées ici ne sont donc pas exhaustives, mais proposent certains mécanismes par lesquels l'adversité familiale modulerait l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire à la petite enfance.

Il se dégage des articles empiriques que la richesse de la thèse se manifeste non seulement par le caractère novateur des résultats présentés, mais également par le nombre de questions qu'elle soulève. En effet, la thèse a examiné l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire à la petite enfance et a montré pour une première fois chez l'humain que l'environnement adverse précoce exerce un effet « organisationnel » sur la réponse cortisolaire à une situation de nouveauté sociale et physique (19 mois) tout en exerçant un contrôle des facteurs génétiques.

3.4 LIMITES DE LA THÈSE ET ÉTAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

Malgré ces aspects novateurs, la thèse présente trois limites principales qu'il importe de prendre en compte dans l'interprétation des résultats. La première limite, et de loin la plus importante, est sans aucun doute le fait d'avoir évalué la sécrétion cortisolaire par le biais de mesures isolées. Pour la mesure réactive effectuée à 19 mois, le prélèvement d'une seule mesure salivaire en pré-test implique la possibilité que cette mesure reflète la réactivité de l'enfant à la nouveauté de l'environnement physique (laboratoire). D'autres mesures pré-tests auraient permis de qualifier l'habituation des enfants au laboratoire avant le début de la situation expérimentale. De surcroît, compte tenu que les individus diffèrent généralement quant au temps nécessaire pour atteindre leur sécrétion maximale (parfois \pm 5-10 minutes), l'ajout de mesures post-tests aurait permis de préciser l'élévation cortisolaire maximale.

Le prélèvement d'une seule mesure salivaire au réveil comporte aussi plusieurs limites. En effet, cette mesure pourrait avoir été influencée par plusieurs facteurs

confondants (ex. qualité du sommeil et santé physique) dont l'impact aurait pu être minimisé par des prélèvements multiples. Néanmoins, la mesure présente l'avantage considérable d'avoir été effectuée à la maison (environnement connu) et selon l'horaire de l'enfant (aucun réveil forcé). À la différence de la mesure tonique prélevée au réveil, la mesure du matin a été prise à l'arrivée en laboratoire à une heure où certains enfants font une sieste. Il est donc possible que cette mesure diurne reflète davantage la réactivité de l'enfant en réponse à une dérogation de sa routine (ex. sortie de la maison, utilisation d'un moyen de transport, arrivée au laboratoire et être maintenu réveillé) plutôt que le reflet de sa concentration basale habituelle à ce moment de la journée. Un prélèvement salivaire « contrôle » effectué à la maison à la même heure aurait permis de mieux apprécier la nature de cette mesure. Par ailleurs, même si tout porte à croire que la mesure du matin comporte une composante réactive, il nous est impossible de préciser les facteurs qui auraient pu susciter une telle réactivité et si ces facteurs ont eu un effet similaire pour tous les enfants. Il est toutefois intéressant de noter que les mesures effectuées au réveil et en matinée à 6 mois montre le patron circadien attendu (plus forte concentration au réveil comparativement au matin) et ce, même si ces mesures ont été prélevées à un intervalle moyen de deux semaines. En résumé, la prise de mesures uniques implique une plus grande variabilité intraindividuelle, ce qui pourrait avoir amplifié l'estimé de la contribution de l'environnement unique (qui inclut le terme d'erreur). De façon plus importante, l'absence d'une mesure de contrôle prélevée à la maison au matin complique l'interprétation des résultats issus de la mesure effectuée à l'arrivée au laboratoire à 6 mois.

La deuxième limite renvoie au fait que la « situation nouvelle » consistait en un stress de nouveauté sociale et physique d'intensité modérée qui n'a pas résulté en une augmentation de la sécrétion cortisolique chez l'ensemble des jumeaux ayant participé à la situation expérimentale. La difficulté à induire une réponse cortisolique en laboratoire à cet âge est fréquemment rapportée et renforce l'hypothèse selon laquelle il existerait une PHRS au cours de la petite enfance (Gunnar & Quevedo, 2007). Il est néanmoins intéressant de constater que l'effet organisationnel de l'adversité précoce est noté en dépit de la nature « modérée » de la situation de stress présentée et des facteurs de risque liés à la présence d'adversité familiale, ce qui suggère une certaine robustesse des résultats.

La troisième limite concerne l'impossibilité de déterminer si l'effet modérateur de l'adversité familiale mis en lumière dans les articles 1 et 2 s'explique par une médiation génétique, environnementale ou mixte. Lors d'une prochaine étude, il importerait de privilégier des indices d'adversité familiale qui ont été mesurés séparément pour chaque enfant (et qui présentent une variabilité suffisante entre les jumeaux d'une même paire) plutôt que de prendre en compte des indices d'adversité mesurés au niveau de la famille. De cette façon, il sera possible de clarifier la médiation génétique ou environnementale de la condition adverse proposée.

3.5 AVENUES DE RECHERCHE PROMETTEUSES

La présente thèse de doctorat est caractérisée par l'éclairage novateur porté sur l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaires à la petite enfance et se distingue encore plus par le nombre de questions nouvelles qu'elle suscite. Certaines de ces questions sont ici présentées.

3.5.1 La stabilité des patrons étiologiques

La thèse a mis en évidence une variation des contributions génétiques et environnementales en fonction de l'adversité familiale pour les mesures effectuées en matinée (6 mois) et en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique (19 mois). Il importe maintenant d'examiner la stabilité temporelle de ces estimés afin de documenter la portée des résultats mis en évidence à la petite enfance sur la sécrétion cortisolaires notée plus tard au cours du développement. Il serait aussi intéressant de refaire cet examen pour la sécrétion cortisolaires au réveil. Alors que les résultats issus d'études transversales conduites auprès de participants d'âge différents suggèrent la stabilité de l'héritabilité du phénotype, seule une étude longitudinale pourrait corroborer avec certitude cette conclusion.

Par ailleurs, les études menées auprès de rongeurs montrent que même si les effets organisationnels de l'environnement précoce tendent à perdurer au cours du développement, ces changements seraient parfois réversibles (Jablonka, 2004; Weaver et al., 2004; Weaver et al., 2005). En effet, Weaver et ses collègues (2005) ont démontré que les effets induits par les comportements maternels sur la méthylation, l'expression du gène des RG et la réactivité au stress peuvent être annulés chez les rats adultes par le biais d'une modification pharmacologique de la structure de la chromatine (Weaver et al., 2005). En conclusion, même si les résultats de la thèse montre que l'adversité familiale a un effet organisationnel sur la réactivité cortisolaire à 19 mois qui pourrait perdurer dans le temps (aspect qui reste à démontrer), la réversibilité des transmissions épigénétiques chez les rongeurs ouvre la voie à de nouvelles opportunités de recherche chez les humains, qui pourraient avoir des répercussions tant sur les plans de la recherche fondamentale que de la recherche clinique.

