

Université de Montréal

Association entre la maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte : une  
étude des profils de méthylation de l'ADN et de réactivité au stress

Par

Maude Comtois-Cabana

Département de psychologie  
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de  
maîtrise ès sciences (M. Sc.) en psychologie

Août, 2020

© Maude Comtois-Cabana, 2020



*Ce mémoire intitulé*

**Association entre la maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte :  
une étude des profils de méthylation de l'ADN et de réactivité au stress**

*Présenté par*

**Maude Comtois-Cabana**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Miriam Beauchamp**

Président-rapporteur

**Isabelle Ouellet-Morin**

Directeur de recherche

**Nadine Provençal**

Codirecteur

**Marie-Claude Geoffroy**

Membre du jury



## Résumé

De nombreuses études suggèrent que la maltraitance à l'enfance est un facteur de risque important lié à l'émergence de symptômes dépressifs à l'âge adulte. Toutefois, les mécanismes biologiques qui sous-tendent cette association demeurent méconnus. Ainsi, cette étude vise à examiner le rôle de la méthylation de l'ADN et de la réactivité au stress dans l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte. L'échantillon est composé de 156 hommes âgés entre 18 et 35 ans. Les expériences de maltraitance et les symptômes dépressifs ont été mesurés à l'aide de questionnaires auto-rapportés. La sécrétion de cortisol, une hormone sécrétée en situation de stress, a été mesurée en réponse au *Trier Social Stress Test*. La méthylation de l'ADN de neuf gènes candidats (*COMT*, *FKBP5*, *IL-6*, *IL-10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3* et *SLC6A4*) a été quantifiée à l'aide du système Sequenom EpiTYPER suite à l'extraction de l'ADN salivaire. Les résultats indiquent que la méthylation de l'ADN n'explique pas l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte et les associations sous-jacentes à l'effet indirect de la méthylation de l'ADN ne varient pas en fonction de la réactivité cortisolaire au stress. Néanmoins, les résultats de l'étude suggèrent que les expériences de maltraitance et les symptômes dépressifs sont associées à des changements dans les profils de méthylation de l'ADN. Enfin, ces résultats soulignent l'importance de réduire la prévalence de la maltraitance à l'enfance afin de limiter l'apparition de symptômes dépressifs à l'âge adulte.

**Mots-clés** : Maltraitance, Dépression, Méthylation de l'ADN, Cortisol



## Abstract

Increasing evidence suggests that child maltreatment is a significant risk factor for the emergence of depressive symptoms in adulthood. However, the mechanisms underlying this association remain poorly understood. The present study examined the mediating role of DNA methylation and the moderating role of stress reactivity in the association between child maltreatment and depressive symptoms in emerging adulthood. The sample comprised 156 young male adults aged between 18 and 35 years. Maltreatment experiences and depressive symptoms were assessed using self-reported questionnaires. Cortisol, a hormone secreted in response to stress, was measured in response to the Trier Social Stress Test. DNA methylation of nine candidate genes (*COMT*, *FKBP5*, *IL-6*, *IL-10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3* et *SLC6A4*) was quantified using the Sequenom EpiTYPER technology after the extraction of salivary DNA. Results suggest that DNA methylation did not explain the association between child maltreatment and depressive symptoms in emerging adulthood, and that the associations underlying the mediating effect of DNA methylation did not vary according to the cortisol stress response. Nonetheless, the results suggest that maltreatment experiences and depressive symptoms are both associated with changes in DNA methylation profiles. Finally, these findings underscore the importance of reducing the prevalence of child maltreatment in order to limit the onset of depressive symptoms in emerging adulthood.

**Keywords:** Maltreatment, Depression, DNA methylation, Cortisol





## Table des matières

Résumé .....	5
Abstract .....	7
Table des matières .....	9
Liste des tableaux .....	11
Liste des figures.....	13
Liste des sigles et abréviations .....	15
Introduction générale.....	16
Article de mémoire	
<i>Child Maltreatment and Adult Depression: A Moderated Mediation Model of DNA</i>	
Methylation and Stress Reactivity.....	27
Discussion générale.....	66
Références citées dans l'introduction générale et la discussion générale .....	77



## Liste des tableaux

Table 1	
Candidate Genes.....	57
Table 2	
Significant Associations Between Child Maltreatment and DNA methylation.....	59
Table 3	
Significant Associations Between Depressive Symptoms and DNA methylation.....	60
Table 4	
Summary of the Moderated Mediation Analysis for NR3C1_2_CpG_49to52.....	61
Table 5	
Summary of the Moderated Mediation Analysis for SLC6A3_1_CpG_16.....	62
Table 6	
Summary of the Moderated Mediation Analysis for SLC6A4_2_CpG_28and29.....	63



## Liste des figures

Figure 1

Conceptual Model .....64

Figure 2

Summary of the Mediation Analysis.....65



## Liste des sigles et abréviations

AUCg : *area under the curve according to the ground*

AUCi : *area under the curve according to the increase*

BDI : *Beck Depression Inventory*

BMI : *Body Mass Index*

BSC : *Biological Sensitivity to Context*

COMT : *catechol-O-methyltransferase*

CpG : *cytosine-phosphate-guanine*

CTQ : *Childhood Trauma Questionnaire*

DNA<sub>m</sub> : *DNA methylation*

FDR : *False Discovery Rate*

FKBP5 : *FK506 binding protein 51*

HPA : *hypothalamic-pituitary-adrenal*

HPS : *hypothalamo-pituitaire-surrénal*

IL-6 : *interleukin-6*

IL-10 : *interleukin-10*

MAOA : *monoamine oxidase A*

NR3C1 : *nuclear receptor subfamily 3 group C member 1*

OXTR : *oxytocin receptor*

SLC6A3 : *solute carrier family 6 member 3*

SLC6A4 : *solute carrier family 6 member 4*

TSST : *Trier Social Stress Test*

## **Introduction générale**

Selon une méta-analyse récente, la prévalence mondiale des expériences de maltraitance à l'enfance est élevée, soit 22,6% pour l'abus physique, 12,7% pour l'abus sexuel, 36,3% pour l'abus émotionnel, 16,3% pour la négligence physique et 18,4% pour la négligence émotionnelle (Stoltenborgh et al., 2015). De plus, les expériences de maltraitance engendrent des conséquences graves sur la santé et le bien-être. En effet, des études longitudinales suggèrent que les enfants ayant vécu des expériences de maltraitance sont plus susceptibles de souffrir de problèmes de santé physique ou mentale à l'âge adulte, tels que la dépression (Gilbert et al., 2009; Norman et al., 2012). D'ailleurs, environ un quart à un tiers des enfants ayant vécu des expériences de maltraitance répondent aux critères diagnostiques de la dépression d'ici la fin de la vingtaine (Gilbert et al., 2009). Il est donc impératif d'identifier les mécanismes sous-jacents à l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et le développement de symptômes dépressifs à l'âge adulte afin de mieux comprendre l'effet latent de ces expériences et de mieux prévenir les épisodes dépressifs auprès d'adultes ayant vécu de la maltraitance à l'enfance. Ainsi, l'objectif principal de ce mémoire vise à examiner le rôle de la méthylation de l'ADN et de la réactivité au stress dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte.

### **La maltraitance à l'enfance**

La maltraitance à l'enfance comprend tout acte commis (abus) ou omis (négligence) par un adulte qui cause un préjudice ou un risque de préjudice à un enfant (Leeb et al., 2008). Les expériences de maltraitance incluent l'abus physique, l'abus sexuel, l'abus psychologique, la négligence physique et la négligence émotionnelle. L'abus physique comprend toutes agressions physiques dirigées vers un enfant qui entraînent des blessures ou qui comportent un risque de blessures, telles que les coups (Leeb et al., 2008). L'abus sexuel comprend toutes activités sexuelles entre un enfant et un adulte, telles que les attouchements (Leeb et al., 2008). L'abus psychologique comprend toutes agressions verbales dirigées vers un enfant, telles que les insultes (Leeb et al., 2008). La négligence physique correspond à l'absence de réponse aux besoins physiques de l'enfant, tels que l'alimentation, l'hygiène corporelle et l'habillement (Leeb et al., 2008). La négligence émotionnelle correspond à l'absence de réponse aux besoins émotionnels de l'enfant, tels que les besoins d'amour et d'appartenance (Leeb et al., 2008). Bien que la recherche



sur la maltraitance à l'enfance se soit généralement concentrée sur un type d'abus ou de négligence, il est important de noter que la plupart des enfants subissent plus d'une forme de maltraitance (Higgins & McCabe, 2000).

Les expériences de maltraitance compromettent le développement de l'enfant, et ce, à travers plusieurs domaines de fonctionnement. De plus, les conséquences de la maltraitance tendent à persister jusqu'à l'âge adulte. Sur le plan académique, les enfants ayant vécu des expériences de maltraitance sont trois à quatre fois plus à risque d'abandonner leurs études secondaires et deux à trois fois plus à risque d'être au chômage à l'âge adulte que les enfants n'ayant pas vécu de telles expériences (Strathearn et al., 2020). Sur le plan de la santé physique, les enfants ayant vécu des expériences de maltraitance sont un à deux fois plus à risque de souffrir d'obésité et de diabète à l'âge adulte que les enfants n'ayant pas vécu de telles expériences (Strathearn et al., 2020). Sur le plan de la santé psychologique, les expériences de maltraitance à l'enfance augmentent le risque de développer des troubles internalisés, tels que l'anxiété et la dépression, et des troubles externalisés, tels que l'agressivité (Gilbert et al., 2009). Selon une méta-analyse récente, les enfants ayant vécu des expériences de maltraitance sont deux fois plus à risque de développer un trouble dépressif à l'âge adulte que les enfants n'ayant pas vécu de telles expériences (Li et al., 2016). D'ailleurs, cette méta-analyse rapporte que 59% des cas de dépression et d'anxiété sont attribuables aux expériences de maltraitance à l'enfance et qu'une réduction de 10% des expériences de maltraitance à l'enfance pourrait potentiellement prévenir 31,6 millions de cas de dépression et d'anxiété (Li et al., 2016). Compte tenu de la probabilité plus élevée de souffrir de symptômes dépressifs à l'âge adulte suite à des expériences de maltraitance à l'enfance, il est important d'étudier les mécanismes sous-jacents à l'association maltraitance-dépression.

### **La dépression à l'âge adulte**

En 2010, la dépression était la deuxième cause principale d'années de vie vécues avec une incapacité dans le monde (Ferrari et al., 2013). En 2015, 4,4% de la population mondiale souffraient de dépression, soit plus de 300 millions de personnes (World Health Organization, 2017). Puisque la dépression constitue un enjeu de santé publique majeur, il importe de mieux comprendre les facteurs de risque liés à son apparition et à son maintien.

Les troubles dépressifs se caractérisent par des changements importants aux plans affectif, cognitif et somatique, altérant considérablement le fonctionnement de l'individu. Les symptômes des troubles dépressifs comprennent 1) une humeur dépressive, 2) une diminution marquée de l'intérêt ou du plaisir, 3) une perte ou un gain de poids, 4) de l'insomnie ou de l'hypermnie, 5) une agitation ou un ralentissement psychomoteur, 6) une fatigue ou une perte d'énergie, 7) un sentiment de dévalorisation ou de culpabilité excessive ou inappropriée et 8) des pensées de morts récurrentes, des idées suicidaires récurrentes, des tentatives de suicides ou un plan précis pour se suicider (American Psychiatric Association, 2013). Par ailleurs, il est rare qu'une personne souffre d'un seul épisode dépressif, la dépression étant généralement chronique et récurrente (Kessler, 1993).

L'origine des troubles dépressifs est multifactorielle, impliquant à la fois des facteurs biologiques, psychologiques et environnementaux. Les événements stressants de la vie, tels que les expériences de maltraitance à l'enfance, semblent jouer un rôle primordial dans le développement de la dépression (Monroe & Simons, 1991). Plusieurs modèles théoriques ont été proposés pour comprendre l'étiologie de la dépression. Selon le modèle de la diathèse-stress (Monroe & Simons, 1991), la dépression résulte de l'interaction entre la diathèse, soit une vulnérabilité biologique héritable, et le stress, soit des événements de vie stressants. Ainsi, la sensibilité d'une personne face au stress varie en fonction de sa vulnérabilité biologique, telle que les variantes génétiques. Toutefois, ce modèle général de la dépression est réductionniste, puisque la vulnérabilité biologique est non seulement héritable, mais elle est variée également en fonction du temps. En effet, ce modèle tient trop peu compte du développement et des effets réciproques des processus biologiques et des interactions entre les personnes et leurs environnements. Par conséquent, il est plus judicieux d'étudier l'étiologie de la dépression selon une perspective développementale afin d'élucider les mécanismes propres à l'émergence de la dépression suite à des expériences de maltraitance à l'enfance.

### **Association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte : le modèle éco-bio-développemental**

Contrairement au modèle de la diathèse-stress (Monroe & Simons, 1991), le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009) stipule que la diathèse, bien qu'héritable, varie au fil du temps. Ainsi, la sensibilité à l'environnement varie de l'enfance à l'âge adulte, puisque les

systèmes neurobiologiques s'adaptent à l'environnement afin que l'organisme soit plus ou moins sensible aux environnements futurs.

Le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009) comprend trois composantes, soit la composante écologique, la composante biologique et la composante développementale. La composante écologique fait référence aux environnements, tels que l'environnement physique et l'environnement social de l'enfant. La composante biologique fait référence aux adaptations et aux perturbations des systèmes biologiques. L'un des systèmes biologiques les plus étudiés en regard de l'adversité précoce est l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénalien (HPS). L'activation de l'axe HPS en réponse à un stress physique ou psychologique entraîne la libération d'une hormone appelée « corticotropin-releasing hormone » (CRH) par l'hypothalamus, qui stimule ensuite la libération d'une autre hormone appelée « adrenocorticotropin » (ACTH) par la glande pituitaire, et qui stimule à son tour la libération de cortisol par les glandes surrénales (Koss & Gunnar, 2018). Une brève élévation de ces hormones de stress serait adaptative, alors qu'une élévation répétée et chronique serait toxique pour l'organisme (Shonkoff et al., 2009). En effet, les expériences de maltraitance à l'enfance sont associées des réponses cortisolaires atypiques à un stress psychosocial à l'âge adulte (McCrary et al., 2011). De plus, des patrons de réponses cortisolaires atypiques ont aussi été associés à une symptomatologie dépressive à l'âge adulte (Burke et al., 2005). Enfin, la composante développementale fait référence aux conséquences développementales des perturbations des systèmes neurobiologiques sur la santé et le bien-être, telles que la dépression.

Selon le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009), les expériences de maltraitance à l'enfance pourraient affecter la santé et le bien-être à l'âge adulte par l'effet latent de ces expériences. Lorsque les expériences de maltraitance ont lieu lors de périodes sensibles du développement, leurs effets pourraient s'intégrer de façon permanente dans les processus de régulation des systèmes neurobiologiques, tels que l'axe HPS, ce qui pourrait accroître la vulnérabilité de souffrir de troubles dépressifs à l'âge adulte. Il peut y avoir un décalage de plusieurs années, voire des décennies, avant que les expériences adverses à l'enfance ne se manifestent sous forme de troubles de santé physique ou mentale à l'âge adulte. Un des mécanismes proposés par ce modèle pour expliquer l'intégration biologique de ces expériences à

long terme est la régulation épigénétique de l'expression des gènes impliqués dans la régulation des systèmes neurobiologiques.

### **L'intégration biologique du stress par les marques épigénétiques**

L'épigénétique est l'étude des mécanismes biologiques qui régulent l'activité des gènes, et ce, sans en changer la séquence d'ADN. Les marques épigénétiques comprennent, entre autres, la méthylation de l'ADN, le remodelage de la chromatine et les modifications histoniques. La méthylation de l'ADN est la marque épigénétique la plus étudiée chez l'humain en raison de sa stabilité temporelle, ainsi que de l'accessibilité et la fiabilité des technologies disponibles pour la mesurer (Jones et al., 2018).

La méthylation de l'ADN correspond à l'addition d'un groupe méthyle (CH<sub>3</sub>) sur une base de cytosine adjacente à une base de guanine (CpG). Cette marque épigénétique interfère avec l'expression des gènes de deux façons. D'une part, les sites CpG méthylés empêchent la liaison des facteurs de transcription à la séquence d'ADN, ce qui empêche la transcription des gènes (Bird, 2002). D'autre part, les sites CpG méthylés se lient à des protéines qui restreignent la transcription des gènes (Bird, 2002). En général, les sites CpG méthylés situés dans les régions promotrices des gènes, où les facteurs de transcription se lient pour initier la transcription des gènes, sont associés à une diminution de l'expression des gènes (Bird, 1986). En revanche, les sites CpG méthylés situés dans le corps des gènes, soit la séquence d'ADN à transcrire, sont associés à la fois à une augmentation et à une diminution de l'expression des gènes (Jiang et al., 2013; Jjingo et al., 2012).

Les profils de méthylation de l'ADN sont non seulement influencés par le génome (Zhang et al., 2010), mais également par l'environnement (Feil & Fraga, 2012). Lors des périodes sensibles du développement, tels que la période prénatale et la période postnatale, les profils de méthylation de l'ADN seraient davantage sensibles aux influences environnementales (Boyce & Kobor, 2015). Ainsi, les expériences de maltraitance pourraient modifier les profils de méthylation de l'ADN, ce qui pourrait alors affecter le développement et le fonctionnement de plusieurs systèmes neurobiologiques, tels que l'axe HPS, en modifiant l'expression des gènes. D'ailleurs, les profils de méthylation de l'ADN sont maintenus lors de la division cellulaire. C'est notamment grâce à cette stabilité que la méthylation de l'ADN est supposée être impliquée dans

la relation entre les expériences adverses à l'enfance et les troubles de santé mentale à l'âge adulte.

### **Associations entre la maltraitance à l'enfance, la méthylation de l'ADN et la dépression à l'âge adulte**

L'influence de l'environnement social sur l'épigénome a d'abord été étudiée chez les animaux. Weaver et al. (2004) ont étudié les profils de méthylation du gène *NR3CI* chez le rat, puisque Liu et al. (1997) ont précédemment rapporté que la qualité des soins maternels reçus affecte la régulation de l'axe HPS chez le rat. En effet, le gène *NR3CI* code les récepteurs des glucocorticoïdes, auxquels se lie la corticostérone chez les animaux et le cortisol chez les humains. Weaver et al. (2004) ont rapporté que les rats ayant reçu moins de soins maternels à l'enfance montraient des niveaux de méthylation plus élevés dans le gène *NR3CI* et une réduction de l'expression de ce gène dans l'hippocampe à l'âge adulte. De plus, la réduction de l'expression du gène *NR3CI* était associée à une réactivité au stress plus élevée à l'âge adulte (Weaver et al., 2004). Chez l'humain, la maltraitance à l'enfance est aussi associée à un fonctionnement atypique de l'axe HPS (McCrary et al., 2011). McGowan et al. (2009) ont également rapporté des niveaux de méthylation plus élevés dans le gène *NR3CI* dans l'hippocampe de personnes décédées par suicide et ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance. Ainsi, ces résultats soutiennent que les expériences adverses à l'enfance peuvent modifier les profils de méthylation de l'ADN de gènes impliqués dans l'axe HPS et ainsi engendrer des perturbations de l'axe HPS, ce qui pourrait accroître la vulnérabilité de souffrir de troubles de santé mentale à l'âge adulte.

Bien que l'utilisation de tissus cérébraux soit plus pertinente pour évaluer le fonctionnement psychologique, la méthylation de l'ADN ne peut pas être directement mesurée dans le cerveau pour des raisons éthiques évidentes. Les chercheurs sont donc contraints d'utiliser des tissus périphériques, tels que le sang ou la salive, comme substituts des tissus cérébraux chez les humains vivants. La majorité des études ayant examiné la méthylation de l'ADN du gène *NR3CI* dans les tissus périphériques ont rapporté un taux de méthylation plus élevé chez les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance (Bustamante et al., 2016; Farrell et al., 2018; Martín-Blanco et al., 2014; Peng et al., 2018; Perroud et al., 2011; Shields et al., 2016; Suderman et al., 2012; Tyrka et al., 2012), ce qui concorde avec les études

ayant examiné la méthylation de l'ADN de ce gène dans les tissus cérébraux (Labonte et al., 2012; McGowan et al., 2009). De plus, la plupart des études chez les adultes dépressifs rapportent également un taux de méthylation plus élevé dans le gène *NR3C1* dans le sang (Farrell et al., 2018; Nantharat et al., 2015; Peng et al., 2018; Roy et al., 2017).

