



Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia:

Proyecto TeloNeuro

TESIS DOCTORAL

Irene Campos Sánchez

DIRECTORA

Eva María Navarrete Muñoz

CODIRECTORA

Desirée Valera Gran

Universidad Miguel Hernández de Elche

– 2025 –



La presente Tesis Doctoral, titulada “*Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro*”, se presenta bajo la modalidad de **tesis por compendio** de las siguientes **publicaciones**:

- Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz EM, Hurtado-Pomares M, Júlvez J, Lertxundi N, Martens DS, Fernández-Somoano A, Riaño-Galán I, Guxens M, Ibarluzea JM, Nawrot T, Valera-Gran D. Association between telomere length and neuropsychological function at 4-5 years in children from the INMA project: a cross-sectional study. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2024;33(8):2803-2812. doi: 10.1007/s00787-023-02361-y.
- Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz EM, Martens DS, Riaño-Galán I, Lertxundi A, Llop S, Guxens M, Rodríguez-Dehli C, Lertxundi N, Soler-Blasco R, Vrijheid M, Nawrot TS, Wright J, Yang TC, McEachan R, Gützkow KB, Chatzi VL, Vafeiadi M, Kampouri M, Grazuleviciene R, Andrusaityte S, Lepeule J, Valera-Gran D. Telomere Length and Symptoms of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder in Children at 6-12 Years. *J Atten Disord*. 2025;29(6):474-485. doi: 10.1177/10870547251314923.
- Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz E.M, Barber-Valles J.X, Martens D.S, Riaño-Galán I, Irizar A, Llop S, Guxens M, Rodríguez-Dehli C, Babarro, I, Lozano M, Vrijheid M, Nawrot T, Valera-Gran D. Telomere Length and Emotional and Behavioral Problems in Children from the Prospective Birth Cohort Infancia y Medio Ambiente (INMA) Study. *Children* 2025;(12):875. doi: [https://doi.org/ 10.3390/children12070875](https://doi.org/10.3390/children12070875).



La Dra. Dña. *Eva María Navarrete Muñoz*, director/a, y la Dra. Dña. *Desirée Valera Gran*, codirector/a de la tesis doctoral titulada **“Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro”**.

INFORMA/N:

Que Dña. *Irene Campos Sánchez* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado **“Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo/firmamos para los efectos oportunos, en a
..... de de 2025

Director/a de la tesis
Dra. Dña. *Eva María Navarrete Muñoz*

Codirector/a de la tesis
Dra. Dña. *Desirée Valera Gran*



La Dra. Dña. *María del Mar Masiá Canuto*, Coordinador/a del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche

INFORMA:

Que Dña. *Irene Campos Sánchez* ha realizado bajo la supervisión de nuestro Programa de Doctorado el trabajo titulado **“Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro”** conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en a de de 2025

Profª. Dra. Dña. *María del Mar Masiá Canuto*

Coordinadora del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche



FINANCIACIÓN

La realización de la investigación llevada a cabo en la presente tesis doctoral titulada **“Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro”** ha sido financiada por la Conselleria de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital de la Comunidad Valenciana por el Proyecto *“Longitud de los telómeros y desarrollo neuropsicológico entre 4 y 8 años: Proyecto TeloNeuro (GVA/2021/191)”*.

Además, la determinación de la longitud telomérica de las cohortes del proyecto INMA fue financiada a través del proyecto *“Dieta y actividad física en el embarazo y al nacimiento y la longitud del telómero en la niñez y la adolescencia (PI18/00825)”* del Instituto de Salud Carlos III/Agencia Estatal de Investigación.

Por su parte, la doctoranda Irene Campos Sánchez ha obtenido diversos contratos de investigación que han financiado su período predoctoral: beca de iniciación a la investigación de la Universidad Miguel Hernández de Elche (octubre-diciembre 2021), ayuda a la contratación de personal investigador en formación de la Universidad Miguel Hernández de Elche (octubre-diciembre 2022) y Ayuda para la Formación de Profesorado Universitario del Ministerio de Educación (FPU21/01323) (diciembre 2022 hasta la actualidad).

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. EL TELÓMERO COMO BIOMARCADOR DEL ENVEJECIMIENTO Y EL DESARROLLO CEREBRAL	1
1.1. Biología estructural y funcional de los telómeros.....	1
1.2. Longitud del telómero y funcionamiento cerebral.....	4
1.3. Determinación de la longitud del telómero.....	5
2. DESARROLLO NEUROPSICOLÓGICO EN LA INFANCIA	7
2.1. Definición de desarrollo neuropsicológico.....	7
2.2. Dominios funcionales y fenotipos clínicos.....	9
2.3. Evaluación del desarrollo neuropsicológico.....	11
3. LONGITUD DEL TELÓMERO Y DESARROLLO NEUROPSICOLÓGICO	16
3.1. Longitud del telómero y área psicomotora/cognitiva.....	16
3.2. Longitud del telómero y área socioemocional.....	17
3.3. Longitud del telómero y trastorno por déficit de atención e hiperactividad.....	18
HIPÓTESIS	22
OBJETIVOS	23
METODOLOGÍA	24
1. DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	24
2. ASPECTOS ÉTICOS.....	26
3. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	27
3.1. Longitud del telómero de los leucocitos.....	27
3.2. Desarrollo neuropsicológico.....	29
3.2.1. Área cognitiva y psicomotora.....	29
3.2.2. Área socioemocional.....	31
3.2.3. TDAH.....	32
3.3. Covariables.....	33
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	34
RESULTADOS	37
1. PUBLICACIÓN I.....	37
1.1. Resumen.....	37
1.2. Resultados.....	38
2. PUBLICACIÓN II.....	43
2.1. Resumen.....	43
2.2. Resultados.....	43