3.5.2 Une étude approfondie des gènes mesurés

Les résultats rapportés dans les articles empiriques soulignent l'importance de la contribution des *facteurs génétiques latents* dans la sécrétion cortisolaire tonique et réactive. Ainsi, il apparaît de plus en plus pertinent d'identifier les polymorphismes génétiques potentiellement associés à la sécrétion cortisolaire (ex. liés au 5-HTT, RG et MAOA). Par ailleurs, ces études auraient avantage à investiguer le rôle modérateur de l'exposition précoce à des conditions de vie adverses dans l'examen de ces associations. Les résultats rapportés dans la thèse permettent d'anticiper: 1) une contribution modérée des facteurs génétiques latents indépendamment de l'adversité familiale au réveil (6 mois), 2) une forte contribution des facteurs génétiques latents en présence d'adversité familiale à la mesure matinale (6 mois) et 3) une contribution modérée des facteurs génétiques latents en absence d'adversité familiale à la mesure réactive (19 mois). En conséquence, la prise en compte de l'adversité en tant que facteur modérateur permettrait de maximiser la puissance des études à identifier les polymorphismes associés à la sécrétion cortisolaire tonique et/ou réactive.

3.5.3 Une étude approfondie des environnements mesurés

Afin de pallier l'un des aspects limitant la généralisation des résultats à d'autres populations, il serait pertinent d'investiguer les variations des contributions génétiques et environnementales en fonction de d'autres conditions environnementales adverses ayant été associées à la sécrétion cortisolaire (ex. abus physique, pauvreté économique, dépression maternelle, sensibilité des parents aux besoins de l'enfant). Un examen approfondi du rôle joué par ces environnements dans les contributions génétiques et environnementales de la sécrétion cortisolaire contribuerait aussi à identifier « les ingrédients actifs » communs à ces contextes afin de préciser les mécanismes impliqués dans l'émergence de patrons cortisolaires atypiques et de la propension accrue de certains individus à souffrir d'une psychopathologie. L'identification de ces « ingrédients actifs » permettrait aussi de mieux cibler les enfants qui risquent de montrer des patrons cortisolaires atypiques en contextes d'adversité et ainsi, planifier des interventions mieux ciblées sur les mécanismes mis en cause.

3.5.4 Considérations temporelles : séquence des évènements et chronicité de l'adversité

Les résultats présentés dans le premier article de la thèse soulignent un effet organisationnel de l'adversité familiale qui se traduit par une plus grande réactivité cortisolaire en réponse à une situation de nouveauté sociale et physique à 19 mois. Or, aucune relation significative est notée entre l'adversité familiale et la sécrétion cortisolaire à 6 mois. Considérant que les études examinant la relation entre les conditions environnementales adverses et la sécrétion cortisolaire sont pour la plupart transversales et diffèrent sur plusieurs aspects méthodologiques (âge des participants, disparité des mesures cortisolaires effectuées et conditions adverses examinées), il est difficile de déterminer si les premiers signes de l'adversité familiale apparaissent sur le plan de la sécrétion tonique ou réactive. Chez les primates non humains, la modification de la réactivité de l'axe HPS à la suite de stress présentés de façon répétée durant l'enfance précède l'émergence de sécrétions cortisolaires toniques atypiques au cours de la période juvénile. De surcroît, plus la réactivité au stress était élevée, plus ces individus montraient ultérieurement un patron

cortisolaires plat au cours de la journée (Sanchez, 2006). Ainsi, les changements survenus dans la sécrétion réactive étaient associés à l'émergence de patrons de sécrétion tonique atypiques plus tard au cours du développement.

Pour déterminer la séquence temporelle des changements induits par l'adversité environnementale précoce sur la sécrétion cortisolaire et le rôle de la chronicité de l'adversité dans ces relations, il importerait d'étudier le rôle de l'adversité sur la sécrétion cortisolaire de façon prospective incluant plusieurs mesures cortisolaires toniques et réactives au cours de l'enfance. À titre d'exemple, ces mesures permettraient de déterminer si l'adversité familiale exerce un effet organisationnel sur la sécrétion cortisolaire réactive au cours de la période scolaire ou si cet effet est limité à la petite enfance. Ce type d'études longitudinales contribuerait aussi à mieux situer la PHRS au cours du développement.

3.5.5 *Exposition à un environnement adverse précoce et processus cognitifs*

La mise en évidence d'un effet organisationnel de l'environnement adverse précoce sur la sécrétion cortisolaire réactive souligne l'importance des expériences adverses vécues à l'enfance, période où la plasticité cérébrale est importante. Tout porte à croire que l'influence exercée par l'adversité précoce sur certaines structures cérébrales (ex. hippocampes) n'affecterait pas seulement la sécrétion cortisolaire mais aussi, par voie de conséquences, d'autres activités de l'organisme. En effet, les élévations cortisolaires semblent aussi jouer un rôle important dans la potentialisation à long terme (PLT) des hippocampes. La PLT consiste en une modification durable de l'efficacité de la transmission synaptique survenant entre deux neurones, résultant en une connexion synaptique prolongée entre ces neurones. La PLT représenterait la base moléculaire de l'apprentissage et de la mémorisation (Bremner & Vermetten, 2001). En d'autres mots, les élévations cortisolaires concomitantes à l'exposition à des conditions de vie adverses à la petite enfance seraient associées à une plus forte PTL au niveau des hippocampes, ce qui favoriserait la formation et la mémorisation des engrammes (trace biologique de la mémoire). Ces engrammes se regrouperaient ensuite en réseau (selon la théorie de Hebb), ce qui pourrait permettre la formation de schémas cognitifs de base. Les schémas cognitifs

de base sont des idées centrales autour desquelles l'individu organise les perceptions de soi et des autres (Beck, 1995). Ces schémas cognitifs de base (positifs ou négatifs) correspondraient donc à « l'expérience » de l'individu en regard du contexte adverse auquel il a été soumis. Les changements neuronaux à la base de la formation des schémas cognitifs influenceraient donc par la suite la perception de l'individu (ex. réactivité au stress), l'adoption de certains comportements (ex. comportements protecteurs vs autodestructeurs) et seraient liés à la vulnérabilité (résilience) de souffrir d'une pathologie (Cicchetti & Blender, 2006).

Les mécanismes moléculaires proposés être associés à la formation des schémas cognitifs négatifs dans des contextes « perçus » comme adverses pourraient représenter un autre mécanisme par lequel l'adversité précoce serait associée à une plus grande réactivité au stress et à un risque accru de développer une psychopathologie. Finalement, il serait intéressant d'examiner le rôle de certaines interventions (ex. amélioration de la qualité des soins offerts à l'enfant, psychothérapie, pharmacothérapie) sur les changements survenant à la fois sur le plan de la sécrétion cortisolaire et des schémas cognitifs (incluant les pensées automatiques). Si elles s'avéraient efficaces, ces interventions pourraient éventuellement être envisagées afin de prévenir l'émergence de certaines pathologies auprès de groupes d'enfants à risque.