La maltraitance à l'enfance a également été associée à la méthylation de l'ADN d'autres gènes impliqués dans la régulation de l'axe HPS. Par exemple, le gène *FKBP5* code une protéine qui régule la sensibilité des récepteurs de glucocorticoïdes au cortisol. Les études ayant examiné la relation entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la méthylation du gène *FKBP5* à l'âge adulte rapporte des niveaux de méthylation plus faibles dans le gène *FKBP5* chez les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance (Klengel et al., 2013; Tozzi et al., 2018), ou bien aucune association (Bustamante et al., 2018; Farrell et al., 2018). De même, les études ayant examiné la relation entre les symptômes dépressifs et la méthylation du gène *FKBP5* à l'âge adulte rapporte également des niveaux de méthylation plus faibles chez les adultes dépressifs (Höhne et al., 2015; Roy et al., 2017), ou bien aucune association (Bustamante et al., 2018; Farrell et al., 2018).

Les études épigénétiques se sont également concentrées sur les gènes impliqués dans le mécanisme d'action des antidépresseurs, dont ceux qui régulent la quantité de sérotonine et de dopamine. Le gène *SLC6A4* code une protéine qui est responsable de la recapture de la sérotonine. Cinq études rapportent des niveaux de méthylation plus élevés chez les adultes dépressifs (Iga et al., 2016; Peng et al., 2018; Philibert et al., 2008; Won et al., 2016; Zhao et al., 2013), tandis que quatre autres études n'ont trouvé aucune association (Booij et al., 2015; Chagnon et al., 2015; Frodl et al., 2015; Olsson et al., 2010). De plus, la majorité des études rapportent également des niveaux de méthylation plus élevés pour ce gène chez les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance (Beach et al., 2010, 2011, 2013; Booij et al., 2015; Peng et al., 2018; Vijayendran et al., 2012). La méthylation de l'ADN du gène *SLC6A4* est associé à une réduction de l'expression du transporteur de la sérotonine, donc une augmentation de la méthylation prédirait une réduction de l'expression de ce gène chez les patients dépressifs et les individus victimes d'abus à l'enfance (Olsson et al., 2010; Philibert et al., 2008). Le gène *MAOA* code une protéine impliquée dans la dégradation de neurotransmetteurs, tels que la sérotonine et de la dopamine. Chez les adultes dépressifs, trois études ont rapporté des niveaux de

méthylation plus faibles (Melas et al., 2013, 2015; Peng et al., 2018), alors qu'une autre étude ont rapporté des niveaux de méthylation plus élevés (Checknita et al., 2018). Chez les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance, une étude rapporte des niveaux de méthylation plus élevés (Checknita et al., 2018), tandis qu'une autre ne rapporte aucun changement dans les profils de méthylation de l'ADN (Peng et al., 2018).

Les études épigénétiques se sont aussi concentrées sur les gènes impliqués dans la réponse inflammatoire, puisqu'elle est associée à la fois à la maltraitance et à la dépression (Liu et al., 2012). Par exemple, le gène *IL-6* code une cytokine pro-inflammatoire. Seule une étude a examiné la relation entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la méthylation du gène *IL-6* à l'âge adulte, rapportant des niveaux de méthylation plus faibles chez les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance (Janusek et al., 2017). De plus, les adultes qui affichaient des niveaux de méthylation plus faibles produisaient davantage de cytokines pro-inflammatoire en réponse à un stress psychosocial (Janusek et al., 2017). Une autre étude a examiné la relation entre les symptômes dépressifs et la méthylation de ce gène à l'âge adulte, rapportant également des niveaux de méthylation plus faibles chez les adultes dépressifs (Ryan et al., 2017).

### **L'effet médiateur de la méthylation de l'ADN**

Toutefois, les études mentionnées ci-haut n'examinent pas directement l'hypothèse selon laquelle la méthylation de l'ADN expliquerait, en partie, l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte. À ce jour, seules quatre études ont formellement testé cette hypothèse. Par exemple, Checknita et al. (2018) ont examiné la méthylation de l'ADN du gène *MAOA* à partir d'échantillons de salive chez 114 femmes et ont rapporté que la méthylation de l'ADN de 4 sites CpG (sur 7) expliquait, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. De même, Peng et al. (2018) ont examiné la méthylation de l'ADN du gène *NR3C1* à partir d'échantillons de sang chez 238 adultes et ont rapporté que la méthylation de l'ADN de 2 sites CpG (sur 25) expliquait, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. En revanche, Smearman et al. (2016) ont examiné la méthylation de l'ADN du gène *OXTR* à partir d'échantillons de sang chez 393 adultes et ont rapporté que la méthylation de l'ADN des 18 sites CpG examinés dans le gène *OXTR* n'expliquait pas, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. De plus, Bustamante et al. (2018) ont

examiné la méthylation de l'ADN du gène *FKBP5* à partir d'échantillons de sang chez 112 adultes et ont rapporté que la méthylation de l'ADN des quatre régions examinées n'expliquait pas, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. Bien que le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009) suggère que la méthylation de l'ADN pourrait expliquer une vulnérabilité plus élevée à la dépression suite à des expériences de maltraitance à l'enfance, les preuves empiriques soutenant le rôle médiateur de la méthylation de l'ADN sont encore limitées.

### **L'effet modérateur de la réactivité au stress**

Bien que les expériences de maltraitance aient la capacité de modifier les profils de méthylation de l'ADN de gènes impliqués dans l'axe HPS, leurs influences ne pourraient pas être les mêmes chez différentes personnes. Selon le modèle de la sensibilité biologique au contexte (Boyce & Ellis, 2005), les personnes réagiraient de façon différente face à des expériences stressantes. Ainsi, les différences individuelles dans la réactivité au stress pourraient exacerber la sensibilité de l'épigénome aux influences environnementales. Or, à ce jour, aucune étude n'a testé la possibilité que l'effet médiateur de la méthylation de l'ADN dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte puisse être accentué ou atténué par la réactivité cortisolaire au stress.

### **Objectifs de l'article de mémoire**

Ainsi, l'objectif principal de ce mémoire vise à examiner le rôle de la méthylation de l'ADN de plusieurs gènes candidats et de la réactivité au stress dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et la présence de symptômes dépressifs au début de l'âge adulte. Deux objectifs spécifiques seront poursuivis, soit 1) d'examiner si la méthylation de l'ADN explique l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte et 2) d'examiner si l'effet indirect de la méthylation de l'ADN varie en fonction de la réactivité au stress. Une illustration de ces objectifs est présentée dans l'article de mémoire.

### **Choix méthodologiques**

Compte tenu de la nature exploratoire de cette étude, des mesures dimensionnelles de la maltraitance et de la dépression ont été utilisées. Tel que mentionné précédemment, la plupart des enfants subissent plus d'une forme de maltraitance. Ainsi, plutôt que de se concentrer sur la



présence ou l'absence d'expériences de maltraitance à l'enfance, il est plus approprié de mesurer la sévérité des expériences de maltraitance. De plus, bien que certaines études mesurent la présence ou l'absence d'un diagnostic de dépression, la plupart des études utilisent une mesure dimensionnelle examinant plutôt la sévérité des symptômes dépressifs (Hankin, 2006).

Il existe deux approches pour étudier les profils de méthylation de l'ADN, soit 1) l'approche gène-candidat et 2) l'approche pangénomique. L'approche gène-candidat repose sur la sélection de gènes précédemment identifiés dans la littérature, tandis que l'approche pangénomique permet de générer de nouvelles hypothèses en étudiant les profils de méthylation à travers le génome. Dans la présente étude, l'approche par gènes candidats est utilisée, puisque la sélection a priori de gènes candidats basée sur la littérature scientifique permet non seulement de répliquer les résultats des études antérieures, mais également d'augmenter le pouvoir statistique de l'étude et de réduire les coûts associés à l'analyse de la méthylation de l'ADN. D'ailleurs, les gènes *COMT*, *FKBP5*, *IL-6*, *IL-10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3* et *SLC6A4* ont été sélectionnés parce qu'ils sont impliqués dans plusieurs systèmes biologiques susceptibles de jouer un rôle dans la régulation du stress, des émotions, des cognitions et des comportements, en plus d'avoir déjà montré des changements au niveau de la méthylation de l'ADN (voir Table 1 dans l'article de mémoire).

Bien que l'utilisation de tissus cérébraux soit plus adéquate pour évaluer la pathophysiologie de la dépression, il n'est pas possible de mesurer la méthylation de l'ADN dans le cerveau d'humains vivants. Ainsi, dans la présente étude, la méthylation de l'ADN est mesurée à partir d'échantillons de salive, puisque des études antérieures indiquent que les profils de méthylation de l'ADN dans la salive sont comparables à ceux des tissus cérébraux (Smith et al., 2015) et que le prélèvement d'échantillons de salive est moins invasif que le prélèvement d'échantillons de sang.

### **Contribution à l'article**

Ce projet de recherche a été conçu par la troisième auteure de l'article, Isabelle Ouellet-Morin, pour lequel elle a colligé l'ensemble des données. La première auteure de l'article, Maude Comtois-Cabana, a élaboré les objectifs de l'étude avec Isabelle Ouellet-Morin. Elle a également effectué l'ensemble des analyses statistiques et a rédigé l'article scientifique. La deuxième auteure de l'article, Nadine Provençal, a guidé l'étudiante dans l'analyse statistique des données

épigénétiques. Isabelle Ouellet-Morin et Nadine Provençal ont supervisé et dirigé l'étudiante dans l'ensemble des étapes de son projet de mémoire. Elles ont vérifié les analyses statistiques et révisé l'ensemble du mémoire, incluant l'article scientifique. La soumission de l'article dans un journal scientifique est prévue durant le trimestre d'automne 2020.

**Article de mémoire**

Child Maltreatment and Adult Depression: A Moderated Mediation Model of DNA Methylation  
and Stress Reactivity

Maude Comtois-Cabana<sup>1</sup>, Nadine Provençal<sup>2,3</sup>, and Isabelle Ouellet-Morin<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychology, University of Montreal

<sup>2</sup>Faculty of Health Sciences, Simon Fraser University

<sup>3</sup>BC Children's Hospital Research Institute

<sup>4</sup>School of Criminology, University of Montreal

<sup>5</sup>Research Center of the Montreal Mental Health University Institute

## Child Maltreatment and Adult Depression: A Moderated Mediation Model of DNA Methylation and Stress Reactivity

Prospective studies suggest that child maltreatment substantially increases the risk of depression in adulthood (Li et al., 2016). Moreover, the global prevalence of self-reported maltreatment experiences are 12.7% for sexual abuse, 22.6% for physical abuse, 36.3% for emotional abuse, 16.3% for physical neglect, and 18.4% for emotional neglect (Stoltenborgh et al., 2015). Therefore, it is imperative to better understand how child maltreatment increases the risk for depression (i.e., mediating factors) and in which contexts or for whom these symptoms are more likely to emerge following these experiences (i.e., moderating factors). A compelling body of theory and research suggests that exposure to stressful experiences in childhood, such as child maltreatment, becomes ‘biologically embedded’. Biological embedding refers to the possibility that biological marks are induced and maintained over time in response to early-life stress, thus altering the development and functioning of several neurobiological systems in a way that engenders latent vulnerability for mental health problems later in life (McCrorry & Viding, 2015). This hypothesis is supported, for example, by studies reporting atypical cortisol responses to stress in adults maltreated as children (e.g., Ouellet-Morin et al., 2019). Despite increasing knowledge of the neurobiological consequences of child maltreatment, the molecular mechanisms underlying these associations remain unclear. In recent years, epigenetic marks have emerged as strong candidates to explain how early-life stress, such as child maltreatment, may induce long lasting changes that increase vulnerability to mental health problems later in life (Provençal & Binder, 2015).

The most studied epigenetic mark is DNA methylation (DNAm), which refers to the addition of a methyl group (CH<sub>3</sub>) onto a cytosine base followed by a guanine base (i.e., CpG site). The main function of DNAm is to regulate gene expression in specific tissues. These marks either attract repressive factors or can interfere with transcription activators binding to the DNA to regulate gene expression. Importantly, DNAm profiles can be mitotically passed on during cell division, which may induce stable alterations in gene activity over time, and thus increasing the likelihood of downstream effects on a wide range of neurobiological systems. In addition to being responsive to the genome (Zhang et al., 2010), DNAm profiles are also responsive to environmental influences (Feil & Fraga, 2012).

The vast majority of the studies investigating the role of DNAm as a putative mechanism by which child maltreatment increases the risk for depression have done so using a candidate gene approach, whereby genes are pre-selected on the basis of prior findings and their known role in neurobiological systems relevant to depression and more sensitive to early-life stress (see Table 1). In that search, genes regulating the response to stress, namely the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, have been extensively studied. *NR3C1* (*nuclear receptor subfamily 3 group C member 1*), which encodes the glucocorticoid receptors, and *FKBP5* (*FK506 binding protein 5*), which encodes a protein that regulates the sensitivity of glucocorticoid receptors to cortisol, have been extensively studied. Distinct profiles of *NR3C1* and *FKBP5* methylation have been reported among adults who experienced (or not) maltreatment as children or suffer from depression. While the majority of studies detected higher levels of *NR3C1* methylation in blood, saliva and brain tissues of adults who experienced maltreatment as children (Bustamante et al., 2016; Farrell et al., 2018; Labonte et al., 2012; Martín-Blanco et al., 2014; McGowan et al., 2009; Peng et al., 2018; Perroud et al., 2011; Shields et al., 2016; Suderman et al., 2012; Tyrka et al., 2012), others reported lower levels of *NR3C1* methylation (Tyrka et al., 2016) or no association (Alexander et al., 2018; Steiger et al., 2013; Vangeel et al., 2015, 2018). Regarding depression, four studies detected higher levels of *NR3C1* methylation in blood samples of depressed adults in comparison to healthy controls (Farrell et al., 2018; Nantharat et al., 2015; Peng et al., 2018; Roy et al., 2017), whereas two studies reported opposite findings depicting lower levels of *NR3C1* methylation in the same biological sample (Bustamante et al., 2016; Na et al., 2014) and one reported no differences in brain tissues (Alt et al., 2010). Regarding *FKBP5*, findings have been mixed so far. Two studies detected lower levels of *FKBP5* methylation in adults exposed to child maltreatment (Klengel et al., 2013; Tozzi et al., 2018) and two studies reported no difference (Bustamante et al., 2018; Farrell et al., 2018). Furthermore, two studies detected higher levels of *FKBP5* methylation among depressed adults (Höhne et al., 2015; Roy et al., 2017) while two other studies did not find an association between these two variables (Bustamante et al., 2018; Farrell et al., 2018). Genes related to neurotransmitter pathways have also been prime candidates for methylation studies, especially those involved in the serotonergic and dopaminergic pathways. *SLC6A4* (*solute carrier family 6 member 4*) encodes the serotonin transporters responsible for serotonin reuptake, and *MAOA* (*monoamine oxidase A*) encodes an enzyme involved in the degradation of neurotransmitters, such as dopamine and

serotonin. In both genes, DNAm marks were found to be associated with child maltreatment and depression where, here as well, findings were not always consistent across studies. While the majority of studies conducted among adults exposed to child maltreatment detected higher levels of *SLC6A4* methylation from blood samples (Beach et al., 2010, 2011, 2013; Booij et al., 2015; Peng et al., 2018; Vijayendran et al., 2012), two other studies reported no association in blood samples (Kang et al., 2013; Wankerl et al., 2014). Regarding depression, five studies detected higher levels of *SLC6A4* methylation in blood samples (Iga et al., 2016; Peng et al., 2018; Philibert et al., 2008; Won et al., 2016; Zhao et al., 2013), whereas four studies reported no association in blood samples, saliva samples and buccal cells (Booij et al., 2015; Chagnon et al., 2015; Frodl et al., 2015; Olsson et al., 2010). Regarding *MAOA*, one study detected higher levels of *MAOA* methylation from saliva samples among female adults with a history of sexual abuse (Checknita et al., 2018). Conversely, one study in male and female adults found no association between physical, emotional, or sexual abuse and *MAOA* methylation from blood samples (Peng et al., 2018). Furthermore, three studies detected lower levels of *MAOA* methylation in blood and saliva samples of depressed adults (Melas et al., 2013, 2015; Peng et al., 2018), whereas one found higher levels of *MAOA* methylation in the saliva samples of depressed women (Checknita et al., 2018). Neuroendocrine pathway genes, such as *OXTR* (*oxytocin receptor*), which encodes oxytocin receptors, were also found to significantly associate with depressive symptoms (Chagnon et al., 2015; Reiner et al., 2015), with weak evidence to date for its association with child maltreatment (Gouin et al., 2017; Kogan et al., 2019; Smearman et al., 2016). Given the association between child maltreatment and depression with inflammation (Liu et al., 2012), DNAm studies also investigated immune-related genes. So far, the methylation levels of *IL-6* (*interleukin-6*), which encodes pro-inflammatory cytokines, were found to be associated with child maltreatment and depression (Janusek et al., 2017; Ryan et al., 2017), but these results need further replication.

Altogether, only circumstantial evidence supports the hypothesis that DNAm may partly explain how depressive symptoms are more likely to arise (and to a greater severity) among adults maltreated as children. Indeed, to this day, very few studies have formally tested the mediating role of DNAm. This requires going beyond the investigation of the bivariate associations between DNAm and child maltreatment or depression, and to use widely-accepted statistical strategies to estimate the significance of the hypothesized indirect effect linking them.

For instance, Bustamante et al. (2018) found that *FKBP5* methylation levels did not explain the association between child maltreatment and the severity of depressive symptoms among adults. Similarly, Smearman et al. (2016) found that *OXTR* methylation levels did not mediate the association between child maltreatment and depression and anxiety symptoms in adulthood. In contrast, Checknita et al. (2018) found that higher levels of *MAOA* methylation mediated the association between sexual abuse and depression. In sum, despite theorizations suggesting that DNAm partly explains the higher risk of depression following child maltreatment, empirical evidence is still limited, and so far, rather inconsistent.

In addition, the extent to which DNAm may partly explain how child maltreatment increases the risk for depressive symptomatology may differ across individuals and contexts. According to Biological Sensitivity to Context (BSC) model (Boyce & Ellis, 2005), the impact of individual differences in responsivity to stress depends on the context in which children grow up, from the positive to the most harmful ones. The hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis is one of the two main systems underlying the physiological response to stress. Under conditions of acute stress, temporary elevations of cortisol – the glucocorticoid hormone secreted by the HPA axis – are generally considered to be an adaptive response to stress. Inversely, under conditions of chronic stress, prolonged, repeated, or insufficient cortisol secretion are considered to be maladaptive and potentially harmful in the long run (Koss & Gunnar, 2018). Previous studies conducted among adults maltreated as children detected atypical cortisol responses to stress, which generally involve lower, but sometimes also higher cortisol responses to a psychosocial challenge (e.g., Ouellet-Morin et al., 2019). Although cortisol secretion does not work in isolation, individual differences in cortisol secretion – either inherited or induced by child maltreatment – may strengthen the mediating role of DNAm to the maltreatment-depression association. Interestingly, Wiechmann et al. (2019) found that *FKBP5* methylation levels show dynamic changes following a dexamethasone challenge. Moreover, exposure to glucocorticoids can change the set points of future transcriptional responses to stress by inducing lasting DNAm changes (Provençal et al., 2019), which could also modify the impact of changes in DNAm following maltreatment on later mental health. In line with these preliminary findings, we hypothesize that the concentration of glucocorticoids in the cellular environment may affect the magnitude of the association between child maltreatment, DNAm mechanisms, and depressive symptoms, especially in genes involved in the stress response. To the best of our knowledge, no

study has yet tested the possibility that the mediating role of DNAm in the association between child maltreatment and depression may be conditional on cortisol responses to stress (i.e., moderated mediation).