3. PUBLICACIÓN III.....	49
3.1. Resumen.....	49
3.2. Resultados.....	49
DISCUSIÓN.....	54
Limitaciones y fortalezas del estudio.....	61
CONCLUSIONES.....	63
CONCLUSIONS.....	64
IMPLICACIONES PARA LA SALUD PÚBLICA.....	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS.....	79
ANEXO 1. Artículo correspondiente a la Publicación I.....	80
ANEXO 2. Artículo correspondiente a la Publicación II.....	91
ANEXO 3. Artículo correspondiente a la Publicación III.....	115
ANEXO 4. Evaluaciones del desarrollo neuropsicológico.....	128
ANEXO 5. Determinación de la longitud del telómero de los leucocitos.....	132
ANEXO 6. Comités de ética aprobados de los proyectos.....	134
AGRADECIMIENTOS.....	139



LISTADO DE ACRÓNIMOS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

BiB: Born in Bradford

CANTAB: Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery

CBCL: Child Behavior Checklist

CPRS: Conners' Parent Rating Scale

CPRS-R:S: Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form

CPSCS: Preschool Social Competence Scale

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EDEN: Etude des Déterminants pré et postnatals du développement et de la santé de l'Enfant

FISH: Fluorescence In Situ Hybridization

HBQ: MacArthur Health and Behavior Questionnaire

HELIX: Human Early-Life Exposome

IC: Intervalo de Confianza

ICC: Coeficiente de Correlación Intraclase

IMC: Índice de Masa Corporal

INMA: Infancia y Medio Ambiente

IRR: Incidence Rate Ratio

KANC: Kaunas Cohort

KB: Kilobases

LT: Longitud del Telómero

LTL: Longitud del Telómero de los Leucocitos

MCSA: McCarthy Scales of Children's Abilities

MoBa: Norwegian Mother, Father, and Child Cohort Study

NB: Negative Binomial

NEPSY: Developmental Neuropsychological Assessment

NO: Dióxido de Nitrógeno

OR: Odds Ratio

qPCR: Quantitative Polymerase Chain Reaction

Rhea: Mother-Child Cohort de Creta

RI: Rango Intercuartílico

SDQ: Strengths and Difficulties Questionnaire

STELA: Single Telomere Length Analysis

TDAH: Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad

TRF: Telomere Restriction Fragment

ZINB: Zero Inflated Negative Binomial



LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Representación simplificada de un cromosoma y señalización de la región telomérica (Elaboración propia).

Figura 2. Gráfica del acortamiento de la longitud del telómero con el paso del tiempo, de los 0 a los 100 años (Gráfica extraída del artículo original de Aubert G, 2012).

Figura 3. Relación entre el acortamiento de la longitud del telómero y el riesgo de enfermedades relacionadas con la edad y la mortalidad general (Figura basada en las incluidas en los artículos Blackburn 2015 y Smith 2019).

Figura 4. Marco conceptual propuesto por J. Forns y colegas sobre la definición del desarrollo neuropsicológico infantil (Figura basada en la incluida en el artículo original de Forns, 2012).

Figura 5. Posible relación entre estrés oxidativo y neuroinflamación, acortamiento de la longitud del telómero y su impacto en el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).

Figura 6. Localización geográfica de las cohortes pertenecientes al proyecto INMA (Fuente: <https://www.proyectoinma.org/>).

Figura 7. Localización geográfica de las cohortes pertenecientes al proyecto HELIX (Fuente: <https://athleteproject.eu/helix-cohort/>).

Figura 8. Parejas madre-hijo/a incluidas para responder a cada uno de los objetivos propuestos (Elaboración propia).

Figura 9. Ejemplo de determinación de la longitud del telómero de los leucocitos mediante qPCR con medida de resultado expresada en T/S (Extraída del artículo original de Lai TP, 2018).

Figura 10. Batería de evaluación McCarthy (Fotografía extraída de la editorial Pearson que la comercializa).

Figura 11. Análisis de sensibilidad de la asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y la función de memoria de trabajo en niños/as de 4-5 años.

Figura 12. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los síntomas de hiperactividad para cada cohorte.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Características principales de los métodos de determinación de la longitud de los telómeros (Elaboración propia).

Tabla 2. Características de las baterías y cuestionarios más utilizados para evaluar el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).

Tabla 3. Características y resultados principales de los estudios que exploran la asociación entre la longitud de los telómeros y el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).

Tabla 4. Subescalas incluidas en la prueba de evaluación McCarthy (Elaboración propia basada en los resultados originales de la batería de evaluación y los propuestos por Julvez y colaboradores).

Tabla 5. Ítems incluidos en cada subescala evaluada en el cuestionario Strengths and Difficulties Questionnaire (Elaboración propia basada en el cuestionario disponible en <http://www.sdqinfo.com>).