3.5.6 Émergence de patrons cortisolaires atypiques : la pointe de l'iceberg

Alors que la sécrétion cortisolaire exerce à court terme une action protectrice en favorisant l'adaptation de l'organisme à des contextes de vie changeants, l'effet cumulé de ces élévations peut être dommageable à long terme (McEwen & Wingfield, 2003). L'action protectrice et dommageable du cortisol ne s'effectue toutefois pas dans un vase clos, mais selon une action concertée impliquant d'autres corrélats physiologiques marquant également la présence d'une surcharge allostatique (catécholamines, DHEA, pression sanguine, indices glycémiques, etc.). En conséquence, l'une des voies de recherche prometteuses afin de mieux comprendre le rôle des conditions de vie adverses sur l'émergence des psychopathologies serait de considérer plusieurs indices physiologiques

liés à la surcharge allostatique (incluant le cortisol). Il serait ainsi possible de créer un algorithme reflétant la surcharge exercée par l'exposition à des contextes de vie adverses (perçus ou réels) afin d'examiner sa valeur prédictive quant à l'émergence des problèmes de santé physique et mentale ultérieurs des enfants soumis à des conditions de vie difficiles au cours de leur petite enfance.

3.6 CONCLUSION

La thèse de doctorat avait pour objectif de mieux comprendre l'étiologie génétique et environnementale de la sécrétion cortisolaire à la petite enfance en accordant une attention soutenue à l'adversité familiale. Les résultats présentés dans les articles empiriques se distinguent par leur caractère novateur, particulièrement en ce qui concerne la mise en lumière d'un effet organisationnel de l'adversité familiale sur la réponse cortisolaire suite à une situation de nouveauté sociale et physique. Bien qu'important, les résultats issus de la thèse ne jettent la lumière que sur une infime parcelle des mécanismes par lesquels la sécrétion cortisolaire modulerait la vulnérabilité (ou la résilience) de l'individu aux conditions de vie stressantes. L'acquisition de nouvelles connaissances dans ce domaine permettra, je l'espère, de mieux comprendre la propension d'un individu à souffrir d'une psychopathologie et ainsi, prévenir et intervenir plus efficacement l'émergence de ces pathologies.

RÉFÉRENCES (CHAPITRES 1 ET 3)

- Adler, N. E., Boyce, T., Chesney, M. A., Cohen, S., Folkman, S., Kahn, R. L., et al. (1994). Socioeconomic status and health. The challenge of the gradient. *American Psychologist*, 49(1), 15-24.
- Ahnert, L., Gunnar, M. R., Lamb, M. E., & Barthel, M. (2004). Transition to child care: associations with infant-mother attachment, infant negative emotion, and cortisol elevations. *Child Development*, 75(3), 639-650.
- Ainsworth, M. D. S., & Wittig, B. A. (1969). Attachment and exploratory behavior of one-year-olds in a strange situation. In B. M. Foss (Ed.), *Determinants of infant behavior* (Vol. 4, pp. 111-136). London: Methuen.
- Antonini, S. R., Jorge, S. M., & Moreira, A. C. (2000). The emergence of salivary cortisol circadian rhythm and its relationship to sleep activity in preterm infants. *Clinical Endocrinology*, 52(4), 423-426.
- Ashman, S. B., Dawson, G., Panagiotides, H., Yamada, E., & Wilkinson, C. W. (2002). Stress hormone levels of children of depressed mothers. *Development and Psychopathology*, 14(2), 333-349.
- Bakshi, V. P., & Kalin, N. H. (2000). Corticotropin-releasing hormone and animal models of anxiety: Gene-environment interactions. *Biological Psychiatry*, 48, 1175-1198.
- Barr, C. S., Newman, T. K., Shannon, C., Parker, C., Dvoskin, R. L., Becker, M. L., et al. (2004). Rearing condition and rh5-HTTLPR interact to influence limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in infant macaques. *Biological Psychiatry*, 55(7), 733-738.
- Bartels, M., de Geus, E. J. C., Kirschbaum, C., Sluyter, F., & Boomsma, D. I. (2003). Heritability of daytime cortisol levels in children. *Behavior Genetics*, 33(4), 421 - 433.
- Bartels, M., Van den Berg, M., Sluyter, F., Boomsma, D. I., & de Geus, E. J. C. (2003). Heritability of cortisol levels: review and simultaneous analysis of twin studies. *Psychoneuroendocrinology*, 28(2), 121 - 137.

- Bauer, A. M., Quas, J. A., & Boyce, W. T. (2002). Associations between physiological reactivity and children's behavior: advantages of a multisystem approach. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics, 23*(2), 102-113.
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (1996). *Neuroscience: Exploring the brain*. USA: Williams & Wilkins.
- Beck, J. S. (1995). *Cognitive therapy: Basics and beyond*. New York: Guilford Press.
- Bellivier, F., Henry, C., Szöke, A., Schurhoff, F., Nosten-Bertrand, M., Feingold, J., et al. (1998). Serotonin transporter gene polymorphisms in patients with unipolar or bipolar depression. *Neuroscience Letters, 255*(3), 143-146.
- Bellivier, F., Szöke, A., Henry, C., Lacoste, J., Bottos, C., Nosten-Bertrand, M., et al. (2000). Possible association between serotonin transporter gene polymorphism and violent suicidal behavior in mood disorders. *Biological Psychiatry, 48*(4), 319-322.
- Bennett, A. J., Lesch, K. P., Heils, A., Long, J. C., Lorenz, J. G., Shoaf, S. E., et al. (2002). Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Molecular Psychiatry, 7*(1), 118-122.
- Booth, A., Carver, K., Granger, D. A. (2000). Biosocial perspectives on the family. *Journal of the Marriage and the Family, 62*(4), 1018-1034.
- Boyce, T. W., & Ellis, B. J. (2005). Biological sensitivity to context : I. An evolutionary-developmental theory of the origins and functions of stress reactivity. *Development and psychopathology, 17*, 271-301.
- Bradbury, M. J., Akana, S. F., & Dallman, M. F. (1994). Roles of type I and II corticosteroid receptors in regulation of basal activity in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis during the diurnal trough and the peak: evidence for a nonadditive effect of combined receptor occupation. *Endocrinology, 134*(3), 1286-1296.
- Bremner, J. D., & Narayan, M. (1998). The effects of stress on memory and the hippocampus throughout the life cycle: implications for childhood development and aging. *Development and Psychopathology, 10*(4), 871-885.
- Bremner, J. D., & Vermetten, E. (2001). Stress and development: behavioral and biological consequences. *Development and psychopathology, 13*(3), 473-489.