The current study aimed to extend current evidence suggesting that DNAm and stress reactivity may play a role in the association between child maltreatment and adult depressive symptoms. Specifically, two objectives were pursued. Firstly, we examined whether the methylation levels of nine genes involved in the regulation of stress, emotions and behaviors (*COMT*, *FKBP5*, *IL6*, *IL10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3*, and *SLC6A4*) partly explain the association between child maltreatment and adult depressive symptoms. Secondly, we tested whether the mediating effect of DNAm to the association between child maltreatment and depressive symptomatology in early adulthood could be modulated by individual differences in sensitivity to stress, captured in this study by cortisol response to psychosocial stress (see Figure 1).

## **Method**

### **Participants**

The sample included 160 men aged from 18 to 35 years ( $M = 24.06$ ,  $SD = 3.70$ ). Participants were selected from a larger study aiming to identify the mechanisms by which victimization experiences in childhood and adolescence increase the use of aggressive behaviors among a population-based sample of young male adults. This group was targeted for three reasons. First, aggressive behaviors are more common in males than in females (Archer, 2004). Moreover, cortisol responses to stress and DNAm profiles appear to differ according to participants' biological sex (Carpenter et al., 2009; Kudielka et al., 2004; Yousefi et al., 2015). Second, emerging adulthood represents a transitional stage from dependency (i.e., adolescence) to autonomy (i.e., adulthood), a stressful period in which individuals are at heightened risk to develop mental health problems (Hagan et al., 2014). Third, there is little evidence about the biological and psychological consequences of child maltreatment for this age group (Toth & Cicchetti, 2013). Of the 160 participants, four were removed because they had previously participated in the Trier Social Stress Test, resulting in a final sample of 156 participants.

### **Procedure**



Participants were recruited for a study about early life experiences via advertisements displayed on public billboards and posted online on the Center for Studies on Human Stress's website. In order to recruit enough participants with a history of child maltreatment, the advertisements insisted on memories of childhood and adolescence. Trained research assistants conducted a short phone interview with interested individuals, in which the questions regarding child maltreatment experiences were asked in the context of 'when you were growing up'. Eligible participants were invited to a single laboratory session at the Center for Studies on Human Stress, which lasted about three hours and a half. The sampling strategy was blind in regards to depressive symptomatology. Upon their arrival at the laboratory, participants were once again informed about the study procedures and provided written consent. Next, participants engaged in the Trier Social Stress Test (TSST), a standardized protocol that induces a social-evaluative threat by subjecting participants to a five-minute public speaking test and a five-minute mental arithmetic test in front of a "panel of behavioral experts" (Kirschbaum et al., 1993). Participants were separated from the panel by a one-way window and communicated together via an intercom. Participants were also filmed with a video camera and were instructed to use a microphone to increase the stressful nature of the protocol. The TSST has been shown to significantly increase cortisol levels regardless of the location of the panel, namely inside or outside the testing room (Andrews et al., 2007). All participants engaged in the TSST in the early afternoon ( $M = 13:41$ ,  $SD = 0:53$ ) to reduce variation in baseline cortisol levels. Saliva samples were collected before and after the TSST to measure the baseline levels and the cortisol stress response. All participants provided saliva samples for DNA extraction approximately two hours after the TSST. Participants completed a questionnaire measuring depressive symptoms at the end of the visit. This study was approved by the ethics committee of the Research Center of the Montreal Mental Health University Institute. Data collection took place between July 2013 and December 2014.

## **Measures**

**Child maltreatment.** Maltreatment experiences in childhood and adolescence were assessed retrospectively using the Childhood Trauma Questionnaire – Short form (CTQ-SF; Bernstein et al., 2003), which measures five types of traumatic experiences, including emotional abuse, physical abuse, sexual abuse, emotional neglect, and physical neglect. Participants rated the extent to which each of the 28 items (25 clinical items and 3 validity items) corresponded to

past experience on a five-point Likert scale ranging from 1 = “never true” to 5 = “very often true”, leading to total scores 5 to 25 on each subscale. The severity of maltreatment experiences was calculated by summing up all 25 items. In this sample, participants’ scores varied from 25 to 76 ( $M = 37.43$ ,  $SD = 11.04$ ). Of note, the scores of three participants were winsorized by setting them to the next highest value within three standard deviations from the sample’s mean to avoid the disproportional weight of these higher scores in the subsequent analyses.

**Depressive symptoms.** Current depressive symptoms were assessed using the Beck Depression Inventory-II (BDI-II; Beck et al., 1996). Participants rated each of the 21 items according to their severity in the past two weeks using a four-point Likert scale ranging from 0 = “not present” to 3 = “severe. The severity of depressive symptoms was calculated by summing up all 21 items. In this sample, participants’ scores varied from 0 to 44 ( $M = 10.48$ ,  $SD = 8.79$ ). The score of three participants were winsorized according to the aforementioned strategy.

**Cortisol response to stress.** Cortisol levels were measured by collecting five saliva samples via passive drool. Two samples were collected 20 minutes (T1), and 2 minutes (T2) before the TSST and three samples were collected 15 (T3), 25 (T4), and 35 minutes (T5) after the beginning of the TSST. Saliva samples were then stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  and analyzed altogether using a high sensitivity enzyme immune assay kit (Salimetrics State College, PA, Catalogue No. 1-3102). This assay had a range of detection between 0.012 and 3 ug/dL and the intra-assay and inter-assay coefficients of variation were 4.1% and 8.3%, respectively. All samples were analyzed twice. Prior to statistical analyses, all samples were winsorized and log-transformed. A total of 12 samples were winsorized according to their respective point of reference (T1:  $n=2$ ; T2:  $n=0$ ; T3:  $n=3$ ; T4:  $n=4$ ; and T5:  $n=3$ ). The area under the curve with respect to the ground (AUCg) and the area under the curve with respect to the increase (AUCi) were calculated for each participant according to the equations specified in Pruessner et al. (2003). The AUCg is an estimate of the overall secretion of cortisol, whereas the AUCi is an estimate of the change in cortisol levels over time.

**DNA methylation.** Saliva samples were collected using the Oragene Self-Collection Kit (DNA Genotek, Kanata, Ontario, Canada). Genomic DNA was treated with bisulfite using the EZ-DNA Methylation Gold Kit (Zymo Research, California, United States) according to the manufacturer’s protocol. DNAm levels of 442 CpG sites previously investigated within nine

candidate genes (*COMT*, *FKBP5*, *IL6*, *IL10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3* and *SLC6A4*, see Table 1 for detailed locations) were quantified using the EpiTYPER MassARRAY technology (Agena Bioscience, California, United States). DNAm analysis was performed by Génome Québec (Montreal, Canada). Methylation levels at each CpG sites were calculated as the percentage of the surface area of the peak representing the methylated fragment by the total surface area of the peaks of both methylated and unmethylated fragments. Methylation values varied from 0 % (unmethylated) to 100 % (fully methylated). CpG sites with high mass or low mass as well as duplicates were removed ( $n = 116$ ). CpG sites with greater than 20% missing values were removed ( $n = 6$ ), as were the CpG sites with greater than 80% of zeros ( $n = 14$ ). Finally, CpG sites within the same gene that were positively and perfectly correlated ( $r = 1.00$ ) have been grouped into a single variable, resulting in a final sample of 191 CpG sites.

**Potential confounding variables.** Information about the sociodemographic, health, and lifestyle characteristics, including age, height, weight, smoking, drug consumption, alcohol consumption, and having had influenza in the past month were enquired during the phone interview. The Body Mass Index (BMI) was calculated for each participant by dividing his or her body weight (in kilograms) by the square of his or her body height (in meters).

### **Statistical analyses**

All statistical analyses were performed using R 3.6.0 (R Core Team, 2016). We first tested the bivariate associations between DNAm and child maltreatment or depressive symptoms using a series of linear regressions in which DNAm level at each CpG site was the dependent variable and child maltreatment or depressive symptoms were included in the model as an independent variable. We also examined these associations within specific genomic regions, where the CpG sites of the same gene that were correlated at  $r \geq 0.50$  and located within 500 base pairs of each other were grouped. The mean scores of the designated CpG sites were then used.

To examine the mediating role of DNAm in the association between child maltreatment and depressive symptoms, we performed a model-based mediation analysis, using the mediation package in R (Tingley et al., 2014). This method uses the information of two linear regression models: (1) DNAm as the dependent variable and child maltreatment as the independent variable and (2) depressive symptoms as the dependent variable and child maltreatment and DNAm as independent variables. The mediating effect is considered statistically significant when the lower

and the upper bounds of the 95% confidence interval of the indirect effect does not include zero. Confidence intervals were estimated by using 1,000 Monte Carlo simulations. To avoid unnecessary tests and thus minimize the likelihood of identifying false positives, the mediation analysis focused on CpG sites that had been deemed significant according to both bivariate associations with child maltreatment and depressive symptoms.

To examine the moderating role of the cortisol stress response to the previously-described mediation model, we performed a moderated mediation analysis, using the sem function in the lavaan package (Rosseel, 2012). All predictors were mean-centered prior to analyses. The moderating effect is considered statistically significant when the lower and the upper bounds of the 95% confidence interval of the designated parameter does not include zero. Confidence intervals were estimated by 1,000 bias-corrected simulations. The moderated mediation analysis only focused on CpG sites investigated for the mediation.

Significant associations were rerun with confounding variables showing an association of  $p < 0.10$  with child maltreatment, DNAm or depressive symptoms. To do so, we tested in preliminary analyses the associations between these main variables and a wide range of individual characteristics known to co-vary with child maltreatment and depressive symptoms or affecting DNAm, including age, smoking, drug consumption, alcohol consumption, body mass index (BMI) and having had influenza in the past month. Only age and drug consumption were associated with the methylation level of several CpG sites, as well as with depressive symptoms. These variables were thus included in the linear regressions as potential confounders. Smoking and having had influenza in the past month were associated with the cortisol response to stress and were controlled for in the moderated mediation model. The unstandardized AUCg and AUCi were then extracted to test the moderated mediation model. As both depressive symptoms and AUCi – the cortisol response to the psychosocial stress – were associated with AUCg – the overall secretion of cortisol during this period –, we also controlled for AUCg in the moderated mediation model.

Correction for multiple testing was performed using the false discovery rate (FDR). As none of the results were significant after this correction at  $FDR < 0.20$  and given the exploratory nature of this study, all results nominally significant at  $p < 0.05$  were deemed of interest and discussed accordingly.

## Results

### Association between child maltreatment and depressive symptoms

As reported previously in this sample (Cantave et al., 2019), child maltreatment was significantly associated with depressive symptoms ( $B = 0.25, p < 0.001$ ), whereby child maltreatment explained 10% of the variance of depressive symptoms ( $R^2 = 0.10, F(1, 154) = 17.39, p = < 0.001$ ).

### Associations between child maltreatment and DNA methylation

Child maltreatment was significantly associated with the methylation levels of 9 CpG sites, namely 1 site in the *MAOA* gene, 2 sites in the *NR3C1* gene, 4 sites in the *SLC6A3* gene and 2 sites in the *SLC6A4* gene (see Unadjusted Models in Table 2). After adjusting for age and drug consumption, only 8 CpG sites remained significant (see Adjusted Models in Table 2). Effect sizes varied between 2.51% to 4.82%. However, none of these associations survived multiple testing correction. In addition, grouping the CpG sites per regions did not yield additional significant findings.

### Associations between DNA methylation and depressive symptoms

Depressive symptoms were significantly associated with the methylation levels of 14 CpG sites, namely 1 site in the *IL6* gene, 1 site in the *IL10* gene, 2 sites in the *NR3C1* gene, 1 site in the *OXTR* gene, 3 sites in the *SLC6A3* gene and 6 sites in the *SLC6A4* gene (see Unadjusted Models in Table 3). Of these, 3 CpG sites (1 in *NR3C1*, *SLC6A3*, and *SLC6A4* genes) were also associated with child maltreatment. After adjusting for age and drug consumption, only 8 CpG sites remained significant, including the 2 of the 3 sites also associated with child maltreatment (see Adjusted Models in Table 3). Effect sizes varied between 2.54% to 4.96%. However, none of these associations survived multiple testing correction. Once again, grouping the CpG sites per regions did not yield additional significant findings.

### Mediation Analyses

The mediation analyses focused on the CpG sites associated with both child maltreatment and depressive symptoms in the bivariate analyses. The methylation level of NR3C1\_2\_CpG\_49to52 did not mediate the association between maltreatment and depressive symptoms (see Figure 2a). While the coefficient linking child maltreatment to the methylation level of NR3C1\_2\_CpG\_49to52 was still significant ( $B = 0.04, p = 0.01$ ), the one estimating the

methylation level of NR3C1\_2\_CpG\_49to52 and depressive symptoms was no longer significant ( $B = 0.47, p = 0.15$ ). The bootstrapped unstandardized coefficient representing the indirect effect was 0.02, for which the 95% confidence interval ranged from -0.006 to 0.050, indicating a non-significant mediation effect ( $p = 0.15$ ). After adjusting for age and drug consumption, the bootstrapped unstandardized indirect effect remained practically unchanged ( $B = 0.02, 95\% \text{ CI} = -0.003 \text{ to } 0.060, p = 0.13$ ).

The methylation level of SLC6A3\_1\_CpG\_16 did not mediate the association between child maltreatment and depressive symptoms (see Figure 2b). Once more, while the regression coefficient representing the association between maltreatment and the methylation level of SLC6A3\_1\_CpG\_16 was significant ( $B = -0.05, p = 0.02$ ), the association between this CpG site and depressive symptoms was no longer significant ( $B = -0.39, p = 0.08$ ). The bootstrapped unstandardized indirect effect was 0.02, and the 95% confidence interval ranged from -0.003 to 0.060, suggesting a non-significant indirect effect ( $p = 0.11$ ). A similar finding was noted when adjusting for age and drug consumption (bootstrapped unstandardized indirect effect:  $B = 0.02, 95\% \text{ CI} = -0.003 \text{ to } 0.050, p = 0.11$ ).

The methylation level of SLC6A4\_2\_CpG\_28and29 did not either mediate the association between maltreatment and depressive symptoms (see Figure 2c). Once again, the regression coefficient between maltreatment and the methylation level of SLC6A4\_2\_CpG\_28and29 remain significant ( $B = -0.01, p = 0.03$ ) when considering simultaneously depressive symptoms, but the same was not true for the association between this CpG site and depressive symptoms ( $B = -1.75, p = 0.09$ ). The bootstrapped unstandardized indirect effect was 0.02 (95% confidence interval ranged from -0.004 to 0.050), signaling a non-significant indirect effect ( $p = 0.13$ ). After adjusting for age and drug consumption, the bootstrapped unstandardized indirect effect remained non-significant ( $B = 0.01, 95\% \text{ CI} = -0.008 \text{ to } 0.040, p = 0.27$ ).

### **Moderated Mediation Analyses**

The moderated mediation analyses further tested the possibility that the mediating role of CpG sites associated with both child maltreatment and depressive symptoms could be affected by the participants' cortisol response to the psychosocial stress test. As reported in Table 4, child maltreatment is positively associated with depressive symptom ( $B = 0.24, p < 0.001$ ) and methylation levels of NR3C1\_2\_CpG\_49to52 ( $B = 0.04, p = 0.01$ ). This CpG site was not, however, related to depressive symptoms ( $B = 0.35, p = 0.28$ ). The moderated mediation model

shows that the cortisol stress response did not moderate the association between child maltreatment and the methylation level of NR3C1\_2\_CpG\_49to52 ( $B = 0.02, p = 0.27$ ), nor did it affect its association between this CpG site and depressive symptoms ( $B = -0.01, p = 0.98$ ). The findings remained the same when including the potential confounders to the model and when discarding subsequently the interaction terms one by one.

As Table 5 illustrates, the cortisol stress response did not moderate either the association between child maltreatment and the methylation level of SLC6A3\_1\_CpG\_16 ( $B = -0.01, p = 0.81$ ), as well as the association between the methylation level of SLC6A3\_1\_CpG\_16 and depressive symptoms ( $B = -0.09, p = 0.73$ ). Similar results were found after adjusting for confounding variables and when removing the interaction terms.

Finally, as reported in Table 6, the results indicated that the methylation level of SLC6A4\_2\_CpG\_28and29 did not mediate the association between child maltreatment and depressive symptoms and that the cortisol stress response did not moderate the targeted associations (between maltreatment and DNAm of SLC6A4\_2\_CpG\_28and29:  $B = -0.01, p = 0.15$ ; between DNAm of SLC6A4\_2\_CpG\_28and29 and depressive symptoms:  $B = 1.66, p = 0.12$ ). Comparable findings were found after adjusting for confounding variables and when removing the interaction terms.

## Discussion

In the present study, we aimed to test preliminary evidence suggesting that DNAm and stress reactivity may play a role in the association between child maltreatment and adult depression. Specifically, we examined whether the maltreatment-depression association could be explained, in part, by the methylation levels of nine genes involved in the regulation of stress, emotions and behaviors (i.e., mediation) and whether its mediating effect could be exacerbated (or buffered) by individual differences in sensitivity to stress (i.e., moderated mediation). While we did not find evidence for mediation or moderated mediation, our study replicated a large body of findings suggesting higher levels of depressive symptoms in individuals with a history of child maltreatment (for a review, see Humphreys et al., 2020). We also extended findings focusing on bivariate associations between DNAm and child maltreatment or depression.

Our results indicate that child maltreatment is associated with DNAm in several candidate genes related to the stress response or affected by stress. In line with previous studies (Breton et al., 2017; Shah et al., 2015), the effect sizes of the associations we uncovered between child

maltreatment and salivary DNAm were relatively small (< 5%). Moreover, none of the CpG sites deemed significant according to a nominal p value of .05 sustained multiple testing correction. Nonetheless, these signals remain of interest for future investigations and contributed to foster a greater collective knowledge into the expected role of DNAm in the maltreatment-depression association. Specifically, our results indicate that adults who reported higher levels of child maltreatment showed higher levels of methylation at two CpG sites across the promoter region of *NR3CI* (out of 34), including one within the exon 1<sub>B</sub> and one within the exon 1<sub>C</sub>. In a study of men who died by suicide and who had a history of child abuse, the methylation levels of *NR3CI* promoter region in the hippocampus showed differential methylation at two CpG sites within the exon 1<sub>C</sub> (out of 18), and three CpG sites at the exon 1<sub>H</sub> (out of 13) compared to men who died by suicide without such a history (Labonte et al., 2012). Contrary to our findings, this study did not report differences at any of the 12 CpG sites investigated within the exon 1<sub>B</sub> (Labonte et al., 2012). In addition, the two CpG sites that we found to be associated with child maltreatment did not correspond to those reported by Labonte et al. (2012). Additionally, no difference were found in methylation levels of the 195 CpG sites investigated within *NR3CI* exons 1<sub>B</sub>, 1<sub>C</sub>, 1<sub>F</sub> and 1<sub>H</sub> of in blood samples of women with bulimia nervosa who were (or not) abused as children (Steiger et al., 2013). Although the majority of studies have found a positive association between child maltreatment and *NR3CI* methylation (Turecki & Meaney, 2016), inconsistencies exist, especially when focusing on specific CpG sites. This may be partly due to the use of different biological tissues to measure DNAm. Indeed, as DNAm plays an important role in cell differentiation (Farré et al., 2015), it is unclear whether the observed inter-individual differences in DNAm levels are attributable to the exposure to child maltreatment or tissue specificity.

Our results also indicate that adults who reported higher levels of child maltreatment had lower levels of methylation at two CpG sites across the *SLC6A4* promoter region (out of 31). Our findings, however, contrast with prior studies that have reported higher levels of *SLC6A4* methylation in blood samples of adults exposed to child maltreatment (Beach et al., 2009, 2011, 2013; Booij et al., 2015; Peng et al., 2018; Vijayendran et al., 2012). Notably, these studies mainly focused on sexual abuse in samples primarily composed of female participants. Because women tend to be exposed to more sexual abuse (Finkelhor, 1994), we wondered whether this pattern of association is sexually-dysmorphic, which could yield to mean differences between victims and non-victims, but of an opposition direction, in samples only composed of men like



ours. Interestingly, our results indicate that adults who reported higher levels of child maltreatment had both higher and lower levels of methylation at four CpG sites within the *SLC6A3* promoter region (out of 27). So far, no study has yet investigated the association between child maltreatment and DNAm of the *SLC6A3* gene in humans.