Tabla 6. Ejemplos de los ítems que se incluyen en las diferentes subescalas de la Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (Elaboración propia basado en el cuestionario adaptado de Keith Conners).

Tabla 7. Covariables incluidas en los diferentes objetivos del estudio (Elaboración propia).

Tabla 8. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y los/as niños/as del proyecto INMA a los 4-5 años (n= 686).

Tabla 9. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo cognitivo y psicomotor a los 4 años.

Tabla 10. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo neuropsicológico en los/as niños/as del proyecto INMA a los 4-5 años (n=686).

Tabla 11. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y los/as niños/as pertenecientes al proyecto INMA (España) a los 4 y 8 años.

Tabla 12. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo socioemocional.

Tabla 13. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niños/as del proyecto INMA (España).

Tabla 14. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niñas del proyecto INMA (España).

Tabla 15. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niños del proyecto INMA (España).

Tabla 16. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y niños/as pertenecientes a los proyectos HELIX e INMA (n= 1759).

Tabla 17. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y los síntomas de TDAH.

Tabla 18. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y síntomas de trastorno de déficit de atención e hiperactividad en niños/as a los 6-12 años pertenecientes a los proyectos HELIX e INMA (n= 1759).



RESUMEN

Antecedentes y objetivos

Los telómeros son estructuras de nucleoproteínas especializadas que se ubican en el extremo de los cromosomas promoviendo la estabilidad genómica. La longitud del telómero (LT) disminuye con la edad de manera progresiva debido al proceso de división mitótica y se conoce como un biomarcador de envejecimiento celular. Numerosas investigaciones han asociado el acortamiento de la LT con un mayor riesgo de mortalidad y con enfermedades relacionadas con la edad. La investigación sobre el papel de la LT como potencial psicobiomarcador del envejecimiento cerebral ha descubierto que una LT más larga podría ser beneficiosa para la estructura y funciones cerebrales en población adulta. Sin embargo, la evidencia sobre su posible impacto en el desarrollo neuropsicológico infantil es todavía bastante escasa e inconsistente. Algunos de los estudios realizados encuentran una posible asociación entre la LT y el desarrollo motor y socioemocional los/as niños/as, pero no con el desarrollo cognitivo. De manera similar, la asociación entre la LT y los síntomas de trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) presentan resultados inconsistentes, ya que algunas investigaciones han relacionado el acortamiento de LT con una mayor sintomatología de TDAH, mientras que un estudio con mediciones longitudinales no encontró una asociación directa.

En base a lo anterior, el objetivo general de la presente tesis es explorar la asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos (LTL) y el desarrollo neuropsicológico en la infancia. Para dar respuesta a este objetivo, se abordaron tres objetivos específicos: (1) analizar la asociación transversal entre la LTL y las funciones cognitiva y psicomotora a los 4 años; (2) estudiar la asociación entre la LTL a los 4 o 8 años y los problemas socioemocionales a los 8 años, así como el impacto de los cambios en la LTL entre los 4 y los 8 años sobre dichos problemas a los 8 años; y (3) evaluar la asociación entre la LTL y los síntomas de TDAH entre los 6 y los 12 años.

Metodología

Se utilizaron datos procedentes del proyecto Infancia y Medio Ambiente (INMA). Además, con el fin de aumentar el tamaño muestral al objetivo 3, se incorporaron también datos de varias cohortes de nacimiento incluidas en el proyecto Human Early-Life Exposome (HELIX).

Para dar respuesta al primer objetivo de la tesis, se incluyeron datos de 686 niños/as de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Sabadell, con información completa sobre las variables principales de estudio y potenciales covariables correspondientes a la visita a los 4 años.

En relación al segundo objetivo, se analizaron datos de tres grupos muestrales parcialmente solapados: (1) 647 niños/as de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Sabadell, con información

sobre LTL a los 4 años y problemas socioemocionales a los 8 años; (2) 673 niños/as de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Valencia con datos sobre LTL a los 8 años y problemas socioemocionales a la misma edad; y (3) 315 participantes de las cohortes de Asturias y Guipúzcoa con mediciones de LTL tanto a los 4 como a los 8 años.

Por último, para abordar el tercer objetivo, se incluyó una muestra de 1759 niños/as con información sobre LTL, síntomas TDAH y covariables entre los 6 y los 12 años: 673 procedentes de las cohortes INMA (Asturias, Guipúzcoa y Valencia) y 1086 de las cohortes pertenecientes al proyecto HELIX.

La LTL se estimó a partir de la fracción leucocitaria de muestras de sangre recolectadas durante las visitas de seguimiento. Para su determinación se empleó un protocolo modificado de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) basada en fluorocromos. En los análisis de asociación del primer objetivo de la tesis se utilizaron las mediciones directas obtenidas de la LTL (expresadas en la razón T/S), mientras que para los objetivos segundo y tercero dichas mediciones fueron transformadas en puntuaciones Z.

El desarrollo neuropsicológico se evaluó a los 4 años mediante la versión estandarizada y adaptada a la población española de la McCarthy Scales of Children's Abilities (MCSA), que valoran el desarrollo cognitivo y psicomotor infantil. En la visita a los 8 años, se recogió información sobre el desarrollo socioemocional de los niños/as mediante el cuestionario Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ). Los síntomas del TDAH se evaluaron entre los 6 y los 12 años, en función del momento de recogida de datos de cada cohorte, mediante la versión adaptada de la Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (CPRS-R:S), cumplimentada por los progenitores. Asimismo, se recopiló información sobre posibles covariables sobre características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y sus hijos/as.