- Bronfenbrenner, U., & Ceci, S. J. (1994). Nature-nurture reconceptualized in developmental perspective: a bioecological model. *Psychological Review*, *101*(4), 568-586.
- Brown, R. (1994). *An introduction to endocrinology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bugental, D. (2004). Thriving in the face of early adversity. *Journal of Social Issues*, *60*(1), 219 - 235.
- Bugental, D. B., Martorell, G. A., & Barraza, V. (2003). The hormonal costs of subtle forms of infant maltreatment. *Hormones and Behavior*, *43*(1), 237-244.
- Caldji, C., Diorio, J., & Meaney, M. J. (2000). Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biological Psychiatry*, *48*(12), 1164-1174.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1998). Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceeds of the National Academy Sciences of United States of America*, *95*(9), 5335-5340.
- Carmelli, D., Swan, G. E., Kelly-Hayes, M., Wolf, P. A., Reed, T., & Miller, B. (2000). Longitudinal changes in the contribution of genetic and environmental influences to symptoms of depression in older male twins. *Psychology and Aging*, *15*(3), 505-510.
- Casey, B. J. (2003). Brain, plasticity, learning, and developmental disabilities. *Mental Health Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, *9*, 133-134.
- Caspi, A., McClay, J., Moffitt, T. E., Mill, J., Martin, J., Craig, I. W., et al. (2002). Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science*, *297*(5582), 851-844.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H., et al. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, *301*(5631), 386-389.

- Champagne, F. A., Weaver, I. C., Diorio, J., Dymov, S., Szyf, M., & Meaney, M. J. (2006). Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor-alpha promoter and estrogen receptor-alpha expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology*, *147*(6), 2909-2915.
- Champoux, M., Bennett, A., Shannon, C., Higley, J. D., Lesch, K. P., & Suomi, S. J. (2002). Serotonin transporter gene polymorphism, differential early rearing, and behavior in rhesus monkey neonates. *Molecular Psychiatry*, *7*(10), 1058-1063.
- Champoux, M., Coe, C. L., Schanberg, S., Kuhn, C., & Suomi, S. J. (1989). Hormonal effects of early rearing conditions in the infant rhesus monkey. *American Journal of Primatology*, *19*, 111-117.
- Charmandari, E., Kino, T., Souvatzoglou, E., & Chrousos, G. P. (2003). Pediatric stress: Hormonal mediators and human development. *Hormone Research*, *59*(4), 161 - 179.
- Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1998). A healthy body in a healthy mind--and vice versa--the damaging power of "uncontrollable" stress. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *83*(6), 1842-1845.
- Cicchetti, D., & Blender, J. A. (2006). A multiple-levels-of-analysis perspective on resilience: implications for the developing brain, neural plasticity, and preventive interventions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1094*, 248-258.
- Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2001a). Diverse patterns of neuroendocrine activity in maltreated children. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 677-693.
- Cicchetti, D., & Rogosch, F. A. (2001b). The impact of child maltreatment and psychopathology on neuroendocrine functioning. *Development and Psychopathology*, *13*(4), 783-804.
- Cohen, S., & Manuck, S. B. (1995). Stress, reactivity, and disease. *Psychosomatic Medicine*, *57*(5), 423-426.
- Compas, B. E. (2006). Psychobiological processes of stress and coping: implications for resilience in children and adolescents--comments on the papers of Romeo & McEwen and Fisher et al. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1094*, 226-234.

- Crimmins, E. M., Johnston, M., Hayward, M., & Seeman, T. (2003). Age differences in allostatic load: an index of physiological dysregulation. *Experimental Gerontology*, 38(7), 731 - 734.
- Custodio, R. J., Junior, C. E., Milani, S. L., Simoes, A. L., de Castro, M., & Moreira, A. C. (2007). The emergence of the cortisol circadian rhythm in monozygotic and dizygotic twin infants: the twin-pair synchrony. *Clinical Endocrinology* 66(2), 192-197.
- de Geus, E. J. C. (2002). Introducing genetic psychophysiology. *Biological Psychology*, 61(1-2), 1-10.
- de Kloet, E. R., & Oitzl, M. S. (2003). Who cares for a stressed brain? The mother, the kid or both? *Neurobiology of Aging*, 24 Suppl 1, S61-65; discussion S67-68.
- de Kloet, E. R., Oitzl, M. S., & Joels, M. (1993). Functional implications of brain corticosteroid receptor diversity. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 13(4), 433-455.
- de Kloet, E. R., Sibug, R. M., Helmerhorst, F. M., & Schmidt, M. (2005). Stress, genes and the mechanism of programming the brain for later life. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(2), 271-281.
- de Kloet, E. R., Vreugdenhil, E., Oitzl, M. S., & Joels, M. (1998). Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews*, 19(3), 269-301.
- DeRijk, R. H., Schaaf, M., & de Kloet, E. R. (2002). Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 81(2), 103-122.
- Dozier, M., Manni, M., Gordon, M. K., Peloso, E., Gunnar, M. R., Stovall-McClough, K. C., et al. (2006). Foster children's diurnal production of cortisol: an exploratory study. *Child Maltreatment*, 11(2), 189-197.
- Duncan, G. J., Brooks-Gunn, J., Yeung, W. J., & Smith, J. R. (1998). How much does childhood poverty affect the life chances of children? *American Sociological Review*, 63(3), 406-423.

- Ellis, B. J., Essex, M. J., & Boyce, T. W. (2005). Biological sensitivity to context: II. Empirical explorations of an evolutionary-developmental theory. *Development and Psychopathology*, *17*, 303-328.
- Erkut, Z. A., Pool, C., & Swaab, D. F. (1998). Glucocorticoids suppress corticotropin-releasing hormone and vasopressin expression in human hypothalamic neurons. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *83*(6), 2066-2073.
- Essex, M. J., Klein, M. H., Cho, E., & Kalin, N. H. (2002). Maternal stress beginning in infancy may sensitize children to later stress exposure: effects on cortisol and behavior. *Biological Psychiatry*, *52*(8), 776-784.
- Evans, G. W. (2003). A multimethodological analysis of cumulative risk and allostatic load among rural children. *Developmental Psychology*, *39*(5), 924 - 933.
- Evans, G. W., & English, K. (2002). The environment of poverty: multiple stressor exposure, psychophysiological stress, and socioemotional adjustment. *Child Development*, *73*(4), 1238-1248.
- Evans, G. W., Kim, P., Ting, A. H., Tessler, H. B., & Shannis, D. (2007). Cumulative risk, maternal responsiveness, and allostatic load among young adolescents. *Developmental Psychology*, *43*(2), 341-351.
- Feder, A., Coplan, J. D., Goetz, R. R., Mathew, S. J., Pine, D. S., Dahl, R. E., et al. (2004). Twenty-four-hour cortisol secretion patterns in prepubertal children with anxiety or depressive disorders. *Biological Psychiatry*, *56*(3), 198-204.
- Flinn, M. V., & England, B. G. (1997). Social economics of childhood glucocorticoid stress response and health. *American Journal of Physical Anthropology*, *102*(1), 33-53.
- Foley, D. L., Eaves, L. J., Wormley, B., Silberg, J. L., Maes, H. H., Kuhn, J., et al. (2004). Childhood adversity, monoamine oxidase a genotype, and risk for conduct disorder. *Archives of General Psychiatry*, *61*(7), 738-744.
- Francis, D., Diorio, J., Laplante, P., Weaver, S., Seckl, J. R., & Meaney, M. J. (1996). The role of early environmental events in regulating neuroendocrine development: Moms, pups, stress and glucocorticoid receptors. *Understanding aggressive behavior in children*, *794*, 136-152.

- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, 286(5442), 1155-1158.
- Francis, D. D., Champagne, F. A., Liu, D., & Meaney, M. J. (1999). Maternal care, gene expression, and the development of individual differences in stress reactivity. *Annals New York Academy of Sciences*, 896, 66-84.
- Fries, E., Hesse, J., Hellhammer, J., & Hellhammer, D. H. (2005). A new view on hypocortisolism. *Psychoneuroendocrinology*, 30(10), 1010-1016.
- Froehlich, J. C., Zink, R. W., Li, T. K., & Christian, J. C. (2000). Analysis of heritability of hormonal responses to alcohol in twins: beta-endorphin as a potential biomarker of genetic risk for alcoholism. *Alcohol Clinical and Experimental Research*, 24(3), 265-277.
- Gaab, J., Blattler, N., Menzi, T., Pabst, B., Stoyer, S., & Ehlert, U. (2003). Randomized controlled evaluation of the effects of cognitive-behavioral stress management on cortisol responses to acute stress in healthy subjects. *Psychoneuroendocrinology*, 28(6), 767-779.
- Gehlert, D. R., Shekhar, A., Morin, S. M., Hipskind, P. A., Zink, C., Gackenheim, S. L., et al. (2005). Stress and central Urocortin increase anxiety-like behavior in the social interaction test via the CRF1 receptor. *European Journal of Pharmacology*, 509(2-3), 145-153.
- Giedd, J. N., Shaw, P., Wallace, G., Gogtay, N., & Lenroot, R. K. (2006). Anatomic brain imaging studies of normal and abnormal brain development in children and adolescents. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology, second edition* (Vol. 2, pp. 127-196). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Glaser, D. (2000). Child abuse and neglect and the brain--a review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 41(1), 97-116.
- Gottlieb, G. (2003). On making behavioral genetics truly developmental. *Human Development*, 46(6), 337-355.

- Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A., & Fuchs, E. (1997). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *Journal of Neuroscience*, *17*(7), 2492-2498.
- Greenough, W., & Black, J. (1992). Induction of brain structure by experience: Substrate for cognitive development. In M. R. G. C. A. Nelson (Ed.), *Minnesota symposia on child psychology 24: Developmental behavioral neuroscience* (pp. 155-200). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum.
- Gross, C., Zhuang, X., Stark, K., Ramboz, S., Oosting, R., Kirby, L., et al. (2002). Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature*, *416*(6879), 396-400.
- Gunnar, M., & Quevedo, K. (2007). The neurobiology of stress and development. *Annual Review of Psychology*, *58*, 145-173.
- Gunnar, M., & Vazquez, D. M. (2006). Stress neurobiology and developmental psychopathology. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology* (Vol. 2, pp. 533-577). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Gunnar, M. G. (2000). Early adversity and the development of stress reactivity and regulation. In C. A. Nelson (Ed.), *The effects of early adversity on neurobehavioral development, the Minnesota symposia on child psychology*. (Vol. 31, pp. 163-200). London: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers.
- Gunnar, M. R., & Donzella, B. (2002). Social regulation of the cortisol levels in early human development. *Psychoneuroendocrinology*, *27*(1-12), 199-220.
- Gunnar, M. R., & Fisher, P. A. (2006). Bringing basic research on early experience and stress neurobiology to bear on preventive interventions for neglected and maltreated children. *Development and Psychopathology*, *18*(3), 651-677.
- Gunnar, M. R., Morison, S. J., Chisholm, K., & Schuder, M. (2001). Salivary cortisol levels in children adopted from romanian orphanages. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 611-628.
- Gunnar, M. R., & Vazquez, D. M. (2001). Low cortisol and a flattening of expected daytime rhythm: potential indices of risk in human development. *Development and Psychopathology*, *13*(3), 515-538.

- Hardie, T. L., Moss, H. B., Vanyukov, M. M., Yao, J. K., & Kirillovac, G. P. (2002). Does adverse family environment or sex matter in the salivary cortisol responses to anticipatory stress? *Psychiatry Research*, *112*(2), 121-131.
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D., et al. (2002). Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, *297*(5580), 400-403.
- Hart, J., Gunnar, M., & Cicchetti, D. (1995). Salivary cortisol in maltreated children: Evidence of relations between neuroendocrine activity and social competence. *Development and Psychopathology*, *7*(1), 11-26.
- Heath, A. C., & Nelson, E. C. (2002). Effects of the interaction between genotype and environment. Research into the genetic epidemiology of alcohol dependence. *Alcohol Research and Health*, *26*(3), 193-201.
- Heim, C., Ehlert, U., & Hellhammer, D. H. (2000). The potential role of hypocortisolism in the pathophysiology of stress-related bodily disorders. *Psychoneuroendocrinology*, *25*(1), 1-35.
- Heim, C., & Nemeroff, C. B. (1999). The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biological Psychiatry*, *46*(11), 1509-1522.
- Heim, C., Newport, D. J., Wagner, D., Wilcox, M. M., Miller, A. H., & Nemeroff, C. B. (2002). The role of early adverse experience and adulthood stress in the prediction of neuroendocrine stress reactivity in women: a multiple regression analysis. *Depression and Anxiety*, *15*(3), 117-125.
- Heim, C., Plotsky, P. M., & Nemeroff, C. B. (2004). Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. *Neuropsychopharmacology*, *29*(4), 641-648.
- Hertsgaard, L., Gunnar, M., Erickson, M. F., & Nachmias, M. (1995). Adrenocortical responses to the strange situation in infants with disorganized/disoriented attachment relationships. *Child Development*, *66*(4), 1100-1106.
- Higley, J. D., Suomi, S. J., & Linnoila, M. (1992). A longitudinal assessment of CSF monoamine metabolite and plasma cortisol concentrations in young rhesus monkeys. *Biological Psychiatry*, *32*(2), 127-145.