Contrary to prior evidence that child maltreatment may be associated with the methylation levels of *FKBP5* (Klengel et al., 2013; Tozzi et al., 2018), *IL-6* (Janusek et al., 2017) and *MAOA* genes (Checknita et al., 2018), we did not find evidence for a differential pattern of methylation between adults who have and have not been maltreated as children in our sample. Our findings are thus in line with other studies that have also reported no association between child maltreatment and the *FKBP5* methylation levels (Farrell et al., 2018; Bustamante et al., 2018) and *MAOA* genes (Peng et al., 2018). In addition to variation related to the biological tissue used to measure DNAm, we speculated that the strategy to measure and operationalized (i.e., dichotomized or continuously distributed) child maltreatment may further exacerbate these inconsistencies. Finally, we did not find an association between *OXTR* methylation and child maltreatment, which somewhat aligns with previous studies that reported weak evidence for association (Gouin et al., 2017; Kogan et al., 2018; Smearman et al., 2016). Together, these results suggest that additional studies are needed to further test the presence, strength and direction of the associations between child maltreatment and DNAm, which would enable meta-analyses to subsequently determine more accurately these associations and further document the impact of the selected methodology on the reported findings.

Furthermore, our results indicate that variations in current depressive symptoms are associated with DNAm at several CpG sites. Here again, the effect sizes were relatively small (< 5%) and none of the CpG sites resisted multiple testing correction. Our results indicate that adults who reported higher levels of depressive symptoms exhibited higher levels of methylation at two CpG sites across the *NR3C1* promoter region (out of 34). Similarly, four studies have detected higher levels of *NR3C1* methylation gene in blood samples of depressed adults in comparison to controls (Farrell et al., 2018; Nantharat et al., 2015; Peng et al., 2018; Roy et al., 2017). However, two studies reported lower levels of *NR3C1* methylation in the same biological sample (Bustamante et al., 2016; Na et al., 2014) and one reported no differences in brain tissues (Alt et al., 2010). Since we are the first to investigate the association between adult depression and

*NR3C1* methylation in saliva samples, it is noteworthy that our findings are similar to those examining *NR3C1* methylation in blood samples.

Our results also indicate that adults who reported higher levels of depressive symptoms exhibited lower levels of methylation at three CpG sites across *SLC6A4* promoter region (out of 31). Conversely, five studies detected higher levels of *SLC6A4* methylation in blood samples (Iga et al., 2016; Peng et al., 2018; Philibert et al., 2008; Won et al., 2016; Zhao et al., 2013), whereas four studies reported null associations in blood samples, saliva samples and buccal cells (Booij et al., 2015; Chagnon et al., 2015; Frodl et al., 2015; Olsson et al., 2010). In addition to the absence of a « real » effect, inconsistent findings may be partly explained by the use of different biological tissues to extract DNA or the composition of the sample (population-based vs. clinically-based samples).

Although dopamine plays a role in motivation, mood and cognition (Missale et al., 1998), no study investigated the association between depressive symptoms and *SLC6A3* methylation. Our results indicate that adults who reported higher levels of depressive symptoms exhibited lower levels of methylation at two CpG sites across the *SLC6A3* promoter region (out of 27). Finally, we showed that adults who reported higher levels of depressive symptoms had lower levels of methylation at one CpG site across *IL-6* promoter region (out of 10), which is consistent with the study of Ryan et al. (2017), who also reported lower levels of methylation at one CpG site across *IL-6* promoter region (out of 4) in saliva samples of depressed adults (Ryan et al., 2017). Of note, although some studies reported differentially methylated CpG sites in *FKBP5* (Höhne et al., 2015; Roy et al., 2017), *MAOA* (Checknita et al., 2018; Melas et al., 2013, 2015; Peng et al., 2018) and *OXTR* genes (Chagnon et al., 2015; Reiner et al., 2015) among participants who reported depressive symptoms, we found no evidence for this association in our sample. Similarly to the child maltreatment-DNAM association, additional studies are required to allow meta-analytic work to assess with greater accuracy the association between DNAM and depressive symptoms.

Despite much theorization and accumulating, albeit inconsistent, evidence offering support for the idea that DNAM may represent a putative molecular mechanism by which child maltreatment may exert a long-lasting influence on stress-related disorders, including depression, only a handful of studies formally tested a mediation model. We elected to focus our tests of mediation on three CpG sites located within the *NR3C1*, *SLC6A3* and *SLC6A4* genes for which

associations with child maltreatment *and* concurrent depressive symptoms were significant at a  $p < .05$ . Our results suggest that DNAm did not explain (or mediate) the association between child maltreatment and adult depression. So far, only four studies tested the hypothesized mediating role of DNAm in the maltreatment-depression association. We were not able to replicate the findings reported for *NR3C1* and *MAOA* genes, for which DNAm patterns were found to explain the maltreatment-depression association (Checknita et al., 2018; Peng et al., 2018). Nonetheless, our results echo with the remaining two studies that targeted other candidate genes, such as *FKBP5* (Bustamante et al., 2018) and *OXTR* (Smearman et al., 2016), for which DNAm did not explain the maltreatment-depression association. Although additional studies with larger samples are required to offer more reliable conclusions, existing preliminary evidence suggests that DNAm may not be, as originally proposed, a mechanism directly linking early-life adversity, such as maltreatment, and depressive symptomatology reported years later. Nonetheless, it remains possible that alternative explanations or purposed roles for DNAm deserve further attention. First, DNAm may serve as a biological marker (i.e., biomarker) signalling the exposure to child maltreatment and/or the presence of a depressive symptomatology and be of clinical utility, with being directly involved in the causal chain of association. For example, DNAm patterns have already been shown to be useful in cancer detection, prognosis and even predicting response to treatment (Ladd-Acosta & Fallin, 2016). Second, it is also possible that child maltreatment indeed influences DNAm patterns of stress-related genes in the weeks and years following these experiences, but that these changes in DNAm patterns may be quite indirect, involving many neurophysiological and cognitive mechanisms over time in a recursive mode of association and thus, being difficult to detect in a small sample composed of participants with moderately to severe experiences of child maltreatment. Third, it may also be invoked that, instead of leading, in turn, to depressive symptoms, DNAm may rather exacerbate (i.e., moderate) vulnerability to depression in adults who had been maltreated as children, especially if they are exposed to subsequent stressful contexts in adulthood. Further investigation is needed to test these possibilities.

Finally, the present study found no evidence that the associations between maltreatment, DNAm and depressive symptoms were affected by the cortisol response to psychosocial stress. Further examination of the individual regression analyses of the larger moderated mediation model revealed two surprising findings. First, we did not detect a significant interaction between

child maltreatment and stress reactivity on DNAm levels of the three CpG sites that were both associated with child maltreatment and depressive symptoms. Secondly, we did not detect a significant interaction between DNAm of these sites and stress reactivity on current depressive symptoms. Further investigation is thus needed to elucidate the relationship between DNAm and stress reactivity.

Our findings should be considered in light of several limitations. First, we were unable to control for cell heterogeneity within our study. Since different types of cells show distinct patterns of methylation (Farré et al., 2015), it may have influenced DNAm profiles, which may have contributed to our reported null findings. Second, the sample size used in this study is small ( $N = 156$ ), which may explain why we were not able to replicate some of the previous findings and that none of our results survived multiple testing correction. Third, our sample only included young adult male participants. Therefore, our results may not apply to female participants or to younger or older populations, as DNAm varies in function of age and sex (Fraga et al., 2005; Yousefi et al., 2015). Fourth, our participants were recruited from the general population, so that only 4.5% of the sample reported severe levels of depression. Therefore, our results may not apply to clinical populations. Moreover, only 35,9% of the sample reported at least one type of maltreatment experiences. The restricted variance in these key variables may have further undermined our statistical power to detect the expected associations. Fifth, we used a self-reported and retrospective questionnaire to assess child maltreatment, which may be subject to recall biases. However, previous studies reported that memories of maltreatment experiences in childhood and adolescence appear to be reliable in adulthood (Bifulco et al., 1997). Moreover, recall bias seems to explain less than 1% of the variance of child maltreatment scores (Fergusson et al., 2011). Sixth, we cannot determine the temporal sequence of events or establish causality, since this study is cross-sectional.

Despite these limitations, our findings extend previous research that alluded to or directed tested the putative mediating role of DNAm in the association between child maltreatment and depressive symptoms in adulthood. Our study lends further, albeit partial, support to the possibility that DNAm may deserve attention as a biomarker of child maltreatment and/or the concurrent presence of depressive symptomatology. Future studies would benefit from the collection of prospective measures for child maltreatment exposure, DNAm and depressive symptomatology, as well as functional characterisation of epigenetic findings, such as gene

expression and cortisol secretion to enhance understanding of the role of DNAm in the development of depression following child maltreatment.

## References

- Alexander, N., Kirschbaum, C., Wankerl, M., Stauch, B. J., Stalder, T., Steudte-Schmiedgen, S., Muehlhan, M., & Miller, R. (2018). Glucocorticoid receptor gene methylation moderates the association of childhood trauma and cortisol stress reactivity. *Psychoneuroendocrinology, 90*, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.01.020>
- Alt, S. R., Turner, J. D., Klok, M. D., Meijer, O. C., Lakke, E. A. J. F., DeRijk, R. H., & Muller, C. P. (2010). Differential expression of glucocorticoid receptor transcripts in major depressive disorder is not epigenetically programmed. *Psychoneuroendocrinology, 35*(4), 544–556. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.09.001>
- Andrews, J., Wadiwalla, M., Juster, R. P., Lord, C., Lupien, S. J., & Pruessner, J. C. (2007). Effects of manipulating the amount of social-evaluative threat on the cortisol stress response in young healthy men. *Behavioral Neuroscience, 121*(5), 871. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.5.871>
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Lei, M. K., Gibbons, F. X., Gerrard, M., Simons, R. L., Cutrona, C. E., & Philibert, R. A. (2013). Impact of child sex abuse on adult psychopathology: A genetically and epigenetically informed investigation. *Journal of Family Psychology, 27*(1), 3. <https://doi.org/10.1037/a0031459>
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Todorov, A. A., Gunter, T. D., & Philibert, R. A. (2010). Methylation at SLC6A4 is linked to Family History of Child Abuse: An Examination of the Iowa Adoptee Sample. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics, 153B*(2), 710–713. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31028>
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Todorov, A. A., Gunter, T. D., & Philibert, R. A. (2011). Methylation at 5HTT Mediates the Impact of Child Sex Abuse on Women's Antisocial Behavior: An Examination of the Iowa Adoptee Sample. *Psychosomatic Medicine, 73*(1), 83–87. <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e3181fdd074>
- Beck, A. T., Steer, R. A., & Brown, G. (1996). *Beck Depression Inventory–II*. <https://doi.org/10.1037/t00742-000>
- Bernstein, D. P., Stein, J. A., Newcomb, M. D., Walker, E., Pogge, D., Ahluvalia, T., Stokes, J., Handelsman, L., Medrano, M., Desmond, D., & Zule, W. (2003). Development and

- validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse & Neglect*, 27(2), 169–190. [https://doi.org/10.1016/S0145-2134\(02\)00541-0](https://doi.org/10.1016/S0145-2134(02)00541-0)
- Bifulco, A., Brown, G. W., Lillie, A., & Jarvis, J. (1997). Memories of Childhood Neglect and Abuse: Corroboration in a Series of Sisters. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 38(3), 365–374. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1997.tb01520.x>
- Bird, A. P. (1986). CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 321(6067), 209–213. <https://doi.org/10.1038/321209a0>
- Booij, L., Szyf, M., Carballedo, A., Frey, E.-M., Morris, D., Dymov, S., Vaisheva, F., Ly, V., Fahey, C., Meaney, J., Gill, M., & Frodl, T. (2015). DNA Methylation of the Serotonin Transporter Gene in Peripheral Cells and Stress-Related Changes in Hippocampal Volume: A Study in Depressed Patients and Healthy Controls. *PLOS ONE*, 10(3), e0119061. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119061>
- Boyce, W. T., & 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(02). <https://doi.org/10.1017/S0954579405050145>
- Breton Carrie V., Marsit Carmen J., Faustman Elaine, Nadeau Kari, Goodrich Jaclyn M., Dolinoy Dana C., Herbstman Julie, Holland Nina, LaSalle Janine M., Schmidt Rebecca, Yousefi Paul, Perera Frederica, Joubert Bonnie R., Wiemels Joseph, Taylor Michele, Yang Ivana V., Chen Rui, Hew Kinjal M., Freeland Deborah M. Hussey, ... Murphy Susan K. (2017). Small-Magnitude Effect Sizes in Epigenetic End Points are Important in Children’s Environmental Health Studies: The Children’s Environmental Health and Disease Prevention Research Center’s Epigenetics Working Group. *Environmental Health Perspectives*, 125(4), 511–526. <https://doi.org/10.1289/EHP595>
- Bustamante, A. C., Aiello, A. E., Galea, S., Ratanatharathorn, A., Noronha, C., Wildman, D. E., & Uddin, M. (2016). Glucocorticoid receptor DNA methylation, childhood maltreatment and major depression. *Journal of Affective Disorders*, 206, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.07.038>
- Bustamante, A. C., Aiello, A. E., Guffanti, G., Galea, S., Wildman, D. E., & Uddin, M. (2018). FKBP5 DNA methylation does not mediate the association between childhood maltreatment and depression symptom severity in the Detroit Neighborhood Health

- Study. *Journal of Psychiatric Research*, 96, 39–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.09.016>
- Cantave, C. Y., Langevin, S., Marin, M.-F., Brendgen, M., Lupien, S., & Ouellet-Morin, I. (2019). Impact of maltreatment on depressive symptoms in young male adults: The mediating and moderating role of cortisol stress response and coping strategies. *Psychoneuroendocrinology*, 103, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.12.235>
- Carpenter, L. L., Tyrka, A. R., Ross, N. S., Khoury, L., Anderson, G. M., & Price, L. H. (2009). Effect of childhood emotional abuse and age on cortisol responsivity in adulthood. *Biological Psychiatry*, 66, 69–75. doi:10.1016/j.biopsych.2009.02.030.
- Chagnon, Y. C., Potvin, O., Hudon, C., & Prévaille, M. (2015). DNA methylation and single nucleotide variants in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and oxytocin receptor (OXTR) genes are associated with anxiety/depression in older women. *Frontiers in Genetics*, 6. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00230>
- Checknita, D., Ekström, T. J., Comasco, E., Nilsson, K. W., Tiihonen, J., & Hodgins, S. (2018). Associations of monoamine oxidase A gene first exon methylation with sexual abuse and current depression in women. *Journal of Neural Transmission*, 125(7), 1053–1064. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1875-3>
- Farré, P., Jones, M. J., Meaney, M. J., Emberly, E., Turecki, G., & Kobor, M. S. (2015). Concordant and discordant DNA methylation signatures of aging in human blood and brain. *Epigenetics & Chromatin*, 8(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13072-015-0011-y>
- Farrell, C., Doolin, K., O' Leary, N., Jairaj, C., Roddy, D., Tozzi, L., Morris, D., Harkin, A., Frodl, T., Nemoda, Z., Szyf, M., Booij, L., & O'Keane, V. (2018). DNA methylation differences at the glucocorticoid receptor gene in depression are related to functional alterations in hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity and to early life emotional abuse. *Psychiatry Research*, 265, 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.04.064>
- Feil, R., & Fraga, M. F. (2012). Epigenetics and the environment: Emerging patterns and implications. *Nature Reviews Genetics*, 13(2), 97–109. <https://doi.org/10.1038/nrg3142>
- Fergusson, D. M., Horwood, L. J., & Boden, J. M. (2011). Structural equation modeling of repeated retrospective reports of childhood maltreatment. *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, 20(2), 93–104. <https://doi.org/10.1002/mpr.337>



- Finkelhor, D. (1994). Current Information on the Scope and Nature of Child Sexual Abuse. *The Future of Children*, 4(2), 31–53. JSTOR. <https://doi.org/10.2307/1602522>
- Fraga, M. F., Ballestar, E., Paz, M. F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M. L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J. C., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, T. D., Wu, Y.-Z., ... Gartler, S. M. (2005). Epigenetic Differences Arise during the Lifetime of Monozygotic Twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(30), 10604–10609. JSTOR.
- Frodl, T., Szyf, M., Carballedo, A., Ly, V., Dymov, S., Vaisheva, F., Morris, D., Fahey, C., Meaney, J., Gill, M., & Booij, L. (2015). DNA methylation of the serotonin transporter gene (SLC6A4) is associated with brain function involved in processing emotional stimuli. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 40(5), 296–305. <https://doi.org/10.1503/jpn.140180>
- Gouin, J. P., Zhou, Q. Q., Booij, L., Boivin, M., Côté, S. M., Hébert, M., Ouellet-Morin, I., Szyf, M., Tremblay, R. E., Turecki, G., & Vitaro, F. (2017). Associations among oxytocin receptor gene (OXTR) DNA methylation in adulthood, exposure to early life adversity, and childhood trajectories of anxiousness. *Scientific Reports*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07950-x>
- Hagan, M. J., Roubinov, D. S., Mistler, A. K., & Luecken, L. J. (2014). Mental Health Outcomes in Emerging Adults Exposed to Childhood Maltreatment: The Moderating Role of Stress Reactivity. *Child Maltreatment*, 19(3–4), 156–167. <https://doi.org/10.1177/1077559514539753>
- Höhne, N., Poidinger, M., Merz, F., Pfister, H., Brückl, T., Zimmermann, P., Uhr, M., Holsboer, F., & Ising, M. (2015). FKBP5 Genotype-Dependent DNA Methylation and mRNA Regulation After Psychosocial Stress in Remitted Depression and Healthy Controls. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(4). <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu087>
- Humphreys, K. L., LeMoult, J., Wear, J. G., Piersiak, H. A., Lee, A., & Gotlib, I. H. (2020). Child maltreatment and depression: A meta-analysis of studies using the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse & Neglect*, 102, 104361. <https://doi.org/10.1016/j.chiabu.2020.104361>

- Iga, J., Watanabe, S., Numata, S., Umehara, H., Nishi, A., Kinoshita, M., Inoshita, M., Shimodera, S., Fujita, H., & Ohmori, T. (2016). Association study of polymorphism in the serotonin transporter gene promoter, methylation profiles, and expression in patients with major depressive disorder. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *31*(3), 193–199. <https://doi.org/10.1002/hup.2527>
- Janusek, L. W., Tell, D., Gaylord-Harden, N., & Mathews, H. L. (2017). Relationship of childhood adversity and neighborhood violence to a proinflammatory phenotype in emerging adult African American men: An epigenetic link. *Brain, Behavior, and Immunity*, *60*, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.10.006>
- Kang, H.-J., Kim, J.-M., Stewart, R., Kim, S.-Y., Bae, K.-Y., Kim, S.-W., Shin, I.-S., Shin, M.-G., & Yoon, J.-S. (2013). Association of SLC6A4 methylation with early adversity, characteristics and outcomes in depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *44*, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.01.006>
- Kirschbaum, C., Pirke, K.-M., & Hellhammer, D. H. (1993). The ‘Trier Social Stress Test’ – A Tool for Investigating Psychobiological Stress Responses in a Laboratory Setting. *Neuropsychobiology*, *28*(1–2), 76–81. <https://doi.org/10.1159/000119004>
- Klengel, T., Mehta, D., Anacker, C., Rex-Haffner, M., Pruessner, J. C., Pariante, C. M., Pace, T. W. W., Mercer, K. B., Mayberg, H. S., Bradley, B., Nemeroff, C. B., Holsboer, F., Heim, C. M., Ressler, K. J., Rein, T., & Binder, E. B. (2013). Allele-specific FKBP5 DNA demethylation mediates gene–childhood trauma interactions. *Nature Neuroscience*, *16*(1), 33–41. <https://doi.org/10.1038/nn.3275>
- Kogan, S. M., Bae, D., Cho, J., Smith, A. K., & Nishitani, S. (2019). Childhood Adversity, Socioeconomic Instability, Oxytocin-Receptor-Gene Methylation, and Romantic-Relationship Support Among Young African American Men. *Psychological Science*, *30*(8), 1234–1244. <https://doi.org/10.1177/0956797619854735>
- Koss, K. J., & Gunnar, M. R. (2018). Annual Research Review: Early adversity, the hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis, and child psychopathology. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *59*(4), 327–346. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12784>
- Kudielka, B. M., Buske-Kirschbaum, A., Hellhammer, D. H., & Kirschbaum, C. (2004). HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults,