Para estimar las asociaciones entre la LTL y los diferentes resultados de desarrollo neuropsicológico infantil, se combinaron los datos de cada cohorte utilizando técnicas metaanalíticas de análisis conjunto. Para responder al primer objetivo, se aplicaron modelos de regresión lineal múltiple ajustados por potenciales confusores. Posteriormente, para confirmar la robustez de los hallazgos, se llevaron diferentes análisis de sensibilidad. En el segundo objetivo, se utilizaron modelos de regresión binomial negativa inflada por ceros o binomial negativa, según la distribución de la variable de resultado. Por último, para el tercer objetivo se realizaron modelos de regresión binomial negativa múltiple.

Resultados

En el análisis de la asociación entre la LTL y los resultados de las áreas cognitivas y psicomotoras, se observó que una mayor LTL se asoció con un aumento en la puntuación media del índice cuantitativo global, aunque la asociación fue marginalmente significativa ($\beta = 3,85$; IC95% = -0,19; 7,89; $p = 0,062$; $I^2 = 0,0\%$). Asimismo, se encontró que una asociación positiva y estadísticamente significativa entre una mayor LTL y un mejor rendimiento en memoria de trabajo ($\beta = 4,55$; IC95% = 0,39; 8,71; $p = 0,032$; $I^2 = 0,0\%$).

En cuanto a la relación entre la LTL y el área socioemocional, no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre la LTL a los 4 o 8 años, ni entre el cambio en el rango de LTL entre los 4 y los 8 años, y los resultados psicoemocionales a los 8 años.

Respecto a los síntomas de TDAH, las estimaciones globales no mostraron asociaciones significativas con la LTL. Sin embargo, al analizar los resultados por separado las dos muestras, se identificaron diferencias relevantes. En las cohortes del proyecto HELIX ($n = 1086$), una mayor LTL se asoció con un menor riesgo de sintomatología de hiperactividad (IRR = 0,93; IC95% = 0,87; 0,99; $p = 0,022$). En contraste, en las cohortes del proyecto INMA ($n = 673$) no se encontraron asociaciones significativas.

Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que una mayor LTL se asocia significativamente con una puntuación más alta en la memoria de trabajo, y marginalmente con el índice cuantitativo, en niños/as de 4 años. No se observaron asociaciones significativas entre una mayor LTL y los problemas socioemocionales, ni a los 4 ni a los 8 años, ni tampoco en relación con los cambios en la LTL entre ambos momentos. Tampoco se identificaron asociaciones significativas entre una mayor LTL y los síntomas de TDAH en la muestra global de niños/as europeos de entre 6 y 12 años. No obstante, en el estudio europeo HELIX se observó una asociación significativa entre una mayor LTL y un menor riesgo de síntomas de hiperactividad, asociación que no se corroboró en la cohorte INMA ni en el análisis conjunto.

SUMMARY

Background and Objectives

Telomeres are specialised nucleoprotein structures located at the ends of chromosomes, which contribute to genomic stability. Telomere length (TL) progressively shortens with age due to mitotic division and is widely regarded as a biomarker of cellular ageing. Numerous studies have linked TL shortening to an increased risk of mortality and age-related diseases. In adults, longer TL has been associated with better brain structure and function, suggesting its potential as a psychobiomarker of brain ageing. However, evidence regarding its impact on neuropsychological development during childhood remains limited and inconsistent. Some studies suggest a potential association between TL and motor or socioemotional development in children, but not with cognitive development. Similarly, research exploring the relationship between TL and symptoms of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) has produced mixed findings, with some studies reporting an association between shorter TL and more severe ADHD symptoms, while one longitudinal study found no direct association.

In this context, the overall aim of the present thesis was to explore the association between leukocyte telomere length (LTL) and neuropsychological development in childhood. Specifically, the thesis sought to: (1) analyse the cross-sectional association between LTL and cognitive and psychomotor function at the age of four years; (2) examine the association between LTL at ages four and eight, as well as changes in LTL over this period, and socioemotional problems at age eight; and (3) assess the relationship between LTL and ADHD symptoms between the ages of six and twelve.

Methodology

Data were drawn from the *Infancia y Medio Ambiente* (INMA) Project. To increase statistical power for the third objective, additional data were included from several European birth cohorts participating in the Human Early-Life Exposome (HELIX) Project.

For the first objective, data were analysed from a subsample of 686 children from the Asturias, Gipuzkoa, and Sabadell cohorts who had complete information on LTL, cognitive and psychomotor outcomes, and relevant covariates at the four-year visit. For the second objective, three partially overlapping subsamples were considered: the first included 647 children from Asturias, Gipuzkoa, and Sabadell with LTL data at age four and socioemotional outcomes at age eight; the second comprised 673 children from Asturias, Gipuzkoa, and Valencia with both LTL and socioemotional data at age eight; and the third consisted of 315 children from Asturias and

Gipuzkoa with LTL measurements at both time points (ages four and eight). For the third objective, a total sample of 1,759 children aged between six and twelve years was included, comprising 673 children from INMA cohorts (Asturias, Gipuzkoa, and Valencia) and 1,086 from HELIX cohorts.