- Huizenga, N. A., Koper, J. W., De Lange, P., Pols, H. A., Stolk, R. P., Burger, H., et al. (1998). A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with and increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(1), 144-151.
- Huizenga, N. A., Koper, J. W., de Lange, P., Pols, H. A., Stolk, R. P., Grobbee, D. E., et al. (1998). Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(1), 47-54.
- Inglis, G. C., Ingram, M. C., Holloway, C. D., Swan, L., Birnie, D., Hillis, S. W., Davies E., Fraser, R., Connell, J. M. C. (1999). Familial pattern of corticosteroids and their metabolism in adult human subjects - the scottish adult twin study. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 84(11), 4132-4137.
- Jabbi, M., Korf, J., Kema, I. P., Hartman, C., van der Pompe, G., Minderaa, R. B., et al. (2007). Convergent genetic modulation of the endocrine stress response involves polymorphic variations of 5-HTT, COMT and MAOA. *Molecular Psychiatry*, 12(5), 483-490.
- Jablonka, E. (2004). Epigenetic epidemiology. *International Journal of Epidemiology*, 33(5), 929-935.
- Jaffee, S. R., Caspi, A., Moffitt, T. E., Dodge, K. A., Rutter, M., Taylor, A., et al. (2005). Nature X nurture: genetic vulnerabilities interact with physical maltreatment to promote conduct problems. *Development and Psychopathology*, 17(1), 67-84.
- Johnston, C. H., Lewis, M. A., Evans, G. W., & Whalen, C. K. (1998). Chronic stress and illness in children: The role of allostatic load. *Psychosomatic Medicine*, 60(5), 597-603.
- Johnston, T. D., & Edwards, L. (2002). Genes, interactions, and the development of behavior. *Psychological Review*, 109(1), 26-34.
- Kagan, J., Reznick, J. S., & Snidman, N. (1987). The physiology and psychology of behavioral inhibition in children. *Child Development*, 58(6), 1459-1473.
- Kalsbeek, A., van Heerikhuize, J. J., Wortel, J., & Buijs, R. M. (1996). A diurnal rhythm of stimulatory input to the hypothalamo-pituitary-adrenal system as revealed by timed

intrahypothalamic administration of the vasopressin V1 antagonist. *Journal of Neuroscience*, 16(17), 5555-5565.

- Kanemura, H., Aihara, M., Aoki, S., Hatakeyama, K., Kamiya, Y., Ono, C., et al. (1999). [Quantitative measurement of prefrontal lobe volume on three dimensional magnetic resonance imaging scan]. *No To Hattatsu*, 31(6), 519-524.
- Karlamangla, A. S., Singer, B. H., McEwen, B. C., Rowe, J. W., Seeman, T. E. (2002). Allostatic load as a predictor of functional decline MacArthur studies of successful aging. *Journal of Clinical Epidemiology*, 55, 696-710.
- Kaufman, J., Plotsky, P. M., Nemeroff, C. B., & Charney, D. S. (2000). Effects of early adverse experiences on brain structure and function: clinical implications. *Biological Psychiatry*, 48(8), 778-790.
- Kaufman, J., Yang, B. Z., Douglas-Palumberi, H., Houshyar, S., Lipschitz, D., Krystal, J. H., et al. (2004). Social supports and serotonin transporter gene moderate depression in maltreated children. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(49), 17316-17321.
- Keller-Wood, M. E., & Dallman, M. F. (1984). Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocrine Review*, 5(1), 1-24.
- Kendler, K. S., Kessler, R. C., Walters, E. E., MacLean, C., Neale, M. C., Heath, A. C., et al. (1995). Stressful life events, genetic liability, and onset of an episode of major depression in women. *The American Journal of Psychiatry*, 152(6), 833-842.
- Kirschbaum, C., & Hellhammer, D. H. (1994). Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19(4), 313-333.
- Kirschbaum, C., Wüst, S., Faig, H.-G., & Hellhammer, D. H. (1992). Heritability of cortisol responses to human corticotropin-releasing hormone, ergometry, and psychological stress in human. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 75(6), 1526-1530.
- Klaassen, T., Riedel, W. J., van Praag, H. M., Menheere, P. P., & Griez, E. (2002). Neuroendocrine response to meta-chlorophenylpiperazine and ipsapirone in relation to anxiety and aggression. *Psychiatry Research*, 113(1-2), 29-40.

- Knudsen, E. I. (2004). Sensitive periods in the development of the brain and behavior. *J Cogn Neurosci*, *16*(8), 1412-1425.
- Kupper, N., de Geus, E. J., van den Berg, M., Kirschbaum, C., Boomsma, D. I., & Willemsen, G. (2005). Familial influences on basal salivary cortisol in an adult population. *Psychoneuroendocrinology*, *30*(9), 857-868.
- Ladd, C. O., Owens, M. J., & Nemeroff, C. B. (1996). Persistent changes in CRF neuronal systems produced by maternal separation. *Endocrinology*, *137*, 1212-1218.
- Larson, M. C., White, B. P., Cochran, A., Donzella, B., & Gunnar, M. (1998). Dampening of the cortisol response to handling at 3 months in human infants and its relation to sleep, circadian cortisol activity, and behavioral distress. *Developmental Psychobiology*, *33*(4), 327-337.
- Levine, S. (2005). Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology*, *30*(10), 939-946.
- Lewis, M. (1992). Individual differences in response to stress. *Pediatrics*, *90*(3 Pt 2), 487-490.
- Lewis, M., & Ramsay, D. S. (1997). Stress reactivity and self-recognition. *Child Development*, *68*(4), 621-629.
- Li, Q., Wichems, C., Heils, A., Van De Kar, L. D., Lesch, K. P., & Murphy, D. L. (1999). Reduction of 5-hydroxytryptamine (5-HT)(1A)-mediated temperature and neuroendocrine responses and 5-HT(1A) binding sites in 5-HT transporter knockout mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *291*(3), 999-1007.
- Liberzon, I., Krstov, M., & Young, E. A. (1997). Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology*, *22*(6), 443-453.
- Linkowski, P., Onderbergen, A. V., Kerkhofs, M., Bosson, D., Mendlewicz, J., Van Cauter, E. (1993). Twin study of the 24h cortisol profile: evidence for genetic control of the human circadian clock. *American Journal of Physiology*, *264*(2), 173-181.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., et al. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*, *277*(5332), 1659-1662.

- Lopez, J. F., Akil, H., & Watson, S. J. (1999). Neural circuits mediating stress. *Biological Psychiatry*, 46(11), 1461-1471.
- Lucas, L. R., Celen, Z., Tamashiro, K. L., Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Markham, C., et al. (2004). Repeated exposure to social stress has long-term effects on indirect markers of dopaminergic activity in brain regions associated with motivated behavior. *Neuroscience*, 124(2), 449-457.
- Lupien, S., Lecours, A. R., Lussier, I., Schwartz, G., Nair, N. P., & Meaney, M. J. (1994). Basal cortisol levels and cognitive deficits in human aging. *Journal of Neuroscience*, 14(5 Pt 1), 2893-2903.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2000). Child's stress hormone levels correlate with mother's socioeconomic status and depressive state. *Biological Psychiatry*, 48(10), 976-980.
- Lupien, S. J., King, S., Meaney, M. J., & McEwen, B. S. (2001). Can poverty get under your skin? basal cortisol levels and cognitive function in children from low and high socioeconomic status. *Development and Psychopathology*, 13(3), 653-676.
- Lupien, S. J., Ouellet-Morin, I., Hupbach, A., Tu, M. T., Buss, C., Walker, D., et al. (2006). Beyond the stress concept: Allostatic load - A developmental biological and cognitive perspective. In D. Cicchetti & J. C. Donald (Eds.), *Developmental Psychopathology, second edition* (Vol. 2, pp. 578-628). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Maccoby, E. E. (2000). Parenting and its effects on children: on reading and misreading behavior genetics. *Annual Review of Psychology*, 51, 1-27.
- McBurnett, K., Lahey, B. B., Rathouz, P. J., & Loeber, R. (2000). Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Archives of General Psychiatry*, 57(1), 38-43.
- McEwen, B. S. (1998). Protective and damaging effects of stress mediators. *The New England Journal of Medicine*, 338(3), 171-179.
- McEwen, B. S. (2000a). Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2000 Feb; Vol 22(2): 108-124.