- and children: Impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 83–98.  
doi:10.1016/S0306-4530(02)00146-4.
- Labonte, B., Yerko, V., Gross, J., Mechawar, N., Meaney, M. J., Szyf, M., & Turecki, G. (2012). Differential Glucocorticoid Receptor Exon 1B, 1C, and 1H Expression and Methylation in Suicide Completers with a History of Childhood Abuse. *Biological Psychiatry*, 72(1), 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.01.034>
- Ladd-Acosta, C., & Fallin, M. D. (2016). The role of epigenetics in genetic and environmental epidemiology. *Epigenomics*, 8(2), 271–283. <https://doi.org/10.2217/epi.15.102>
- Li, M., D’Arcy, C., & Meng, X. (2016). Maltreatment in childhood substantially increases the risk of adult depression and anxiety in prospective cohort studies: Systematic review, meta-analysis, and proportional attributable fractions. *Psychological Medicine*, 46(4), 717–730. <https://doi.org/10.1017/S0033291715002743>
- Liu, Y., Ho, R. C.-M., & Mak, A. (2012). Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Affective Disorders*, 139(3), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.08.003>
- Martín-Blanco, A., Ferrer, M., Soler, J., Salazar, J., Vega, D., Andión, O., Sanchez-Mora, C., Arranz, M. J., Ribases, M., Feliu-Soler, A., Pérez, V., & Pascual, J. C. (2014). Association between methylation of the glucocorticoid receptor gene, childhood maltreatment, and clinical severity in borderline personality disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 57, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.06.011>
- McCrary, E. J., & Viding, E. (2015). The theory of latent vulnerability: Reconceptualizing the link between childhood maltreatment and psychiatric disorder. *Development and Psychopathology*, 27(2), 493–505. <https://doi.org/10.1017/S0954579415000115>
- McGowan, P. O., Sasaki, A., D’Alessio, A. C., Dymov, S., Labonté, B., Szyf, M., Turecki, G., & Meaney, M. J. (2009). Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nature Neuroscience*, 12(3), 342–348.  
<https://doi.org/10.1038/nn.2270>
- Melas, P. A., & Forsell, Y. (2015). Hypomethylation of MAOA’s first exon region in depression: A replication study. *Psychiatry Research*, 226(1), 389–391.  
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.01.003>

- Melas, P. A., Wei, Y., Wong, C. C. Y., Sjöholm, L. K., Åberg, E., Mill, J., Schalling, M., Forsell, Y., & Lavebratt, C. (2013). Genetic and epigenetic associations of MAOA and NR3C1 with depression and childhood adversities. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *16*(07), 1513–1528. <https://doi.org/10.1017/S1461145713000102>
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews*, *78*(1), 189–225. <https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>
- Na, K.-S., Chang, H. S., Won, E., Han, K.-M., Choi, S., Tae, W. S., Yoon, H.-K., Kim, Y.-K., Joe, S.-H., Jung, I.-K., Lee, M.-S., & Ham, B.-J. (2014). Association between Glucocorticoid Receptor Methylation and Hippocampal Subfields in Major Depressive Disorder. *PLOS ONE*, *9*(1), e85425. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085425>
- Nantharat, M., Wanitchanon, T., Amesbutr, M., Tammachote, R., & Praphanphoj, V. (2015). Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) promoter is hypermethylated in Thai females with major depressive disorder. *Genetics and Molecular Research*, *14*(4), 19071–19079. <https://doi.org/10.4238/2015.December.29.15>
- Olsson, C. A., Foley, D. L., Parkinson-Bates, M., Byrnes, G., McKenzie, M., Patton, G. C., Morley, R., Anney, R. J. L., Craig, J. M., & Saffery, R. (2010). Prospects for epigenetic research within cohort studies of psychological disorder: A pilot investigation of a peripheral cell marker of epigenetic risk for depression. *Biological Psychology*, *83*(2), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.12.003>
- Ouellet-Morin, I., Robitaille, M.-P., Langevin, S., Cantave, C., Brendgen, M., & Lupien, S. J. (2019). Enduring effect of childhood maltreatment on cortisol and heart rate responses to stress: The moderating role of severity of experiences. *Development and Psychopathology*, *31*(02), 497–508. <https://doi.org/10.1017/S0954579418000123>
- Peng, H., Zhu, Y., Strachan, E., Fowler, E., Bacus, T., Roy-Byrne, P., Goldberg, J., Vaccarino, V., & Zhao, J. (2018). Childhood Trauma, DNA Methylation of Stress-related Genes, and Depression: Findings from Two Monozygotic Twin Studies. *Psychosomatic Medicine*, *80*(7), 599–608. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000604>
- Perroud, N., Paoloni-Giacobino, A., Prada, P., Olié, E., Salzmann, A., Nicastro, R., Guillaume, S., Mouthon, D., Stouder, C., Dieben, K., Huguelet, P., Courtet, P., & Malafosse, A.

- (2011). Increased methylation of glucocorticoid receptor gene ( NR3C1 ) in adults with a history of childhood maltreatment: A link with the severity and type of trauma. *Translational Psychiatry*, 1(12), e59–e59. <https://doi.org/10.1038/tp.2011.60>
- Philibert, R. A., Sandhu, H., Hollenbeck, N., Gunter, T., Adams, W., & Madan, A. (2008). The relationship of 5HTT (SLC6A4) methylation and genotype on mRNA expression and liability to major depression and alcohol dependence in subjects from the Iowa Adoption Studies. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147B(5), 543–549. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30657>
- Provençal, N., Arloth, J., Cattaneo, A., Anacker, C., Cattane, N., Wiechmann, T., Röh, S., Ködel, M., Klengel, T., Czamara, D., Müller, N. S., Lahti, J., PREDO team, Räikkönen, K., Pariante, C. M., & Binder, E. B. (2019). Glucocorticoid exposure during hippocampal neurogenesis primes future stress response by inducing changes in DNA methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201820842. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820842116>
- Provençal, N., & Binder, E. B. (2015). The effects of early life stress on the epigenome: From the womb to adulthood and even before. *Experimental Neurology*, 268, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.09.001>
- Pruessner, J. C., Kirschbaum, C., Meinlschmid, G., & Hellhammer, D. H. (2003). Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology*, 28(7), 916–931. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00108-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00108-7)
- Reiner, I., Van IJzendoorn, M. H., Bakermans-Kranenburg, M. J., Bleich, S., Beutel, M., & Frieling, H. (2015). Methylation of the oxytocin receptor gene in clinically depressed patients compared to controls: The role of OXTR rs53576 genotype. *Journal of Psychiatric Research*, 65, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.03.012>
- Rosseel, Y. (2012). lavaan: An R Package for Structural Equation Modeling. *Journal of Statistical Software*, 048(i02). [https://econpapers.repec.org/article/jssjstsof/v\\_3a048\\_3ai02.htm](https://econpapers.repec.org/article/jssjstsof/v_3a048_3ai02.htm)
- Roy, B., Shelton, R. C., & Dwivedi, Y. (2017). DNA methylation and expression of stress related genes in PBMC of MDD patients with and without serious suicidal ideation. *Journal of Psychiatric Research*, 89, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.02.005>

- Ryan, J., Pilkington, L., Neuhaus, K., Ritchie, K., Ancelin, M.-L., & Saffery, R. (2017). Investigating the epigenetic profile of the inflammatory gene IL-6 in late-life depression. *BMC Psychiatry*, *17*(1), 354. <https://doi.org/10.1186/s12888-017-1515-8>
- Shah, S., Bonder, M. J., Marioni, R. E., Zhu, Z., McRae, A. F., Zhernakova, A., Harris, S. E., Liewald, D., Henders, A. K., Mendelson, M. M., Liu, C., Joehanes, R., Liang, L., Heijmans, B. T., 't Hoen, P. A. C., van Meurs, J., Isaacs, A., Jansen, R., Franke, L., ... Visscher, P. M. (2015). Improving Phenotypic Prediction by Combining Genetic and Epigenetic Associations. *The American Journal of Human Genetics*, *97*(1), 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.05.014>
- Shields, A. E., Wise, L. A., Ruiz-Narvaez, E. A., Seddighzadeh, B., Byun, H.-M., Cozier, Y. C., Rosenberg, L., Palmer, J. R., & Baccarelli, A. A. (2016). Childhood abuse, promoter methylation of leukocyte NR3C1 and the potential modifying effect of emotional support. *Epigenomics*, *8*(11), 1507–1517. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0074>
- Smearman, E. L., Almlı, L. M., Conneely, K. N., Brody, G. H., Sales, J. M., Bradley, B., Ressler, K. J., & Smith, A. K. (2016). Oxytocin Receptor Genetic and Epigenetic Variations: Association With Child Abuse and Adult Psychiatric Symptoms. *Child Development*, *87*(1), 122–134. <https://doi.org/10.1111/cdev.12493>
- Steiger, H., Labonté, B., Groleau, P., Turecki, G., & Israel, M. (2013). Methylation of the glucocorticoid receptor gene promoter in bulimic women: Associations with borderline personality disorder, suicidality, and exposure to childhood abuse. *International Journal of Eating Disorders*, *46*(3), 246–255. <https://doi.org/10.1002/eat.22113>
- Stoltenborgh, M., Bakermans-Kranenburg, M. J., Alink, L. R. A., & IJzendoorn, M. H. van. (2015). The Prevalence of Child Maltreatment across the Globe: Review of a Series of Meta-Analyses. *Child Abuse Review*, *24*(1), 37–50. <https://doi.org/10.1002/car.2353>
- Suderman, M., McGowan, P. O., Sasaki, A., Huang, T. C. T., Hallett, M. T., Meaney, M. J., Turecki, G., & Szyf, M. (2012). Conserved epigenetic sensitivity to early life experience in the rat and human hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(Supplement 2), 17266–17272. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121260109>
- Tingley, D., Yamamoto, T., Hirose, K., Keele, L., & Imai, K. (2014). *Mediation: R package for causal mediation analysis*. <https://doi.org/10.18637/jss.v059.i05>

- Toth, S. L., & Cicchetti, D. (2013). A Developmental Psychopathology Perspective on Child Maltreatment. *Child Maltreatment, 18*(3), 135–139.  
<https://doi.org/10.1177/1077559513500380>
- Tozzi, L., Farrell, C., Booij, L., Doolin, K., Nemoda, Z., Szyf, M., Pomares, F. B., Chiarella, J., O’Keane, V., & Frodl, T. (2018). Epigenetic Changes of FKBP5 as a Link Connecting Genetic and Environmental Risk Factors with Structural and Functional Brain Changes in Major Depression. *Neuropsychopharmacology, 43*(5), 1138–1145.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.290>
- Turecki, G., & Meaney, M. J. (2016). Effects of the Social Environment and Stress on Glucocorticoid Receptor Gene Methylation: A Systematic Review. *Biological Psychiatry, 79*(2), 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.11.022>
- Tyrka, A. R., Parade, S. H., Welch, E. S., Ridout, K. K., Price, L. H., Marsit, C., Philip, N. S., & Carpenter, L. L. (2016). Methylation of the leukocyte glucocorticoid receptor gene promoter in adults: Associations with early adversity and depressive, anxiety and substance-use disorders. *Translational Psychiatry, 6*(7), e848–e848.  
<https://doi.org/10.1038/tp.2016.112>
- Tyrka, Audrey R., Price, L. H., Marsit, C., Walters, O. C., & Carpenter, L. L. (2012). Childhood Adversity and Epigenetic Modulation of the Leukocyte Glucocorticoid Receptor: Preliminary Findings in Healthy Adults. *PLOS ONE, 7*(1), e30148.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030148>
- Vangeel, E. B., Kempke, S., Bakusic, J., Godderis, L., Luyten, P., Van Heddegem, L., Compennolle, V., Persoons, P., Lambrechts, D., Izzi, B., Freson, K., & Claes, S. (2018). Glucocorticoid receptor DNA methylation and childhood trauma in chronic fatigue syndrome patients. *Journal of Psychosomatic Research, 104*, 55–60.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2017.11.011>
- Vangeel, E., Van Den Eede, F., Hompes, T., Izzi, B., Del Favero, J., Moorkens, G., Lambrechts, D., Freson, K., & Claes, S. (2015). Chronic Fatigue Syndrome and DNA Hypomethylation of the Glucocorticoid Receptor Gene Promoter 1F Region: Associations With HPA Axis Hypofunction and Childhood Trauma. *Psychosomatic Medicine, 77*(8), 853–862. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000224>

- Vijayendran, M., Beach, S., Plume, J. M., Brody, G., & Philibert, R. (2012). Effects of Genotype and Child Abuse on DNA Methylation and Gene Expression at the Serotonin Transporter. *Frontiers in Psychiatry, 3*. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00055>
- Wankerl, M., Miller, R., Kirschbaum, C., Hennig, J., Stalder, T., & Alexander, N. (2014). Effects of genetic and early environmental risk factors for depression on serotonin transporter expression and methylation profiles. *Translational Psychiatry, 4*(6), e402–e402. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.37>
- Wiechmann, T., Röh, S., Sauer, S., Czamara, D., Arloth, J., Ködel, M., Beintner, M., Knop, L., Menke, A., Binder, E. B., & Provençal, N. (2019). Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus. *Clinical Epigenetics, 11*(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0682-5>
- Won, E., Choi, S., Kang, J., Kim, A., Han, K.-M., Chang, H. S., Tae, W. S., Son, K. R., Joe, S.-H., Lee, M.-S., & Ham, B.-J. (2016). Association between reduced white matter integrity in the corpus callosum and serotonin transporter gene DNA methylation in medication-naive patients with major depressive disorder. *Translational Psychiatry, 6*(8), e866–e866. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.137>
- Yousefi, P., Huen, K., Davé, V., Barcellos, L., Eskenazi, B., & Holland, N. (2015). Sex differences in DNA methylation assessed by 450 K BeadChip in newborns. *BMC Genomics, 16*(1), 911. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2034-y>
- Zhang, D., Cheng, L., Badner, J. A., Chen, C., Chen, Q., Luo, W., Craig, D. W., Redman, M., Gershon, E. S., & Liu, C. (2010). Genetic Control of Individual Differences in Gene-Specific Methylation in Human Brain. *The American Journal of Human Genetics, 86*(3), 411–419. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.02.005>
- Zhao, J., Goldberg, J., Bremner, J. D., & Vaccarino, V. (2013). Association Between Promoter Methylation of Serotonin Transporter Gene and Depressive Symptoms: A Monozygotic Twin Study. *Psychosomatic Medicine, 75*(6). <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e3182924cf4>



**Table 1**

## Candidate Genes

Gene	Fragment	Coordinates	CpG Sites	References	
<i>COMT</i>	1	chr22:19,950,027-19,950,348	16	Child Maltreatment ---	Depressive symptoms ---
	2	chr22:19,929,067-19,929,331	37		
<i>FKBP5</i>	1	chr6:35,558,387-35,558,567	5	Bustamante et al., 2018 Farrell et al., 2018 Klengel et al., 2013 Tozzi et al., 2018	Bustamante et al., 2018 Farrell et al., 2018 Hohne et al., 2015 Roy et al., 2017
<i>IL6</i>	1	chr7: 22,763,499-22,763,846	11	Janusek et al., 2017	Ryan et al., 2017
	2	chr7:22,763,911-22,764,031	4		
<i>IL10</i>	1	chr1:206,940,522-206,940,311	6	---	---
	2	chr1:206,840,215-206,939,313	9		
<i>MAOA</i>	1	chrX:43,514,936-43,515,089	8	Checknita et al., 2018	Checknita et al., 2018
	2	chrX:43,515,295-43,515,647	27	Peng et al., 2018	Melas et al., 2013, 2015
	3	chrX:43,515,676-43,515,991	6		Peng et al., 2018
<i>NR3C1</i>	1	chr5:142,784,279-142,784,593	15	Alexander et al., 2018	Alt et al., 2010
	2	chr5:142,782,988-142,783,500	84	Bustamante et al., 2016 Farrell et al., 2018 Lanbonté et al., 2012 Martin-Blanco et al., 2014 McGowan et al., 2009 Peng et al., 2018 Perroud et al., 2011 Shields et al., 2016 Steiger et al., 2013 Suderman et al., 2012 Tyrka et al., 2012, 2016 Vangeel et al., 2015, 2018	Bustamante et al., 2016 Farrell et al., 2018 Na et al., 2014 Nantharat et al., 2015 Peng et al., 2018 Roy et al., 2017
	3	chr5:142,782,766-142,782,551	26		
<i>OXTR</i>	1	chr3:8,809,307-8,809,564	26	Gouin et al., 2017	Chagnon et al. 2015
	2	chr3:8,810,889-8,810,647	14	Kogan et al., 2018 Smearman et al., 2016	Reiner et al., 2015

<i>SLC6A3</i>	1	chr5:104460585-1,446,430	16	---	---
	2	chr5:1,446,393-1,446,001	45		
<i>SLC6A4</i>	1	chr17:28,563,424-28,563,054	17	Beach et al., 2009, 2011, 2013	Booij et al., 2015
	2	chr17:28,563,020-28,562,783	29	Booij et al., 2015	Chagnon et al., 2015
	3	chr17:28,562,751-28,562,388	41	Kang et al., 2013 Peng et al., 2018 Vijayendran et al., 2012 Wankerl et al., 2014	Frodl et al., 2015 Iga et al., 2016 Olsson et al., 2010 Peng et al., 2018 Philibert et al., 2008 Won et al., 2016 Zhao et al., 2013

---

**Table 2**

Significant Associations Between Child Maltreatment and DNA methylation

CpG name	Position	DNA methylation							
		Unadjusted Models				Adjusted Models			
		<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>
<b><i>MAOA</i></b>									
MAOA_2_CpG_12and13	chrX:43515458 chrX:43515468	-0.03	0.01	< 0.05	0.03	-0.03	0.01	0.07	0.05
<b><i>NR3C1</i></b>									
NR3C1_1_CpG_9	chr5:142784413	0.03	0.01	0.02	0.03	0.03	0.01	0.02	0.07
NR3C1_2_CpG_49to52	chr5:142783299 chr5:142783303 chr5:142783310 chr5:142783314	0.04	0.01	0.01	0.05	0.04	0.01	0.01	0.05
<b><i>SLC6A3</i></b>									
SLC6A3_1_CpG_4	chr5:1446537	0.08	0.02	0.01	0.04	0.08	0.03	0.01	0.04
SLC6A3_1_CpG_8to11	chr5:1446488 chr5:1446485 chr5:1446478 chr5:1446474	-0.02	0.01	0.03	0.03	-0.02	0.01	0.02	0.07
SLC6A3_1_CpG_16	chr5:1446430	-0.05	0.02	0.02	0.04	-0.05	0.02	0.01	0.04
SLC6A3_2_CpG_2to4	chr5:1446371 chr5:1446369 chr5:1446367	0.03	0.01	0.02	0.04	0.03	0.01	0.02	0.04
<b><i>SLC6A4</i></b>									
SLC6A4_2_CpG_28and29	chr17:28562786 chr17:28562783	-0.01	0.00	0.03	0.03	-0.01	0.00	0.04	0.07
SLC6A4_3_CpG_36	chr17:28562435	-0.03	0.01	0.05	0.03	-0.03	0.01	0.03	0.06