LTL was determined from the leucocyte fraction of peripheral blood samples collected during follow-up visits, using a modified quantitative polymerase chain reaction (qPCR) protocol based on fluorochrome technology. For the first objective, LTL was expressed as the T/S ratio. For the second and third objectives, values were standardised into Z-scores.

Neuropsychological development at age four was assessed using the standardised Spanish adaptation of the McCarthy Scales of Children's Abilities (MCSA), which evaluates cognitive and psychomotor functioning. At age eight, socioemotional development was measured using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ). ADHD symptoms were assessed between the ages of six and twelve, depending on each cohort's data collection schedule, using the parent-reported Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (CPRS-R:S). Information on relevant covariates, including sociodemographic characteristics and lifestyle factors of both mothers and children, was also collected.

To estimate the associations between LTL and the various neuropsychological outcomes, pooled analyses were performed using meta-analytic techniques. For the first objective, multiple linear regression models adjusted for potential confounders were applied. For the second objective, depending on the distribution of the outcome variable, zero-inflated negative binomial or negative binomial regression models were used. For the third objective, multiple negative binomial regression models were employed. Sensitivity analyses were conducted to assess the robustness of the results.

Results

In the analysis of the association between LTL and cognitive and psychomotor outcomes, a longer LTL was associated with higher mean scores in the general quantitative index, although the association was marginally significant ($\beta = 3.85$; 95%CI = -0.19 ; 7.89 ; $p = 0.062$; $I^2 = 0.0\%$). A statistically significant positive association was also found between longer LTL and better performance in working memory ($\beta = 4.55$; 95%CI = 0.39 ; 8.71 ; $p = 0.032$; $I^2 = 0.0\%$).

Regarding the relationship between LTL and socioemotional outcomes, no statistically significant associations were observed between LTL at ages four or eight, nor between the change in LTL from age four to eight, and socioemotional outcomes at age eight.

With respect to ADHD symptoms, the overall estimates did not show significant associations with LTL. However, when analysing the two samples separately, relevant differences were identified. In the HELIX cohorts ($n = 1,086$), a longer LTL was associated with a lower risk of hyperactivity symptoms (IRR = 0.93; 95%CI = 0.87; 0.99; $p = 0.022$). In contrast, no significant associations were found in the INMA cohorts ($n = 673$).

Conclusions

The findings allow us to conclude that a longer LTL is significantly associated with higher working memory scores, and marginally associated with the quantitative index, in four-year-old children. No significant associations were observed between longer LTL and socioemotional problems, either at age four or eight, nor in relation to changes in LTL between these two time points. Likewise, no significant associations were identified between longer LTL and ADHD symptoms in the overall sample of European children aged between six and twelve years. However, in the European HELIX study, a significant association was found between longer LTL and a lower risk of hyperactivity symptoms, although this association was not confirmed in the INMA cohort or in the pooled analysis.



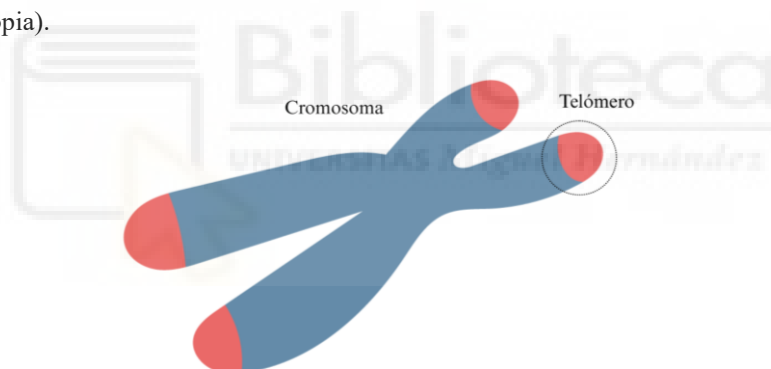
INTRODUCCIÓN

1. EL TELÓMERO COMO BIOMARCADOR DEL ENVEJECIMIENTO Y EL DESARROLLO CEREBRAL

1.1. Biología estructural y funcional de los telómeros

Los **telómeros** son estructuras de nucleoproteínas especializadas, formadas por múltiples kilobases (kb) de repeticiones TTAGGG (aproximadamente 4-15 kb), compuestas por una cadena líder rica en guanina y una cadena rezagada rica en citosina (1). La citosina y la guanina forman parte de las cuatro bases nitrogenadas de las que se compone el ácido desoxirribonucleico (ADN) junto a la adenina y la timina. La unión de estos nucleótidos permite la formación del código genético (2). Estos componentes no codificantes se ubican en el extremo de los cromosomas, protegiendo así la posible degradación de las secuencias codificantes de ADN y promoviendo la estabilidad genómica (3) (*Figura 1*).

Figura 1. Representación simplificada de un cromosoma y señalización de la región telomérica (Elaboración propia).