- McEwen, B. S. (2000b). The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Research*, 886(1-2), 172-189.
- McEwen, B. S. (2003). Mood disorders and allostatic load. *Biological Psychiatry*, 54(3), 200 - 207.
- McEwen, B. S., & Lasley, E. N. (2002). *The end of stress as we know it*. Washington, D.C.: John Henry Press.
- McEwen, B. S., & Stellar, E. (1993). Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Archives of Internal Medicine*, 153(18), 2093-2101.
- McEwen, B. S., & Wingfield, J. C. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, 43(1), 2 - 15.
- McLoyd, V. C. (1998). Socioeconomic disadvantage and child development. *American Psychologist*, 53(2), 185-204.
- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review Neurosciences*, 24, 1161-1192.
- Meaney, M. J., Aitken, D. H., Bhatnagar, S., & Sapolsky, R. M. (1991). Postnatal handling attenuates certain neuroendocrine, anatomical, and cognitive dysfunctions associated with aging in female rats. *Neurobiology of Aging*, 12(1), 31-38.
- Meaney, M. J., Aitken, D. H., Viau, V., Sharma, S., & Sarrieau, A. (1989). Neonatal handling alters adrenocortical negative feedback sensitivity and hippocampal type II glucocorticoid receptor binding in the rat. *Neuroendocrinology*, 50(5), 597-604.
- Meikle, A. W., Stringham, J. D., Woodward, M. G., Bishop, T. (1988). Heritability of variation of plasma cortisol levels. *Metabolism*, 37(6), 514-517.
- Miller, G. E., Chen, E., & Zhou, E. S. (2007). If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological Bulletin*, 133(1), 25-45.

- Moffitt, T. E., Caspi, A., & Rutter, M. (2005). Strategy for investigating interactions between measured genes and measured environments. *Archives of General Psychiatry*, 62(5), 473-481.
- Monroe, S. M., & Simons, A. D. (1991). Diathesis-stress theories in the context of life stress research: implications for the depressive disorders. *Psychological Bulletin*, 110(3), 406-425.
- Nachmias, M., Gunnar, M., Mangelsdorf, S., Parritz, R. H., & Buss, K. (1996). Behavioral inhibition and stress reactivity: the moderating role of attachment security. *Child Development*, 67(2), 508-522.
- Olf, M., Langeland, W., & Gersons, B. P. (2005). Effects of appraisal and coping on the neuroendocrine response to extreme stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(3), 457-467.
- Owen, D., Andrews, M. H., & Matthews, S. G. (2005). Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(2), 209-226.
- Parker, K. J., Buckmaster, C. L., Schatzberg, A. F., & Lyons, D. M. (2004). Prospective investigation of stress inoculation in young monkeys. *Archives of General Psychiatry*, 61(9), 933-941.
- Phillips, R. G., & LeDoux, J. E. (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behavioral Neurosciences*, 106(2), 274-285.
- Plomin, R. (1995). Genetics and children's experiences in the family. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 36(1), 33-68.
- Plomin, R., DeFries, J. C., McClearn, G. E., & Rutter, M. (2001). *Behavioral Genetics*. Behavioral Genetics: Worth Publishers.
- Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research*, 18, 195-200.

- Pollak, S. D. (2005). Early adversity and mechanisms of plasticity: integrating affective neuroscience with developmental approaches to psychopathology. *Development and Psychopathology, 17*(3), 735-752.
- Price, D. A., Close, G. C., & Fielding, B. A. (1983). Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Archives of Disease in Childhood, 58*(6), 454-456.
- Pritchard, J., Despres, J. P., Gagnon, J., Tchernof, A., Nadeau, A., Tremblay, A., et al. (1998). Plasma adrenal, gonadal, and conjugated steroids before and after long-term overfeeding in identical twins. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 83*(9), 3277-3284.
- Rautanen, A., Eriksson, J. G., Kere, J., Andersson, S., Osmond, C., Tienari, P., et al. (2006). Associations of body size at birth with late-life cortisol concentrations and glucose tolerance are modified by haplotypes of the glucocorticoid receptor gene. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 91*(11), 4544-4551.
- Repetti, R. L., Taylor, S. E., & Seeman, T. E. (2002). Risky families: family social environments and the mental and physical health of offspring. *Psychological Bulletin, 128*(2), 330-366.
- Riggins-Caspers, K. M., Cadoret, R. J., Knutson, J. F., & Langbehn, D. (2003). Biology-environment interaction and evocative biology-environment correlation: contributions of harsh discipline and parental psychopathology to problem adolescent behaviors. *Behavior Genetics, 33*(3), 205-220.
- Rosmond, R., Chagnon, Y. C., Chagnon, M., Perusse, L., Bouchard, C., & Bjorntorp, P. (2000). A polymorphism of the 5'-flanking region of the glucocorticoid receptor gene locus is associated with basal cortisol secretion in men. *Metabolism, 49*(9), 1197-1199.
- Rosmond, R., Chagnon, Y. C., Holm, G., Chagnon, M., Perusse, L., Lindell, K., et al. (2000). A glucocorticoid receptor gene marker is associated with abdominal obesity, leptin, and dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Obesity Research, 8*(3), 211-218.
- Rosmond, R., Dallman, M. F., & Bjorntorp, P. (1998). Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism, 83*(6), 1853-1859.