**Table 3**

Significant Associations Between Depressive Symptoms and DNA methylation

Gene and CpG names	Position	DNA methylation							
		Unadjusted Models				Adjusted Models			
		<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>p</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>
<b><i>IL6</i></b>									
IL6_2_CpG_3and4	chr7:22764029 chr7:22764031	-0.08	0.04	0.03	0.03	-0.09	0.04	0.02	0.05
<b><i>IL10</i></b>									
IL10_2_CpG_4	chr1:206940003	0.11	0.05	0.04	0.03	0.08	0.05	0.12	0.08
<b><i>NR3C1</i></b>									
NR3C1_2_CpG_49to52	chr5:142783299 chr5:142783303 chr5:142783310 chr5:142783314	0.04	0.02	0.03	0.03	0.05	0.02	0.02	0.04
NR3C1_2_CpG_61to63	chr5:142783380 chr5:142783384 chr5:142783386	0.10	0.04	0.01	0.04	0.11	0.04	0.01	0.05
<b><i>OXTR</i></b>									
OXTR_2_CpG_11	chr3:8810699	-0.05	0.02	0.03	0.03	-0.04	0.02	0.11	0.06
<b><i>SLC6A3</i></b>									
SLC6A3_1_CpG_7	chr5:1446498	-0.03	0.02	0.04	0.03	-0.04	0.02	0.03	0.04
SLC6A3_1_CpG_12	chr5:1446462	-0.06	0.03	0.04	0.03	-0.05	0.03	0.06	0.06
SLC6A3_1_CpG_16	chr5:1446430	-0.07	0.03	0.02	0.04	-0.06	0.03	0.02	0.04
<b><i>SLC6A4</i></b>									
SLC6A4_2_CpG_26	chr17:28562826	-0.01	0.01	0.03	0.03	-0.01	0.01	0.15	0.09
SLC6A4_2_CpG_28and29	chr17:28562786 chr17:28562783	-0.01	0.01	0.02	0.03	-0.01	0.01	0.07	0.06
SLC6A4_3_CpG_1and2	chr17:28562751 chr17:28562749	-0.02	0.01	0.05	0.03	-0.02	0.01	0.04	0.03
SLC6A4_3_CpG_9to12	chr17:28562706 chr17:28562703 chr17:28562700 chr17:28562691	-0.05	0.02	0.01	0.05	-0.04	0.02	0.02	0.11
SLC6A4_3_CpG_22	chr17:28562596	-0.07	0.03	0.02	0.03	-0.07	0.03	0.03	0.04
SLC6A4_3_CpG31to33	chr17:28562499 chr17:28562492 chr17:28562489	-0.04	0.02	0.02	0.03	-0.03	0.02	0.06	0.06

**Table 4**

Summary of the Moderated Mediation Analysis for NR3C1\_2\_CpG\_49to52

	Unadjusted Model				Adjusted Model			
	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>NR3C1_2_CpG_49to52</b>								
Constant	-0.02	0.16	-0.15	0.88	-0.85	1.06	-0.80	0.42
Age	---	---	---	---	0.04	0.04	0.82	0.41
Drug consumption	---	---	---	---	-0.10	0.37	-0.27	0.79
AUCg	---	---	---	---	0.03	0.21	0.15	0.88
Child maltreatment	0.04	0.02	2.51	0.01	0.04	0.02	2.42	0.02
AUCi	-0.12	0.16	-0.74	0.46	-0.15	0.20	-0.72	0.47
Child maltreatment x AUCi	0.02	0.02	1.11	0.27	0.02	0.02	1.05	0.30
<b>Depressive symptoms</b>								
Constant	10.22	0.62	16.49	< 0.001	16.71	4.02	4.16	< 0.001
Age	---	---	---	---	-0.30	0.16	-1.80	0.07
Drug consumption	---	---	---	---	2.74	1.38	1.98	< 0.05
AUCg	---	---	---	---	1.41	0.78	1.81	0.07
Child maltreatment	0.24	0.06	3.88	< 0.001	0.24	0.06	4.16	< 0.001
NR3C1_2_CpG_49to52	0.35	0.32	1.09	0.28	0.41	0.31	1.30	0.19
AUCi	-1.82	0.65	-2.82	0.01	-2.43	0.77	-3.17	< 0.01
NR3C1_2_CpG_49to52 x AUCi	-0.01	0.38	-0.02	0.98	-0.02	0.37	-0.05	0.96

*Note.* N = 155. Unstandardized regression coefficients were reported. Bootstrap sample size = 10,000.

**Table 5**

Summary of the Moderated Mediation Analysis for SLC6A3\_1\_CpG\_16

	Unadjusted Model				Adjusted Model			
	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>SLC6A3_1_CpG_16</b>								
Constant	0.01	0.22	0.03	0.03	-1.70	1.52	-1.12	0.26
Age	---	---	---	---	0.07	0.06	1.16	0.25
Drug consumption	---	---	---	---	-0.04	0.52	-0.08	0.94
AUCg	---	---	---	---	0.09	0.29	0.031	0.76
Child maltreatment	-0.05	0.02	-2.50	0.01	-0.06	0.02	-2.56	0.01
AUCi	0.19	0.23	0.81	0.42	0.13	0.29	0.44	0.66
Child maltreatment x AUCi	-0.01	0.02	-0.25	0.81	-0.01	0.02	-0.31	0.75
<b>Depressive symptoms</b>								
Constant	10.23	0.61	16.64	< 0.001	15.67	4.03	3.88	< 0.001
Age	---	---	---	---	-0.25	0.16	-1.53	0.13
Drug consumption	---	---	---	---	2.69	1.38	1.95	0.05
AUCg	---	---	---	---	1.47	0.78	1.90	0.06
Child maltreatment	0.23	0.06	3.82	< 0.01	0.24	0.06	4.06	< 0.01
SLC6A3_1_CpG_16	-0.35	0.23	-1.53	0.13	-0.32	0.22	-1.43	0.15
AUCi	-1.80	0.63	-2.86	< 0.01	-2.47	0.76	-3.23	< 0.01
SLC6A3_1_CpG_16 x AUCi	-0.09	0.26	-0.34	0.73	-0.08	0.25	-0.31	0.76

*Note.* N = 155. Unstandardized regression coefficients were reported. Bootstrap sample size = 10,000.

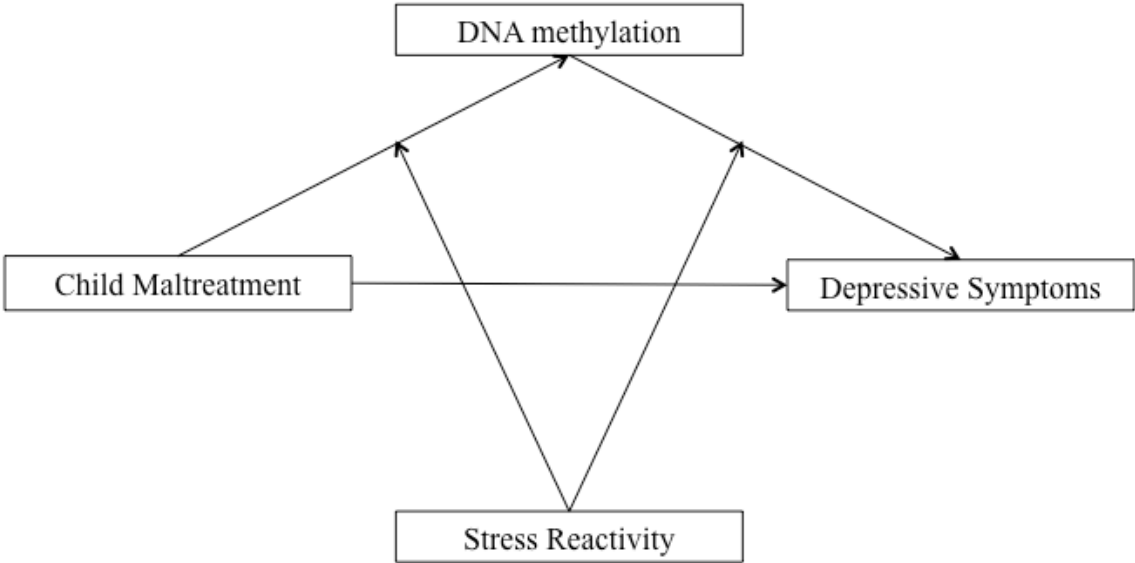
**Table 6**

Summary of the Moderated Mediation Analysis for SLC6A4\_2\_CpG\_28and29

	Unadjusted Model				Adjusted Model			
	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
<b>SLC6A4_2_CpG_28and29</b>								
Constant	0.01	0.05	0.19	0.85	-0.03	0.32	-0.11	0.92
Age	---	---	---	---	0.05	0.01	0.34	0.74
Drug consumption	---	---	---	---	-0.25	0.11	-2.25	0.03
AUCg	---	---	---	---	-0.01	0.06	-0.13	0.89
Child maltreatment	-0.01	0.05	-2.01	< 0.05	-0.01	0.05	-1.94	0.05
AUCi	0.05	0.05	1.09	0.28	0.05	0.06	0.73	0.47
Child maltreatment x AUCi	-0.01	0.01	-1.46	0.15	-0.01	0.01	-1.40	0.16
<b>Depressive symptoms</b>								
Constant	10.13	0.62	16.43	< 0.001	16.77	4.02	4.17	< 0.001
Age	---	---	---	---	-0.29	0.16	-1.80	0.07
Drug consumption	---	---	---	---	2.16	1.42	1.52	0.13
AUCg	---	---	---	---	1.34	0.79	1.70	0.09
Child maltreatment	0.25	0.06	4.16	< 0.001	0.26	0.06	4.43	< 0.001
SLC6A4_2_CpG_28and29	-1.09	1.03	-1.06	0.29	-0.73	1.02	-0.71	0.48
AUCi	-1.82	0.63	-2.89	< 0.01	-2.44	0.76	-3.19	< 0.01
SLC6A4_2_CpG_28and29 x AUCi	1.66	1.04	1.58	0.12	1.26	1.05	1.20	0.23

**Figure 1**

*Conceptual Model*

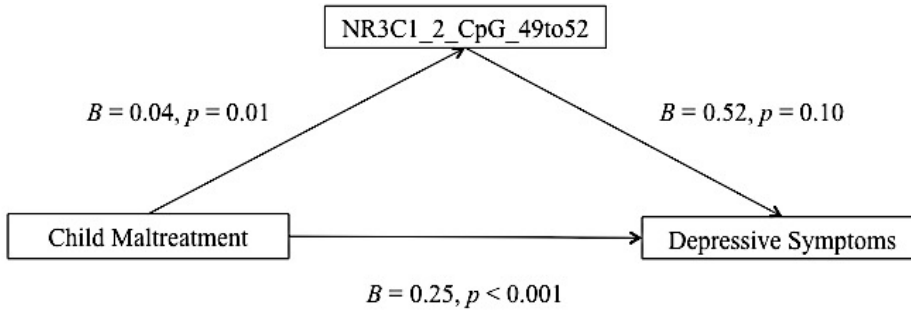




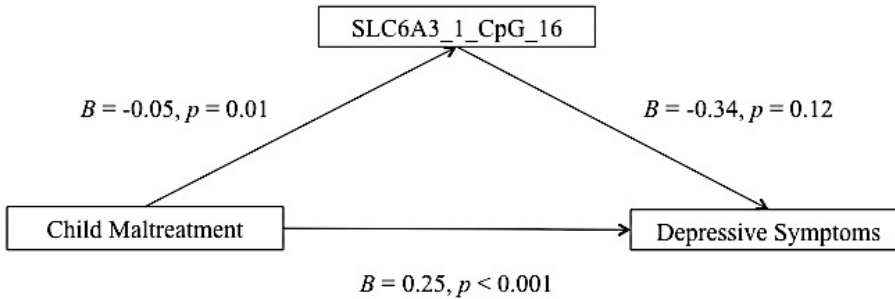
## Figure 2

### Summary of the Mediation Analysis

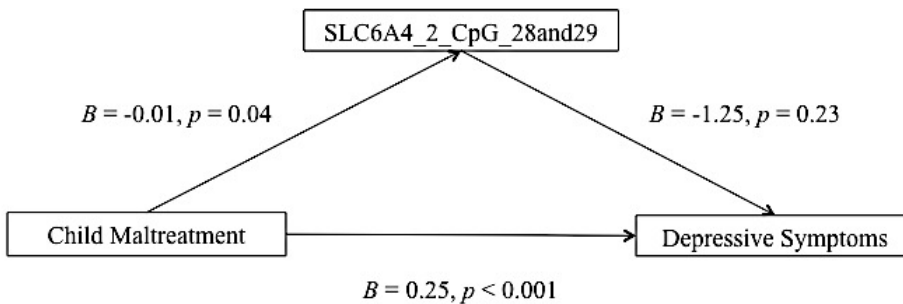
**A**



**B**



**C**



*Note.* Panel A: Adjusted model for NR3C1\_2\_CpG\_49to52. Panel B: Adjusted model for SLC6A3\_1\_CpG\_16. Panel C: Adjusted Model for SLC6A4\_2\_CpG\_28and29.

## **Discussion générale**

L'objectif principal de l'étude présentée dans ce mémoire était d'examiner le rôle de la méthylation de l'ADN et de la réactivité cortisolaire au stress dans l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte dans un échantillon de 156 hommes âgés entre 18 et 35 ans. Deux objectifs spécifiques ont été poursuivis. D'abord, nous avons examiné si les profils de méthylation de l'ADN de neuf gènes candidats (*COMT*, *FKBP5*, *IL-6*, *IL-10*, *MAOA*, *NR3C1*, *OXTR*, *SLC6A3* et *SLC6A4*) impliqués dans la régulation du stress, des émotions et du comportement expliquaient en partie l'association observée entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte. Ensuite, nous avons examiné si l'effet indirect présumé de la méthylation de l'ADN dans l'association maltraitance-dépression s'accroissait ou s'atténuait par les différences individuelles notées dans la sécrétion de cortisol face à un stress psychosocial.

Dans ce chapitre, les résultats de l'étude seront résumés, puis analysés dans le contexte plus large du modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009) afin de mieux en comprendre les contributions éventuelles au-delà des études antérieures dans le domaine et ainsi poursuivre la discussion entamée dans l'article. Ensuite, les forces et les limites de l'étude seront détaillées. Enfin, les directions futures et les implications cliniques de l'étude seront discutées.

### **Association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte**

Les résultats de l'étude indiquent que les participants ayant vécu plus d'expériences de maltraitance à l'enfance rapportaient un plus grand nombre ainsi qu'une plus grande sévérité de symptômes dépressifs à l'âge adulte, ce qui concorde avec le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009). En effet, ce modèle propose que les facteurs de risque environnementaux, tels que les expériences de maltraitance à l'enfance, affectent négativement la santé physique et mentale des individus et que ces difficultés tendent à persister à l'âge adulte. D'ailleurs, une méta-analyse récente comprenant 192 études et 68 830 participants indique que les expériences de maltraitance à l'enfance sont associées à des symptômes sévères de dépression à l'âge adulte ou à un diagnostic de dépression à l'âge adulte (Humphreys et al., 2020).

### **Association entre la maltraitance à l'enfance et la méthylation de l'ADN à l'âge adulte**

Les résultats de l'étude indiquent que les participants ayant vécu plus d'expériences de maltraitance à l'enfance affichaient un taux de méthylation plus élevé à quelques endroits dans le gène *NR3CI* (2 sites CpG sur 34), un taux de méthylation plus faible à quelques endroits dans le gène *SLC6A4* (2 sites CpG sur 31), ainsi qu'un taux de méthylation plus élevé ou plus faible à quelques endroits dans le gène *SLC6A3* (4 sites CpG sur 27). Nos résultats concordent avec la majorité des études ayant examiné l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la méthylation de l'ADN du gène *NR3CI* (Bustamante et al., 2016; Farrell et al., 2018; Labonte et al., 2012; Martín-Blanco et al., 2014; McGowan et al., 2009; Peng et al., 2018; Perroud et al., 2011; Shields et al., 2016; Suderman et al., 2012; Tyrka et al., 2012), offrant ainsi un soutien additionnel à l'hypothèse selon laquelle la maltraitance à l'enfance est positivement associée au taux de méthylation du gène *NR3CI*. La consistance entre ces études est notable, puisque ces associations ont été observées dans différents types d'échantillon (population clinique, population générale) et dans différents types de tissu biologique (sang, salive, cerveau). Toutefois, nos résultats ne concordent pas avec la majorité des études ayant examiné l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la méthylation de l'ADN du gène *SLC6A4*, rapportant plutôt un taux de méthylation plus élevé (Beach et al., 2010, 2011, 2013; Booij et al., 2015; Peng et al., 2018; Vijayendran et al., 2012). Cependant, ces études se sont davantage concentrées sur les expériences d'abus sexuels, et ce, dans des échantillons composés majoritairement de femmes. Sachant que les femmes ont tendance à subir plus d'abus sexuels à l'enfance que les hommes (Finkelhor, 1994) et que les profils de méthylation de l'ADN varient en fonction du sexe biologique (Yousefi et al., 2015), il est tout à fait possible que ces expériences exercent un effet distinct pour les hommes et les femmes.

Bien que ces associations n'aient pas résisté à la correction pour comparaisons multiples, les résultats de l'étude sont tout de même compatibles avec le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009). En effet, ce modèle propose que les facteurs de risque environnementaux, tels que les expériences de maltraitance à l'enfance, auraient la capacité de perturber le développement et le fonctionnement de systèmes neurobiologiques par le biais de marques épigénétiques. Cependant, le modèle ne spécifie pas que si ces différences devraient encore être observables à l'âge adulte. Une étude longitudinale incluant non seulement des mesures de maltraitance, mais aussi des mesures de méthylation à plusieurs reprises au cours du développement nous permettrait de tester si les profils de méthylation différentiels entre les

participants maltraités ou pas s'amenuisent avec le temps. Par ailleurs, notre incapacité à trouver une association entre la maltraitance à l'enfance et la méthylation de l'ADN suffisamment forte pour qu'elle survive la correction des tests multiples pourrait s'expliquer par la petite taille de notre échantillon. En effet, une taille d'échantillon plus grande est nécessaire afin de détecter les petits effets des expériences de maltraitance sur les profils de méthylation de l'ADN (Breton et al., 2017). Enfin, seulement 35,90% de nos participants ont rapporté avoir vécu au moins un type de maltraitance à l'enfance, et dont l'intensité est généralement modérée. Selon le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009), la sévérité et le cumul limité des expériences de maltraitance sont d'autant de facteurs qui peuvent en théorie limiter l'effet attendu de ces expériences sur la méthylation de l'ADN à l'âge adulte. Ainsi, les recherches futures devront garder à l'esprit ces limites, mais les méta-analyses qui suivront devraient examiner l'importance de ces facteurs à la modulation de la relation attendue entre la maltraitance et la méthylation de l'ADN dans ces gènes candidats.

### **Association entre la dépression et la méthylation de l'ADN à l'âge adulte**

Les résultats de l'étude indiquent que les adultes qui rapportaient un plus grand nombre et une plus grande sévérité de symptômes dépressifs affichaient un taux de méthylation plus élevé dans le gène *NR3CI* (2 sites CpG sur 34), ainsi qu'un taux de méthylation plus faible dans les gènes *SLC6A4* (3 sites CpG sur 31), *SLC6A3* (2 sites CpG sur 27) et *IL-6* (1 sites CpG sur 10). Nos résultats concordent avec la plupart des études ayant examiné l'association entre les symptômes dépressifs et la méthylation de l'ADN du gène *NR3CI*, pour lequel un taux de méthylation plus élevé est observé dans le sang (Farrell et al., 2018; Nantharat et al., 2015; Peng et al., 2018; Roy et al., 2017). Cette concordance marque d'autant plus que notre étude est la première ayant examiné l'association entre les symptômes dépressifs et la méthylation de l'ADN du gène *NR3CI* dans la salive. En effet, comme la méthylation de l'ADN joue un rôle important dans la différenciation cellulaire (Provençal & Binder, 2015), il est possible que les profils de méthylation de l'ADN diffèrent d'un tissu à l'autre. Or, Smith et al. (2015) ont rapporté que les profils de méthylation de l'ADN étaient davantage similaires entre la salive et le cerveau qu'entre le sang et le cerveau. Nos résultats concordent aussi avec une fraction des études ayant examiné l'association entre les symptômes dépressifs et la méthylation de l'ADN du gène *SLC6A4*, qui rapportent également un taux de méthylation plus élevé dans le sang (Iga et al., 2016; Peng et al.,

2018; Philibert et al., 2008; Won et al., 2016; Zhao et al., 2013). Enfin, nos résultats concordent avec la seule étude antérieure ayant examiné l'association entre les symptômes dépressifs et la méthylation de l'ADN du gène *IL-6*, qui rapporte également un taux de méthylation de l'ADN plus faible dans des échantillons buccaux (Ryan et al., 2017).