Durante el proceso de división celular, los telómeros se acortan progresivamente debido a una limitación inherente de la enzima ADN polimerasa, que impide la replicación completa de los extremos cromosómicos, conocida como el “problema de replicación final” (4). Este fenómeno se ve contrarrestado por la acción de la telomerasa, una transcriptasa inversa, que tiene la capacidad de alargar los telómeros mediante la adición de secuencias repetidas de ADN (5). Sin embargo, esta enzima no se encuentra activa en la mayoría de las células somáticas adultas. Su actividad se restringe a células germinales, embrionarias, algunas células madre adultas y ciertos tipos de células inmunitarias (6). En las células en las que se encuentra activa, el acortamiento telomérico puede compensarse, ya que utiliza el extremo 3'-OH del saliente G del ADN telomérico como punto de anclaje para sintetizar nuevas repeticiones (5,7), compensando así el acortamiento.

Además de la longitud telomérica, el correcto funcionamiento de los telómeros depende de un complejo proteico especializado llamado shelterina, compuesto por seis proteínas. Este complejo protege los extremos cromosómicos de ser reconocidos como roturas de ADN y evita respuestas celulares de reparación inadecuadas (8). La shelterina, además de actuar como “cobertura” de los telómeros, también regula su longitud y participa en el control de cascadas de señalización relacionadas con el daño al ADN (8,9).

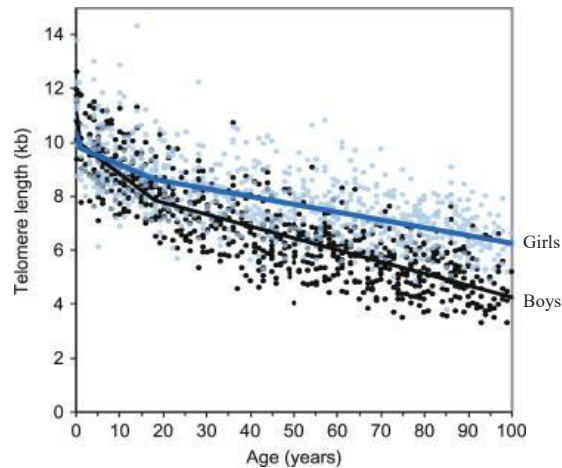
Cuando los telómeros disminuyen a una longitud críticamente corta, las células entran en un estado de senescencia celular, en el que pierden su capacidad de dividirse y renovarse. La acumulación de estas células senescentes contribuye directamente al envejecimiento de los tejidos y del organismo en general (10). Por ello, tanto el acortamiento de los telómeros como las alteraciones en el complejo shelterina pueden inducir senescencia celular, procesos ambos implicados en el envejecimiento celular y en la pérdida de la capacidad regenerativa de los tejidos (3,8,11).

Aunque el **acortamiento de la LT** ocurre a lo largo de la vida de un individuo, es importante señalar que la tasa de pérdida de su longitud no está determinada únicamente por la tasa de replicación mitótica (12). Individuos con edad cronológica similar pueden presentar una mayor o menor edad biológica según la LT (11). Este hecho se debe a que ciertas condiciones genéticas (como los polimorfismos de un solo nucleótido) y otros determinantes ambientales, conductuales y estilos de vida pueden influenciar el acortamiento de los telómeros (13,14). En este sentido, se reconocen diferentes factores que se asocian con un mayor acortamiento de la LT, como son, una mayor edad cronológica y el sexo masculino, la obesidad, el consumo de alcohol y/o tabaco, mantener una dieta poco saludable, el contacto con contaminantes ambientales, el estrés psicológico prolongado y un nivel socioeconómico bajo (13,15–17). Estos factores se asocian con un aumento del estrés oxidativo y la inflamación, mecanismos vinculados con un mayor acortamiento de la longitud telomérica (9,18). Por el contrario, se ha observado que individuos que realizan actividad física moderada, presentan menores comportamientos sedentarios o mantienen una mayor adherencia a la dieta mediterránea, muestran un enlentecimiento del acortamiento telomérico, probablemente debido a una menor exposición al estrés oxidativo y a la inflamación crónica (19–21). En conjunto, estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la adopción de hábitos de vida saludables se asocia con un envejecimiento celular más lento (22,23).

A pesar de que la LT disminuye con la edad de manera progresiva, siendo más evidente su acortamiento en el envejecimiento (24), investigaciones recientes han mostrado que este desgaste telomérico es más pronunciado durante los primeros 20 años de vida (*Figura 2*). A partir de la edad adulta, la pérdida de LT continúa, pero de forma más lineal y estable (25,26). Este patrón podría explicarse por el elevado número de divisiones celulares durante las etapas de embarazo e

infancia, considerados períodos especialmente críticos y vulnerables a la exposición a factores ambientales y de estilos de vida que influyen en la LT (27–30).

Figura 2. Gráfica del acortamiento de la longitud del telómero con el paso del tiempo, de los 0 a los 100 años (Gráfica extraída del artículo original de Aubert G, 2012).



Diversos estudios han mostrado que la disminución de la LT se asocia con un mayor riesgo de mortalidad por cualquier causa en la población general, así como con diversas enfermedades asociadas al envejecimiento (31,32). Las investigaciones observan una relación entre telómeros más cortos y la presencia de afecciones como enfermedades cardiovasculares (33), artritis y osteoporosis (34), diabetes mellitus (35), cáncer (36), enfermedad de Alzheimer y demencias (37), así como patologías psiquiátricas (38), entre otras condiciones clínicas (*Figura 3*).