- Rowe, D. C. (2001). Do people make environments or do environments make people? *Annals New York Academy of Sciences*, 935, 62-74.
- Rutter, M., Moffitt, T. E., & Caspi, A. (2006). Gene-environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 47(3-4), 226-261.
- Sanchez, M., Young, L., Mathys, K., Plotsky, P., & Insel, T. (1999). Different rearing conditions affect the development of corticotropin releasing factor (CRF) and vasopressin (AVP) systems in non human primates. *Society for Neuroscience Abstracts*, 25, 443.
- Sanchez, M. M. (2006). The impact of early adverse care on HPA axis development: nonhuman primate models. *Hormones and Behavior*, 50(4), 623-631.
- Sanchez, M. M., Ladd, C. O., & Plotsky, P. M. (2001). Early adverse experience as a developmental risk factor for later psychopathology: evidence from rodent and primate models. *Development and Psychopathology*, 13(3), 419-449.
- Santiago, L. B., Jorge, S. M., & Moreira, A. C. (1996). Longitudinal evaluation of the development of salivary cortisol circadian rhythm in infancy. *Clinical Endocrinology*, 44(2), 157-161.
- Sapolsky, R. M. (2000). Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Archives of General Psychiatry*, 57(10), 925-935.
- Sapolsky, R. M. (2004). Is impaired neurogenesis relevant to the affective symptoms of depression? *Biological Psychiatry*, 56(3), 137-139.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21(1), 55-89.
- Scher, C. D., Ingram, R. E., & Segal, Z. V. (2005). Cognitive reactivity and vulnerability: empirical evaluation of construct activation and cognitive diatheses in unipolar depression. *Clinical Psychology Review*, 25(4), 487-510.
- Schulkin, J., Gold, P. W., & McEwen, B. S. (1998). Induction of corticotropin-releasing hormone gene expression by glucocorticoids: Implication for understanding the

- states of fear and anxiety and allostatic load. *Psychoneuroendocrinology*, 23(3), 219-243.
- Seeman, T. E., McEwen, B. S., Rowe, J. W., & Singer, B. H. (2001). Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proceeds of National Academy of Sciences*, 98(8), 4770-4775.
- Selye, H. (1936). Syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature*, 138, 32.
- Shekhar, A., Truitt, W., Rainnie, D., & Sajdyk, T. (2005). Role of stress, corticotrophin releasing factor (CRF) and amygdala plasticity in chronic anxiety. *Stress*, 8(4), 209-219.
- Singer, B., & Ryff, C. D. (1999). Hierarchies of life histories and associated health risks. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 896, 96-115.
- Singer, W. (1995). Development and plasticity of cortical processing architectures. *Science*, 270(5237), 758-764.
- Smider, N. A., Essex, M. J., Kalin, N. H., Buss, K. A., Klein, M. H., Davidson, R. J., et al. (2002). Salivary cortisol as a predictor of socioemotional adjustment during kindergarten: a prospective study. *Child Development*, 73(1), 75-92.
- Snoek, H., Van Goozen, S. H., Matthys, W., Buitelaar, J. K., & van Engeland, H. (2004). Stress responsivity in children with externalizing behavior disorders. *Development and Psychopathology*, 16(2), 389-406.
- Spangler, G. (1991). The emergence of adrenocortical circadian function in newborns and infants and its relationship to sleep, feeding and maternal adrenocortical activity. *Early Human Development*, 25(3), 197-208.
- Starkman, M. N., Gebarski, S. S., Berent, S., & Scheingart, D. E. (1992). Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biological Psychiatry*, 32(9), 756-765.
- Stevens, A., Ray, D. W., Zeggini, E., John, S., Richards, H. L., Griffiths, C. E., et al. (2004). Glucocorticoid sensitivity is determined by a specific glucocorticoid receptor haplotype. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(2), 892-897.

- Suomi, S. J. (1997). Early determinants of behaviour: evidence from primate studies. *British Medical Bulletin*, 53(1), 170-184.
- Suomi, S. J. (2003). Gene-environment interactions and the neurobiology of social conflict. *Annals New York Academy of Sciences*, 1008, 132-139.
- Suomi, S. J. (2006). Risk, resilience, and gene x environment interactions in rhesus monkeys. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1094, 52-62.
- Susman, E. J. (1998). Biobehavioral development: an integrative perspective. *International Journal of Behavioral Development*, 22(4), 671-679.
- Sutherland, J. E., & Costa, M. (2003). Epigenetics and the environment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 983, 151-160.
- Tarullo, A. R., & Gunnar, M. R. (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Hormones and Behavior*, 50(4), 632-639.
- Taylor, S. E., Repetti, R. L., & Seeman, T. (1997). Health psychology: what is an unhealthy environment and how does it get under the skin? *Annual Review of Psychology*, 48, 411-447.
- Ulfing, N., Setzer, M., & Bohl, J. (2003). Ontogeny of the human amygdala. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 985, 22-33.
- Utsunomiya, H., Takano, K., Okazaki, M., & Mitsudome, A. (1999). Development of the temporal lobe in infants and children: analysis by MR-based volumetry. *American Journal of Neuroradiology*, 20(4), 717-723.
- Vallee, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., & Maccari, S. (1997). Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: Correlation with stress-induced corticosterone secretion. *Journal of Neuroscience*, 17(7), 2626-2636.
- van Rossum, E. F., Roks, P. H., de Jong, F. H., Brinkmann, A. O., Pols, H. A., Koper, J. W., et al. (2004). Characterization of a promoter polymorphism in the glucocorticoid receptor gene and its relationship to three other polymorphisms. *Clinical Endocrinology*, 61(5), 573-581.

- Vanitallie, T. B. (2002). Stress: a risk factor for serious illness. *Metabolism*, 51(6 Suppl 1), 40-45.
- Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., et al. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8), 847-854.
- Weaver, I. C., Champagne, F. A., Brown, S. E., Dymov, S., Sharma, S., Meaney, M. J., et al. (2005). Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life. *Journal of Neuroscience*, 25(47), 11045-11054.
- Welberg, L. A. M., & Seckl, J. R. (2001). Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 13, 113-128.
- Workel, J. O., Oitzl, M. S., Fluttert, M., Lesscher, H., Karsen, A., & de Kloet, E. R. (2001). Differential and age-dependent effects of maternal deprivation on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of brown norway rats from youth to senescence. *Journal of Neuroendocrinology*, 13(7), 569-580.
- Wüst, S., Federenko, I., Hellhammer, D. H., Kirschbaum, C. (2000). Genetic factors, perceived chronic stress, and the free cortisol response to awakening. *Psychoneuroendocrinology*, 25, 707-720.
- Wust, S., Van Rossum, E. F., Federenko, I. S., Koper, J. W., Kumsta, R., & Hellhammer, D. H. (2004). Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(2), 565-573.
- Yehuda, R., Hallig, S. L., & Grossman, R. (2001). Childhood trauma and risk for PTSD: relationship to intergenerational effects of trauma, parental PTSD, and cortisol excretion. *Development and Psychopathology*, 13(3), 733-753.
- Yehuda, R., Teicher, M. H., Seckl, J. R., Grossman, R. A., Morris, A., & Bierer, L. M. (2007). Parental posttraumatic stress disorder as a vulnerability factor for low cortisol trait in offspring of holocaust survivors. *Archives of General Psychiatry*, 64(9), 1040-1048.

Young, E., Aggen, S. H., Prescott, C. A., & Kendler, K. S. (2000). Similarity in saliva cortisol measures in monozygotic twins and the influence of past major depression. *Biological Psychiatry*, 48(1), 70-74.

Zubin, J., & Spring, B. (1977). Vulnerability: A new view of schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*, 86, 103-126.