En somme, et bien que ces associations ne soient pas demeurées significatives suite à la correction pour comparaisons multiples, les résultats de notre étude demeurent importants pour les méta-analyses qui pourront être réalisées subséquemment et qui dépendent plus de la taille d'effet que de la signification des résultats. Ils sont aussi compatibles avec le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009), en ce sens qu'il est proposé que les troubles mentaux, tels que la dépression, résultent de perturbations neurobiologiques dont l'une des origines serait détectable au plan de l'épigénome. Une fois de plus, il doit être envisagé que notre incapacité à trouver un signal clair et fort dénotant une association entre la méthylation de l'ADN et la dépression s'explique par la petite taille de notre échantillon ou considérant que seulement 4,50% des participants ont rapporté des niveaux sévères de dépression.

### **Le rôle de la méthylation de l'ADN dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte**

Notre étude a identifié trois sites CpG - situés dans les gènes *NR3C1*, *SLC6A3* et *SLC6A4* - pour lesquels une association significative ( $p < 0,05$ ) était notée entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte. Toutefois, après avoir réalisé les analyses appropriées pour tester formellement leur rôle de médiation attendu, il s'est avéré que la méthylation de l'ADN n'explique pas l'association observée entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte. À ce jour, seules quatre études ont formellement testé cette hypothèse. Nos résultats concordent avec deux de ces études. Bustamante et al. (2018) ont examiné la méthylation de l'ADN du gène *FKBP5* à partir d'échantillons de sang de 112 participants et ont rapporté que la méthylation notée dans les quatre régions examinées n'expliquaient pas, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. De même, Smearman et al. (2016) ont examiné la méthylation de l'ADN du gène *OXTR* à partir d'échantillons de sang de 393 participants et ont rapporté que la méthylation des 18 sites CpG examinés n'expliquaient pas, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. Toutefois, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par Checknita et al. (2018) et Peng et al. (2018). Checknita et al. (2018) ont examiné la méthylation

de l'ADN du gène *MAOA* à partir d'échantillons de salive de 114 femmes et ont rapporté que les taux de méthylation de 4 sites CpG (sur 7) expliquaient, de façon individuelle, l'association maltraitance-dépression. De plus, Peng et al. (2018) ont examiné la méthylation de l'ADN des gènes *BDNF*, *NR3C1*, *SLC6A4*, *MAOA* et *MAOB* à partir d'échantillons de sang de 238 participants et ont rapporté que les taux de méthylation de 2 sites CpG situés dans les gènes *BDNF* et *NR3C1* expliquaient, de façon conjointe, près de 20% de l'association maltraitance-dépression.

À première vue, les résultats de l'étude suggérant que la méthylation de l'ADN n'explique pas l'association maltraitance-dépression est en contradiction avec l'hypothèse de médiation avancée dans le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009). Or, ce mécanisme n'est pas le seul qui avait été avancé. En effet, ce modèle propose également que les expériences environnementales exercent des effets sur la santé et le bien-être qui demeurent latents et qui nécessitent l'exposition à un stress majeur pour être exprimés, information que nous n'avons pas. De plus, il est aussi attendu dans le modèle, et plus généralement dans le domaine de la psychopathologie développementale, que les effets de chacun des mécanismes proposés soient de petites tailles et que c'est davantage le cumul de ces changements, tant aux plans de l'épigénome, de l'axe HPA et des structures neuronales impliquées dans le traitement de l'information et la régulation des émotions et du comportement qui traduirait la vulnérabilité induite par ces expériences.

Une fois de plus, il convient d'envisager la possibilité que notre incapacité à détecter un effet de médiation de la méthylation dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte soit due à des contraintes méthodologiques. Puisque la méthylation de l'ADN a été mesurée à partir d'échantillon de salive, il n'est pas possible d'écarter l'hypothèse selon laquelle la méthylation de l'ADN dans le cerveau pourrait expliquer l'association maltraitance-dépression. De plus, la méthylation de l'ADN a été mesurée à l'âge adulte, soit plusieurs années après les expériences de maltraitance rapportées à l'enfance. Dans ce contexte, quatre interprétations alternatives doivent être considérées. Premièrement, la maltraitance n'induit pas de changement de méthylation dans les gènes candidats investigués. Deuxièmement, il existe des changements, mais ils sont de petites tailles. Troisièmement, les changements de méthylation sont présents, mais ils ne sont pas impliqués dans la chaîne causale, en d'autres mots,

ils n'expliquent pas la relation notée entre la maltraitance et le comportement (i.e., médiation). Quatrièmement, les changements dans les profils de méthylation de l'ADN engendrés par les expériences de maltraitance seraient intégrés à l'enfance (en anglais *embedded*) et toujours présents à l'âge adulte, mais requerrait l'exposition de l'individu à d'autres stress pour que l'effet délétère indirect sur la symptomatologie dépressive soit activé. Ainsi, dans les deux derniers cas, la méthylation de l'ADN pourrait simplement être un marqueur biologique, c'est-à-dire un index quantitatif de l'exposition à de la maltraitance et/ou de la présence de symptômes dépressifs, et ne pas être directement impliquée dans la pathophysiologie de la dépression.

### **Les différences individuelles dans la réactivité cortisolaire au stress**

Les résultats de l'étude indiquent que l'effet indirect de la méthylation de l'ADN dans l'association entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte ne varie pas en fonction de la réactivité cortisolaire au stress. Cependant, Houtepen et al. (2016) ont rapporté que la méthylation du gène *KITLG* (impliqué le développement de cellules souches neurales), mesurée à partir d'échantillons de sang chez 85 participants, expliquait 32% de l'association observée entre la maltraitance à l'enfance et la réactivité cortisolaire à l'âge adulte. Notre incapacité à trouver une interaction significative entre la maltraitance à l'enfance et la réactivité cortisolaire au stress pourrait s'expliquer par le moment où ces mesures ont été prises. Contrairement à l'étude de Houtepen et al. (2016), l'échantillon de salive ayant été utilisé pour la mesure de la méthylation de l'ADN a été récolté après le *Trier Social Stress Test*. Ainsi, il est possible que les profils de méthylation de l'ADN aient été eux-mêmes teintés par la sécrétion de cortisol. D'ailleurs, Wiechmann et al. (2019) ont découvert que la méthylation du gène *FKBP5* montrent des changements dynamiques suite à un test de suppression à la dexaméthasone.

Le modèle éco-bio-développemental (Shonkoff et al., 2009) propose que l'influence des facteurs environnementaux varie en fonction des différences individuelles, sous-tendant les facteurs de risque, mais aussi les facteurs de protection propres à l'enfant, héritées ou acquises par le biais de l'environnement. Bien que la réactivité cortisolaire au stress à l'âge adulte soit souvent utilisée comme marqueur d'une vulnérabilité biologique au stress, reflétant possiblement une adaptation du système neuroendocrinien aux expériences survenues à l'enfance, mais aussi liées au bagage génétique de l'individu (Ouellet-Morin et al., 2008), le fait que toutes les mesures

ont été prises en même temps, nuit à l'examen de cette hypothèse selon une séquence temporelle claire.

### **Contributions et forces de l'étude**

La présente étude est originale de part l'examen simultané de deux mécanismes biologiques supposés être impliqués dans la relation entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte, soit la méthylation de l'ADN et la réactivité cortisolaire au stress. D'ailleurs, il s'agit de l'une des rares études à avoir formellement testé si la méthylation de l'ADN explique l'association bien connue entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte, et ce, même si cette hypothèse est sous-entendue dans les modèles conceptuels et invoquée pour justifier l'investigation des associations bivariées. De plus, il s'agit de la première étude ayant examiné si l'effet indirect de la méthylation de l'ADN dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte varie en fonction des différences individuelles dans la réactivité cortisolaire au stress. Enfin, l'étude de gènes précédemment identifiés dans la littérature scientifique sur la maltraitance ou la dépression a permis de répliquer certains résultats précédemment rapportés dans la littérature. Ainsi, l'étude incluse dans ce mémoire souligne l'importance de tester les processus médiateurs et modérateurs attendus, dans une tentative de mieux comprendre comment et pour qui les expériences de maltraitance vécues à l'enfance accroîtraient les symptômes dépressifs à l'âge adulte.

### **Limites de l'étude**

Les résultats de l'étude doivent toutefois être considérés à la lumière de plusieurs limites. D'abord, l'échantillon était uniquement composé d'hommes. Par conséquent, les résultats observés ne peuvent être généralisés aux femmes ou à des populations plus jeunes ou plus âgées, la méthylation de l'ADN étant influencée par l'âge et le sexe des participants (Fraga et al., 2005; Yousefi et al., 2015). De plus, les participants ont été recrutés au sein la population générale plutôt qu'au sein d'une population cliniquement dépressive. D'ailleurs, seulement 4,50% des participants ont rapporté une manifestation sévère de dépression, ce qui réduit conséquemment la distribution de la symptomatologie dépressive sur laquelle les analyses ont pu être réalisées et donc, sa puissance statistique. Ensuite, les expériences de maltraitance à l'enfance ont été évaluées de façon rétrospective à l'âge adulte et sont donc sujettes à un biais de rappel. Toutefois, des études antérieures ont montré que le souvenir des expériences de maltraitance à l'enfance



semble être fiable chez les adultes (Bifulco et al., 1997), le biais de rappel expliquant moins de 1% de la variabilité des expériences de maltraitance à l'enfance rapportées (Fergusson et al., 2011). Également, bien que l'utilisation de tissus cérébraux soit plus pertinente pour évaluer le fonctionnement psychologique, la méthylation de l'ADN ne peut être mesurée directement dans le cerveau pour des raisons éthiques évidentes. Par conséquent, il est difficile de savoir si les profils de méthylation de l'ADN dans la salive reflètent les profils de méthylation de l'ADN dans le cerveau. La pertinence même de mesurer la méthylation de l'ADN dans la salive peut être utilisée pour étudier les changements de méthylation en réponse à l'environnement ou en association avec des troubles mentaux est sujet de débat, quoique les études ne peuvent exclusivement reposer sur des modèles animaux. Néanmoins, les recherches antérieures suggèrent que la méthylation de l'ADN dans la salive serait en plusieurs points comparable à celle du tissu cérébral (Smith et al., 2015), même si elle ne peut s'en substituer. Un autre point d'importance est qu'il n'est pas possible de conclure si les différences observées dans les profils de méthylation de l'ADN entre les jeunes adultes ayant rapporté (ou pas) des expériences de maltraitance au cours de leur enfance sous-tendent un changement dans l'expression de ces gènes puisque celle-ci n'a pas été mesurée. Nous devons aussi tenir compte de la possibilité que notre étude ne soit pas suffisamment puissante pour détecter les associations anticipées. En effet, des analyses de puissance ont été réalisées avant la collecte des données. Dans l'analyse de puissance pour la méthylation de l'ADN, une taille d'échantillon de 160 participants était nécessaire pour détecter des différences de méthylation de l'ADN avec des tailles d'effet moyennes entre les victimes et les non-victimes. Or, les tailles d'effet observées sont beaucoup plus petites qu'anticipées. Finalement, le devis transversal, tel que présenté dans cette étude, ne permet pas d'inférer des relations de causalité ni ne permet de décrire la séquence temporelle des associations examinées.

### **Directions futures**

Il convient de mentionner que cette étude n'est qu'une étape vers une compréhension plus approfondie de la relation entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte. En ce sens, elle sert aussi à mieux circonscrire les caractéristiques souhaitables d'une nouvelle étude ou d'étayer de nouvelles hypothèses à explorer dans les recherches futures. D'abord, la stabilité temporelle de la méthylation de l'ADN une fois terminée

les périodes du développement décrites comme étant sensibles demeure méconnu, puisqu'il y a un grand manque d'études longitudinales. Bien que les études transversales et rétrospectives soient informatives, les études longitudinales et prospectives sont essentielles afin de déterminer comment les expériences de maltraitance à l'enfance peuvent influencer les profils de méthylation de l'ADN au fil du temps et surtout, décrire si leurs effets attendus sur la méthylation de l'ADN s'amenuisent avec le temps. Ensuite, il serait pertinent d'examiner l'expression des gènes afin de s'assurer que les petits changements observés dans les profils de méthylation de l'ADN ont une portée au plan biologique, une condition avant de poursuivre l'hypothèse selon laquelle ces marques ont le potentiel d'affecter plusieurs systèmes biologiques et les trajectoires développementales sous plusieurs dimensions du fonctionnement. Il serait également judicieux d'examiner l'influence génétique des polymorphismes environnants sur la variation de la méthylation de l'ADN entre les participants. D'ailleurs, des études récentes suggèrent que la majorité de la variation de la méthylation de l'ADN serait mieux expliquée par la combinaison des polymorphismes génétiques environnants et des facteurs environnementaux auxquels les participants sont exposés (Czamara et al., 2019; Teh et al., 2014). Sachant que la période s'écoulant entre les expériences de maltraitance à l'enfance et la dépression à l'âge adulte est particulièrement longue, une multitude de facteurs environnementaux pourraient aussi soutenir en partie les associations étudiées. Par exemple, les adultes ayant vécu des expériences de maltraitance à l'enfance sont plus susceptibles de vivre de l'intimidation à l'adolescence (Lereya et al., 2013), et le cumul de ces expériences de victimisation pourrait être associé à de plus grandes différences dans les profils de méthylation de l'ADN. Enfin, une compréhension plus large et concurrente de plusieurs mécanismes biologiques et psychologiques proposés être impliqués dans la relation entre les expériences de maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte est souhaitable afin d'évaluer leur contribution unique et conjointe à l'explication de la symptomatologie dépressive plus élevée auprès de personnes ayant vécu de la maltraitance à l'enfance. La méthylation de l'ADN n'est peut-être pas le seul mécanisme lié au stress impliqué dans l'association maltraitance-dépression. Par exemple, les stratégies d'adaptation peuvent être particulièrement pertinentes dans l'étude de l'association maltraitance-dépression, puisqu'elles sont également impliquées dans la réactivité au stress. En effet, les stratégies d'adaptation centrée sur l'émotion semblent expliquer, en partie, l'association maltraitance-dépression dans notre échantillon (Cantave et al., 2019).

## **Implications cliniques**

D'une part, les résultats de l'étude soulignent l'importance de réduire les expériences de maltraitance à l'enfance. Les interventions et les mesures de prévention visant à réduire les expériences de maltraitance à l'enfance sont importantes afin de limiter leurs conséquences négatives sur le développement. D'ailleurs, l'enfance est une période sensible du développement caractérisé par une plasticité accrue aux signaux environnementaux, le cerveau étant encore immature (Boyce & Kobor, 2015), et donc, plus sensible aux influences environnementales, incluant les interventions. En plus des avantages immédiats de ces interventions pour les enfants et les parents, notons aussi qu'une approche développementale nous pousse également à considérer les effets de cascades que pourraient induire ces interventions et les bénéfices à long terme qu'ils pourraient avoir sur la santé mentale (Liu, 2017).

D'autre part, les résultats de l'étude suggèrent que les changements de méthylation observés dans la salive pourraient potentiellement servir de marqueurs biologiques permettant l'identification des personnes qui seraient plus susceptibles de rapporter des symptômes dépressifs au début de l'âge adulte suite à des expériences de maltraitance à l'enfance. Éventuellement, ces marqueurs biologiques pourraient aussi être investigués pour voir s'ils varient de façon concurrente avec la réponse de ces personnes à la pharmacologie et/ou la psychothérapie. D'ailleurs, les changements épigénétiques, tels que la méthylation de l'ADN, sont potentiellement réversibles par des traitements pharmacologiques ou par des influences environnementales positives, telles que des interventions (You & Jones, 2006). Toutefois, il convient de mentionner que l'étude incluse dans ce mémoire n'est qu'une étape vers le développement de tels marqueurs biologiques, les changements de méthylation observés n'ayant pas résisté à la correction pour comparaison multiple et devant, d'abord et avant tout, être répliqués.

## **Conclusion**

En somme, l'objectif de ce mémoire était d'examiner le rôle de la méthylation de l'ADN et de la réactivité cortisolaire au stress dans l'association entre la maltraitance à l'enfance et les symptômes dépressifs à l'âge adulte. L'étude présentée dans ce mémoire suggère que la méthylation de l'ADN pourrait plutôt servir de marqueur biologique, c'est-à-dire un index quantitatif de l'exposition à de la maltraitance et/ou de la présence de symptômes dépressifs, que

d'un mécanisme directement impliqué dans la pathophysiologie de la dépression suite à des expériences de maltraitance. Les résultats de l'étude doivent toutefois être répliqués et revus dans le cadre de méta-analyses. Néanmoins, cette étude offre un soutien additionnel, quoique fragile, à l'association entre la maltraitance et la méthylation de l'ADN et entre la dépression et la méthylation de l'ADN pour certains gènes candidats. Enfin, les limites identifiées dans ce mémoire soulignent la nécessité de colliger des mesures prospectives et multiples de la maltraitance à l'enfance, de la méthylation de l'ADN et des symptômes dépressifs, en plus s'assurer de la pertinence biologique des changements épigénétiques observés en mesurant, entre autres, l'expression des gènes, afin d'améliorer notre compréhension du rôle de la méthylation de l'ADN dans le développement de la dépression suite à des expériences de maltraitance.

## Références citées dans l'introduction générale et la discussion générale

- American Psychiatric Association. (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®). American Psychiatric Pub.
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Lei, M. K., Gibbons, F. X., Gerrard, M., Simons, R. L., Cutrona, C. E., & Philibert, R. A. (2013). Impact of child sex abuse on adult psychopathology: A genetically and epigenetically informed investigation. *Journal of Family Psychology*, 27(1), 3. <https://doi.org/10.1037/a0031459>
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Todorov, A. A., Gunter, T. D., & Philibert, R. A. (2010). Methylation at SLC6A4 is linked to Family History of Child Abuse: An Examination of the Iowa Adoptee Sample. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 153B(2), 710–713. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31028>
- Beach, S. R. H., Brody, G. H., Todorov, A. A., Gunter, T. D., & Philibert, R. A. (2011). Methylation at 5HTT Mediates the Impact of Child Sex Abuse on Women's Antisocial Behavior: An Examination of the Iowa Adoptee Sample. *Psychosomatic Medicine*, 73(1), 83–87. <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e3181fdd074>
- Bifulco, A., Brown, G. W., Lillie, A., & Jarvis, J. (1997). Memories of Childhood Neglect and Abuse: Corroboration in a Series of Sisters. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 38(3), 365–374. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1997.tb01520.x>
- Bird, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16(1), 6–21. <https://doi.org/10.1101/gad.947102>
- Bird, A. P. (1986). CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature*, 321(6067), 209–213. <https://doi.org/10.1038/321209a0>
- Booij, L., Szyf, M., Carballedo, A., Frey, E.-M., Morris, D., Dymov, S., Vaisheva, F., Ly, V., Fahey, C., Meaney, J., Gill, M., & Frodl, T. (2015). DNA Methylation of the Serotonin Transporter Gene in Peripheral Cells and Stress-Related Changes in Hippocampal Volume: A Study in Depressed Patients and Healthy Controls. *PLOS ONE*, 10(3), e0119061. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119061>

- Boyce, W. T., & 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*(02). <https://doi.org/10.1017/S0954579405050145>
- Boyce, W. T., & Kobor, M. S. (2015). Development and the epigenome: The ‘synapse’ of gene–environment interplay. *Developmental Science*, *18*(1), 1–23.  
<https://doi.org/10.1111/desc.12282>
- Breton Carrie V., Marsit Carmen J., Faustman Elaine, Nadeau Kari, Goodrich Jaclyn M., Dolinoy Dana C., Herbstman Julie, Holland Nina, LaSalle Janine M., Schmidt Rebecca, Yousefi Paul, Perera Frederica, Joubert Bonnie R., Wiemels Joseph, Taylor Michele, Yang Ivana V., Chen Rui, Hew Kinjal M., Freeland Deborah M. Hussey, ... Murphy Susan K. (2017). Small-Magnitude Effect Sizes in Epigenetic End Points are Important in Children’s Environmental Health Studies: The Children’s Environmental Health and Disease Prevention Research Center’s Epigenetics Working Group. *Environmental Health Perspectives*, *125*(4), 511–526. <https://doi.org/10.1289/EHP595>
- Burke, H. M., Davis, M. C., Otte, C., & Mohr, D. C. (2005). Depression and cortisol responses to psychological stress: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, *30*(9), 846–856.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.02.010>
- Bustamante, A. C., Aiello, A. E., Galea, S., Ratanatharathorn, A., Noronha, C., Wildman, D. E., & Uddin, M. (2016). Glucocorticoid receptor DNA methylation, childhood maltreatment and major depression. *Journal of Affective Disorders*, *206*, 181–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.07.038>
- Bustamante, A. C., Aiello, A. E., Guffanti, G., Galea, S., Wildman, D. E., & Uddin, M. (2018). FKBP5 DNA methylation does not mediate the association between childhood maltreatment and depression symptom severity in the Detroit Neighborhood Health Study. *Journal of Psychiatric Research*, *96*, 39–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.09.016>
- Cantave, C. Y., Langevin, S., Marin, M.-F., Brendgen, M., Lupien, S., & Ouellet-Morin, I. (2019). Impact of maltreatment on depressive symptoms in young male adults: The

mediating and moderating role of cortisol stress response and coping strategies.