Figura 3. Relación entre el acortamiento de la longitud del telómero y el riesgo de enfermedades relacionadas con la edad y la mortalidad general (Figura basada en las incluidas en los artículos Blackburn 2015 y Smith 2019)



1.2. Longitud del telómero y funcionamiento cerebral

En los últimos años, la investigación sobre LT ha cobrado gran importancia, especialmente por su potencial como *psicobiomarcador* en enfermedades neurológicas y psiquiátricas. Además de vincular el acortamiento de la LT con estas patologías, los estudios también han comenzado a explorar su relación con el funcionamiento cognitivo y emocional (39–41).

Se ha descrito que diversos factores relacionados con el acortamiento de la LT, como son los niveles elevados de cortisol, la disminución del número de mitocondrias, la activación inmunoinflamatoria y el estrés oxidativo, pueden afectar negativamente a la función neuronal (9,18,42).

En este contexto, un metaanálisis reciente recopiló 27 estudios publicados entre 2005 y 2020 que exploraban la relación entre la LT y la estructura y funcionamiento cerebral. La mayoría de los estudios incluidos fueron de tipo transversal y se realizaron con adultos mayores de 60 años de la población general sin demencia. En todos ellos la LT se midió a partir de muestras de sangre mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés, *quantitative polymerase chain reaction*), a excepción del estudio realizado por Zang y colegas (2018) que utilizó una muestra de saliva (43). Los resultados de este metaanálisis muestran que una LT más larga se asocia con un mayor volumen cerebral global ($\beta = 0,428$; IC95%= 0,357; 0,498; $p = 0,008$) y de la región del hipocampo. Además, una LT más larga también estuvo asociada con un mejor desempeño cognitivo global ($\beta = 0,009$; IC95%= 0,002; 0,016; $p = 0,029$), y de las funciones ejecutivas, atención y velocidad de procesamiento. Estos efectos beneficiosos estructurales y funcionales fueron más pronunciados en mujeres y personas más mayores. Una investigación posterior reafirma esta relación entre la LT y la estructura cerebral utilizando los datos de un estudio de cohorte poblacional prospectivo de participantes inscritos en el Biobanco del Reino Unido (44). Para la realización de este análisis el estudio contó con una muestra de 38740 individuos con una media de edad de 56,5 años que poseían la determinación de la LT e imágenes cerebrales. Los resultados obtenidos encuentran que una LT más corta estaba asociada con un volumen cerebral total más pequeño ($\beta = -0,012$; $p = 0,003$), volumen de materia blanca ($\beta = -0,022$; $p < 0,001$) y diversas estructuras subcorticales como el hipocampo ($\beta = -0,017$; $p < 0,001$), tálamo ($\beta = -0,023$; $p < 0,001$), accumbens ($\beta = -0,015$; $p = 0,001$), putamen ($\beta = -0,009$; $p = 0,033$) y pálido ($\beta = -0,011$; $p = 0,020$) (44).

Por otro lado, diversos metaanálisis realizados con adultos y adolescentes identificaron una asociación entre la LT y síntomas psicológicos internalizantes, incluyendo la depresión y la ansiedad (45,46). El metaanálisis de Malouff y colaboradores (2017) incluyó a 19424 participantes pertenecientes a muestras obtenidas de la comunidad y otros grupos específicos (soldados, veteranos de guerra, mujeres con fibromialgia y personas con virus de inmunodeficiencia

humana), halló una correlación negativa entre los niveles de ansiedad y la LT ($r = -0,06$; IC95% = $-0,08$; $0,03$; $p < 0,001$) (45). Del mismo modo, otro metaanálisis, que incluyó estudios observacionales prospectivos y retrospectivos con individuos con trastorno de depresión mayor y controles sin patología, encontró una asociación negativa entre la depresión y LT (d de Cohen = $-0,20$; IC95% = $-0,28$; $-0,122$; $p < 0,001$), así como entre la gravedad de la sintomatología de la depresión y una menor LT ($\beta = -1,00$; IC95% = $-1,90$; $0,10$; $p = 0,030$) (46).

No obstante, la direccionalidad de estas asociaciones aún no está claramente establecida. Existen diferentes hipótesis al respecto: mientras algunos estudios prospectivos sugieren que los trastornos cognitivos y psiquiátricos podrían acelerar el desgaste telomérico (41,47,48), otros trabajos apuntan a que una LT más corta podría constituir un factor predisponente para el desarrollo de alteraciones neurológicas y psicológicas (49,50).

1.3. Determinación de la longitud del telómero

La LT puede determinarse a partir de muestras de tejido humano mediante técnicas específicas de análisis molecular. Entre los tejidos mayormente utilizados para la extracción de la muestra se encuentra la sangre periférica, las células bucales y la saliva, la piel, células musculares, el cerebro (principalmente *post mortem*), espermatozoides, cordón umbilical y tejidos tumorales, según el objetivo del estudio. Sin embargo, la mayor parte de la investigación epidemiológica emplea las muestras en sangre periférica, debido a que constituye la forma más sencilla y menos invasiva de determinación de la LT en individuos vivos. A partir de esta muestra de sangre, se aíslan los leucocitos (principalmente linfocitos y monocitos), de los cuales se extrae el ADN genómico para la determinación de la LT. Por este motivo, este tipo de medida se conoce como LT de los leucocitos (LTL). Debido a que la LTL es la forma de determinación más empleada, un estudio comprobó que actuaba como un buen indicador de la LT en otras partes del cuerpo, ya que se correlacionó de forma positiva con las mediciones de LT específicas de diversos tejidos (cerebral, nervio tibial, arterial, estómago, muscular, aórtico, páncreas, entre otros) con correlaciones de Pearson que oscilaron entre $0,15$ y $0,37$ (51).