*Psychoneuroendocrinology*, 103, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.12.235>

Chagnon, Y. C., Potvin, O., Hudon, C., & Prévaille, M. (2015). DNA methylation and single nucleotide variants in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and oxytocin receptor (OXTR) genes are associated with anxiety/depression in older women. *Frontiers in Genetics*, 6. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00230>

Checknita, D., Ekström, T. J., Comasco, E., Nilsson, K. W., Tiihonen, J., & Hodgins, S. (2018). Associations of monoamine oxidase A gene first exon methylation with sexual abuse and current depression in women. *Journal of Neural Transmission*, 125(7), 1053–1064. <https://doi.org/10.1007/s00702-018-1875-3>

Czamara, D., Eraslan, G., Page, C. M., Lahti, J., Lahti-Pulkkinen, M., Hämäläinen, E., Kajantie, E., Laivuori, H., Villa, P. M., Reynolds, R. M., Nystad, W., Håberg, S. E., London, S. J., O'Donnell, K. J., Garg, E., Meaney, M. J., Entringer, S., Wadhwa, P. D., Buss, C., ... Binder, E. B. (2019). Integrated analysis of environmental and genetic influences on cord blood DNA methylation in new-borns. *Nature Communications*, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10461-0>

Farrell, C., Doolin, K., O' Leary, N., Jairaj, C., Roddy, D., Tozzi, L., Morris, D., Harkin, A., Frodl, T., Nemoda, Z., Szyf, M., Booij, L., & O'Keane, V. (2018). DNA methylation differences at the glucocorticoid receptor gene in depression are related to functional alterations in hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity and to early life emotional abuse. *Psychiatry Research*, 265, 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.04.064>

Feil, R., & Fraga, M. F. (2012). Epigenetics and the environment: Emerging patterns and implications. *Nature Reviews Genetics*, 13(2), 97–109. <https://doi.org/10.1038/nrg3142>

Fergusson, D. M., Horwood, L. J., & Boden, J. M. (2011). Structural equation modeling of repeated retrospective reports of childhood maltreatment. *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, 20(2), 93–104. <https://doi.org/10.1002/mpr.337>

Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J. L., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age,

- and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLOS Medicine*, 10(11), e1001547. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001547>
- Finkelhor, D. (1994). Current Information on the Scope and Nature of Child Sexual Abuse. *The Future of Children*, 4(2), 31–53. JSTOR. <https://doi.org/10.2307/1602522>
- Fraga, M. F., Ballestar, E., Paz, M. F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M. L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J. C., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, T. D., Wu, Y.-Z., ... Gartler, S. M. (2005). Epigenetic Differences Arise during the Lifetime of Monozygotic Twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(30), 10604–10609. JSTOR.
- Frodl, T., Szyf, M., Carballedo, A., Ly, V., Dymov, S., Vaisheva, F., Morris, D., Fahey, C., Meaney, J., Gill, M., & Booij, L. (2015). DNA methylation of the serotonin transporter gene (SLC6A4) is associated with brain function involved in processing emotional stimuli. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 40(5), 296–305. <https://doi.org/10.1503/jpn.140180>
- Gilbert, R., Widom, C. S., Browne, K., Fergusson, D., Webb, E., & Janson, S. (2009). Burden and consequences of child maltreatment in high-income countries. *The Lancet*, 373(9657), 68–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61706-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61706-7)
- Hankin, B. L. (2006). Adolescent depression: Description, causes, and interventions. *Epilepsy & Behavior*, 8(1), 102–114. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2005.10.012>
- Higgins, D. J., & McCabe, M. P. (2000). Relationships between Different Types of Maltreatment during Childhood and Adjustment in Adulthood. *Child Maltreatment*, 5(3), 261–272. <https://doi.org/10.1177/1077559500005003006>
- Höhne, N., Poidinger, M., Merz, F., Pfister, H., Brückl, T., Zimmermann, P., Uhr, M., Holsboer, F., & Ising, M. (2015). FKBP5 Genotype-Dependent DNA Methylation and mRNA Regulation After Psychosocial Stress in Remitted Depression and Healthy Controls. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(4). <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu087>



- Houtepen, L. C., Vinkers, C. H., Carrillo-Roa, T., Hiemstra, M., van Lier, P. A., Meeus, W., Branje, S., Heim, C. M., Nemeroff, C. B., Mill, J., Schalkwyk, L. C., Croyghton, M. P., Kahn, R. S., Joëls, M., Binder, E. B., & Boks, M. P. M. (2016). Genome-wide DNA methylation levels and altered cortisol stress reactivity following childhood trauma in humans. *Nature Communications*, *7*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/ncomms10967>
- Humphreys, K. L., LeMoult, J., Wear, J. G., Piersiak, H. A., Lee, A., & Gotlib, I. H. (2020). Child maltreatment and depression: A meta-analysis of studies using the Childhood Trauma Questionnaire. *Child Abuse & Neglect*, *102*, 104361. <https://doi.org/10.1016/j.chiabu.2020.104361>
- Iga, J., Watanabe, S., Numata, S., Umehara, H., Nishi, A., Kinoshita, M., Inoshita, M., Shimodera, S., Fujita, H., & Ohmori, T. (2016). Association study of polymorphism in the serotonin transporter gene promoter, methylation profiles, and expression in patients with major depressive disorder. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *31*(3), 193–199. <https://doi.org/10.1002/hup.2527>
- Janusek, L. W., Tell, D., Gaylord-Harden, N., & Mathews, H. L. (2017). Relationship of childhood adversity and neighborhood violence to a proinflammatory phenotype in emerging adult African American men: An epigenetic link. *Brain, Behavior, and Immunity*, *60*, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.10.006>
- Jiang, Y., Liu, S., Chen, X., Cao, Y., & Tao, Y. (2013). Genome-wide distribution of DNA methylation and DNA demethylation and related chromatin regulators in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, *1835*(2), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.12.003>
- Jjingo, D., Conley, A. B., Yi, S. V., Lunyak, V. V., & Jordan, I. K. (2012). On the presence and role of human gene-body DNA methylation. *Oncotarget*, *3*(4), 462–474. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.497>
- Jones, M. J., Moore, S. R., & Kobor, M. S. (2018). Principles and Challenges of Applying Epigenetic Epidemiology to Psychology. *Annual Review of Psychology*, *69*(1), 459–485. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-122414-033653>

- Kessler, R. (1993). Sex and depression in the National Comorbidity Survey I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence. *Journal of Affective Disorders*, 29(2–3), 85–96. [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(93\)90026-G](https://doi.org/10.1016/0165-0327(93)90026-G)
- Klengel, T., Mehta, D., Anacker, C., Rex-Haffner, M., Pruessner, J. C., Pariante, C. M., Pace, T. W. W., Mercer, K. B., Mayberg, H. S., Bradley, B., Nemeroff, C. B., Holsboer, F., Heim, C. M., Ressler, K. J., Rein, T., & Binder, E. B. (2013). Allele-specific FKBP5 DNA demethylation mediates gene–childhood trauma interactions. *Nature Neuroscience*, 16(1), 33–41. <https://doi.org/10.1038/nn.3275>
- Koss, K. J., & Gunnar, M. R. (2018). Annual Research Review: Early adversity, the hypothalamic–pituitary–adrenocortical axis, and child psychopathology. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 59(4), 327–346. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12784>
- Labonte, B., Yerko, V., Gross, J., Mechawar, N., Meaney, M. J., Szyf, M., & Turecki, G. (2012). Differential Glucocorticoid Receptor Exon 1B, 1C, and 1H Expression and Methylation in Suicide Completers with a History of Childhood Abuse. *Biological Psychiatry*, 72(1), 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.01.034>
- Leeb, R., Paulozzi, L., Melanson, C., Simon, T., & Arias, I. (2008). *Child Maltreatment Surveillance: Uniform Definitions for Public Health and Recommended Data Elements* [Technical Report]. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://nvcv.dspacedirect.org/handle/20.500.11990/337>
- Lereya, S. T., Samara, M., & Wolke, D. (2013). Parenting behavior and the risk of becoming a victim and a bully/victim: A meta-analysis study. *Child Abuse & Neglect*, 37(12), 1091–1108. <https://doi.org/10.1016/j.chiabu.2013.03.001>
- Li, M., D’Arcy, C., & Meng, X. (2016). Maltreatment in childhood substantially increases the risk of adult depression and anxiety in prospective cohort studies: Systematic review, meta-analysis, and proportional attributable fractions. *Psychological Medicine*, 46(4), 717–730. <https://doi.org/10.1017/S0033291715002743>
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1997). Maternal Care, Hippocampal Glucocorticoid

- Receptors, and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Stress. *Science*, 277(5332), 1659–1662. <https://doi.org/10.1126/science.277.5332.1659>
- Liu, R. T. (2017). Childhood Adversities and Depression in Adulthood: Current Findings and Future Directions. *Clinical Psychology: Science and Practice*, 24(2), 140–153. <https://doi.org/10.1111/cpsp.12190>
- Liu, Y., Ho, R. C.-M., & Mak, A. (2012). Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Affective Disorders*, 139(3), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.08.003>
- Martín-Blanco, A., Ferrer, M., Soler, J., Salazar, J., Vega, D., Andión, O., Sanchez-Mora, C., Arranz, M. J., Ribases, M., Feliu-Soler, A., Pérez, V., & Pascual, J. C. (2014). Association between methylation of the glucocorticoid receptor gene, childhood maltreatment, and clinical severity in borderline personality disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 57, 34–40. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.06.011>
- McCrory, E., De Brito, S. A., & Viding, E. (2011). The Impact of Childhood Maltreatment: A Review of Neurobiological and Genetic Factors. *Frontiers in Psychiatry*, 2. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2011.00048>
- McGowan, P. O., Sasaki, A., D'Alessio, A. C., Dymov, S., Labonté, B., Szyf, M., Turecki, G., & Meaney, M. J. (2009). Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nature Neuroscience*, 12(3), 342–348. <https://doi.org/10.1038/nn.2270>
- Melas, P. A., & Forsell, Y. (2015). Hypomethylation of MAOA's first exon region in depression: A replication study. *Psychiatry Research*, 226(1), 389–391. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.01.003>
- Melas, P. A., Wei, Y., Wong, C. C. Y., Sjöholm, L. K., Åberg, E., Mill, J., Schalling, M., Forsell, Y., & Lavebratt, C. (2013). Genetic and epigenetic associations of MAOA and NR3C1 with depression and childhood adversities. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16(07), 1513–1528. <https://doi.org/10.1017/S1461145713000102>

- 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. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.110.3.406>
- Nantharat, M., Wanitchanon, T., Amesbutr, M., Tammachote, R., & Praphanphoj, V. (2015). Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) promoter is hypermethylated in Thai females with major depressive disorder. *Genetics and Molecular Research*, *14*(4), 19071–19079. <https://doi.org/10.4238/2015.December.29.15>
- Norman, R. E., Byambaa, M., De, R., Butchart, A., Scott, J., & Vos, T. (2012). The Long-Term Health Consequences of Child Physical Abuse, Emotional Abuse, and Neglect: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS Medicine*, *9*(11), e1001349. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001349>
- Olsson, C. A., Foley, D. L., Parkinson-Bates, M., Byrnes, G., McKenzie, M., Patton, G. C., Morley, R., Anney, R. J. L., Craig, J. M., & Saffery, R. (2010). Prospects for epigenetic research within cohort studies of psychological disorder: A pilot investigation of a peripheral cell marker of epigenetic risk for depression. *Biological Psychology*, *83*(2), 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.12.003>
- Ouellet-Morin, I., Boivin, M., Dionne, G., Lupien, S. J., Arseneault, L., Barr, R. G., Pérusse, D., & Tremblay, R. E. (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. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2007.27>
- Peng, H., Zhu, Y., Strachan, E., Fowler, E., Bacus, T., Roy-Byrne, P., Goldberg, J., Vaccarino, V., & Zhao, J. (2018). Childhood Trauma, DNA Methylation of Stress-related Genes, and Depression: Findings from Two Monozygotic Twin Studies. *Psychosomatic Medicine*, *80*(7), 599–608. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000604>
- Perroud, N., Paoloni-Giacobino, A., Prada, P., Olié, E., Salzmann, A., Nicastro, R., Guillaume, S., Mouthon, D., Stouder, C., Dieben, K., Huguelet, P., Courtet, P., & Malafosse, A. (2011). Increased methylation of glucocorticoid receptor gene ( NR3C1 ) in adults with a history of childhood maltreatment: A link with the severity and type of trauma. *Translational Psychiatry*, *1*(12), e59–e59. <https://doi.org/10.1038/tp.2011.60>

- Philibert, R. A., Sandhu, H., Hollenbeck, N., Gunter, T., Adams, W., & Madan, A. (2008). The relationship of 5HTT (SLC6A4) methylation and genotype on mRNA expression and liability to major depression and alcohol dependence in subjects from the Iowa Adoption Studies. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *147B*(5), 543–549. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30657>
- Provençal, N., & Binder, E. B. (2015). The effects of early life stress on the epigenome: From the womb to adulthood and even before. *Experimental Neurology*, *268*, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.09.001>
- Roy, B., Shelton, R. C., & Dwivedi, Y. (2017). DNA methylation and expression of stress related genes in PBMC of MDD patients with and without serious suicidal ideation. *Journal of Psychiatric Research*, *89*, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.02.005>
- Ryan, J., Pilkington, L., Neuhaus, K., Ritchie, K., Ancelin, M.-L., & Saffery, R. (2017). Investigating the epigenetic profile of the inflammatory gene IL-6 in late-life depression. *BMC Psychiatry*, *17*(1), 354. <https://doi.org/10.1186/s12888-017-1515-8>
- Shields, A. E., Wise, L. A., Ruiz-Narvaez, E. A., Seddighzadeh, B., Byun, H.-M., Cozier, Y. C., Rosenberg, L., Palmer, J. R., & Baccarelli, A. A. (2016). Childhood abuse, promoter methylation of leukocyte NR3C1 and the potential modifying effect of emotional support. *Epigenomics*, *8*(11), 1507–1517. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0074>
- Shonkoff, J. P., Boyce, W. T., & McEwen, B. S. (2009). Neuroscience, Molecular Biology, and the Childhood Roots of Health Disparities: Building a New Framework for Health Promotion and Disease Prevention. *JAMA*, *301*(21), 2252–2259. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.754>
- Smearman, E. L., Almlí, L. M., Conneely, K. N., Brody, G. H., Sales, J. M., Bradley, B., Ressler, K. J., & Smith, A. K. (2016). Oxytocin Receptor Genetic and Epigenetic Variations: Association With Child Abuse and Adult Psychiatric Symptoms. *Child Development*, *87*(1), 122–134. <https://doi.org/10.1111/cdev.12493>
- Smith, A. K., Kilaru, V., Klengel, T., Mercer, K. B., Bradley, B., Conneely, K. N., Ressler, K. J., & Binder, E. B. (2015). DNA extracted from saliva for methylation studies of psychiatric traits: Evidence tissue specificity and relatedness to brain. *American Journal of Medical*

*Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 168(1), 36–44.

<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32278>

- Stoltenborgh, M., Bakermans-Kranenburg, M. J., Alink, L. R. A., & IJzendoorn, M. H. van. (2015). The Prevalence of Child Maltreatment across the Globe: Review of a Series of Meta-Analyses. *Child Abuse Review*, 24(1), 37–50. <https://doi.org/10.1002/car.2353>
- Strathearn, L., Giannotti, M., Mills, R., Kisely, S., Najman, J., & Abajobir, A. (2020). Long-term Cognitive, Psychological, and Health Outcomes Associated With Child Abuse and Neglect. *Pediatrics*, 146(4). <https://doi.org/10.1542/peds.2020-0438>
- Suderman, M., McGowan, P. O., Sasaki, A., Huang, T. C. T., Hallett, M. T., Meaney, M. J., Turecki, G., & Szyf, M. (2012). Conserved epigenetic sensitivity to early life experience in the rat and human hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(Supplement 2), 17266–17272. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121260109>
- Teh, A. L., Pan, H., Chen, L., Ong, M.-L., Dogra, S., Wong, J., MacIsaac, J. L., Mah, S. M., McEwen, L. M., Saw, S.-M., Godfrey, K. M., Chong, Y.-S., Kwek, K., Kwok, C.-K., Soh, S.-E., Chong, M. F. F., Barton, S., Karnani, N., Cheong, C. Y., ... Holbrook, J. D. (2014). The effect of genotype and in utero environment on interindividual variation in neonate DNA methylomes. *Genome Research*, 24(7), 1064–1074. <https://doi.org/10.1101/gr.171439.113>
- Tozzi, L., Farrell, C., Booij, L., Doolin, K., Nemoda, Z., Szyf, M., Pomares, F. B., Chiarella, J., O’Keane, V., & Frodl, T. (2018). Epigenetic Changes of FKBP5 as a Link Connecting Genetic and Environmental Risk Factors with Structural and Functional Brain Changes in Major Depression. *Neuropsychopharmacology*, 43(5), 1138–1145. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.290>
- Tyrka, A. R., Price, L. H., Marsit, C., Walters, O. C., & Carpenter, L. L. (2012). Childhood Adversity and Epigenetic Modulation of the Leukocyte Glucocorticoid Receptor: Preliminary Findings in Healthy Adults. *PLOS ONE*, 7(1), e30148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030148>

- Vijayendran, M., Beach, S., Plume, J. M., Brody, G., & Philibert, R. (2012). Effects of Genotype and Child Abuse on DNA Methylation and Gene Expression at the Serotonin Transporter. *Frontiers in Psychiatry*, 3. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00055>
- Weaver, I. C. G., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., Dymov, S., Szyf, M., & Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8), 847–854. <https://doi.org/10.1038/nm1276>
- Wiechmann, T., Röh, S., Sauer, S., Czamara, D., Arloth, J., Ködel, M., Beintner, M., Knop, L., Menke, A., Binder, E. B., & Provençal, N. (2019). Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus. *Clinical Epigenetics*, 11(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0682-5>
- Won, E., Choi, S., Kang, J., Kim, A., Han, K.-M., Chang, H. S., Tae, W. S., Son, K. R., Joe, S.-H., Lee, M.-S., & Ham, B.-J. (2016). Association between reduced white matter integrity in the corpus callosum and serotonin transporter gene DNA methylation in medication-naive patients with major depressive disorder. *Translational Psychiatry*, 6(8), e866–e866. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.137>
- World Health Organization. (2016, September). World Health Organization. Retrieved August 30, 2017, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs150/en/>
- Yousefi, P., Huen, K., Davé, V., Barcellos, L., Eskenazi, B., & Holland, N. (2015). Sex differences in DNA methylation assessed by 450 K BeadChip in newborns. *BMC Genomics*, 16(1), 911. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2034-y>
- Zhang, D., Cheng, L., Badner, J. A., Chen, C., Chen, Q., Luo, W., Craig, D. W., Redman, M., Gershon, E. S., & Liu, C. (2010). Genetic Control of Individual Differences in Gene-Specific Methylation in Human Brain. *The American Journal of Human Genetics*, 86(3), 411–419. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.02.005>
- Zhao, J., Goldberg, J., Bremner, J. D., & Vaccarino, V. (2013). Association Between Promoter Methylation of Serotonin Transporter Gene and Depressive Symptoms: A Monozygotic Twin Study. *Psychosomatic Medicine*, 75(6). <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e3182924cf4>