Una vez extraído el ADN genómico, existen diferentes tipos de metodologías para la determinación de la LT según el procedimiento de laboratorio empleado. Entre los métodos más utilizados para estimar la LT se encuentran el *Telomere Restriction Fragment*, la *Quantitative Polymerase Chain Reaction*, *Fluorescence in situ Hybridization* y el *Single Telomere Length Analysis* (52,53) (Tabla 1).

Southern blot (Telomere Restriction Fragment – TRF)

El método TRF, considerado como el "estándar de oro" para la medición de LT, consiste en la extracción del ADN genómico, que posteriormente se digiere mediante enzimas de restricción. Mediante electroforesis, los fragmentos de ADN se separan y luego se trasladan a una membrana para su análisis. Posteriormente, se usa una sonda para detectar las secuencias teloméricas mediante la cuantificación de la intensidad de las manchas de ADN. Para este proceso, se requieren grandes cantidades iniciales de ADN (aproximadamente 3 microgramos). Permite identificar la LT promedio de la muestra (en kb), sin embargo, no es capaz de detectar telómeros muy cortos. Este tipo de ensayo requiere de gran cantidad de tiempo y este hecho limita su uso generalizado en estudios poblacionales con tamaños de muestra grandes. Además, es importante tener en cuenta que el TRF es realmente susceptible al tipo de enzimas de restricción utilizados entre diferentes laboratorios, por lo que precisa de un protocolo muy específico (54).

Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)

Este tipo de metodología es relativamente sencilla y no requiere de una gran cantidad de ADN inicial para la determinación (aprox. 50 nanogramos). A la muestra de ADN genómico se le realiza una PCR cuantitativa para medir la cantidad relativa de ADN telomérico en comparación con un gen de referencia único. Al medir la señal del telómero (T) a una señal de gen de copia única de referencia (S), este método permite calcular las razones T/S. Esta cuantificación supone una LT relativa de la muestra. Este método es el más ampliamente utilizado en estudios de población grandes. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se trata de LT relativa y que existe variabilidad en la determinación intraensayo y entre muestras (los coeficientes de variación pueden ser superiores al 10,0%). Además, la qPCR no proporciona información sobre los telómeros más cortos (55).

Fluorescence in situ Hybridization (Q-FISH o Flow FISH)

La FISH cuantitativa o Q-FISH utiliza una sonda de repetición telomérica fluorescente mediante microscopio para determinar la intensidad de fluorescencia de los telómeros en cromosomas en metafase (en células cultivadas). En este caso, las señales más fuertes se relacionan con extremos de cromosomas con telómeros más largos y señales más débiles con telómeros más cortos. Esta técnica es de alta precisión y permite medir telómeros en cada cromosoma individual.

Los extremos de los cromosomas que no muestran señales de fluorescencia se informan como extremos libres de señal (no se informa su LT) cuando en realidad aún tienen repeticiones teloméricas pero que no son lo suficientemente largas como para ser detectadas. Su variante Flow FISH o FISH por citometría de flujo, permite medir la LT en células específicas, mediante citometría de flujo, midiendo la fluorescencia telomérica en cualquier tipo de cromosoma (56,57).

Single Telomere Length Analysis (STELA)

La técnica STELA o análisis de longitud de un solo telómero se diseñó para medir los telómeros en cromosomas individuales. Utiliza una qPCR para amplificar los telómeros en ciertos cromosomas específicos y usa análisis Southern blot para medir los telómeros más cortos. Es una metodología de alta sensibilidad y especificidad, muy indicada para casos de gran acortamiento o inestabilidad de los telómeros. A pesar de sus ventajas, es una técnica muy compleja de realizar, no está indicada en estudios epidemiológicos grandes y tiene una capacidad limitada para detectar telómeros largos (58).

Tabla 1. Características principales de los métodos de determinación de la longitud de los telómeros (Elaboración propia).

Metodología	Tipo de medida que cuantifica	Aplicabilidad en estudios epidemiológicos	Ventajas	Inconvenientes
Southern blot – TRF	Promedio (kb)	Media	Alta precisión	Necesidad de alto volumen de ADN inicial Ensayo intensivo y costoso (aprox. 100 - 275 euros por muestra) No detecta telómeros muy cortos
qPCR	Relativo (T/S)	Alta	Rápida, sencilla y económica (aprox. 18-45 euros por muestra) Necesidad de bajo volumen de ADN inicial	Variabilidad entre ensayos No detecta telómeros muy cortos Medida de LT relativa
Q-FISH o Flow FISH	Fluorescencia relativa	Media-Baja	Permite medir todos los cromosomas	Equipamiento costoso (aprox. 150 – 550 euros por muestra)
STELA	Absoluta (telómeros individuales)	Baja	Alta precisión en detectar telómeros más cortos	Ensayo intensivo No detecta telómeros muy largos

2. DESARROLLO NEUROPSICOLÓGICO EN LA INFANCIA

2.1. Definición de desarrollo neuropsicológico

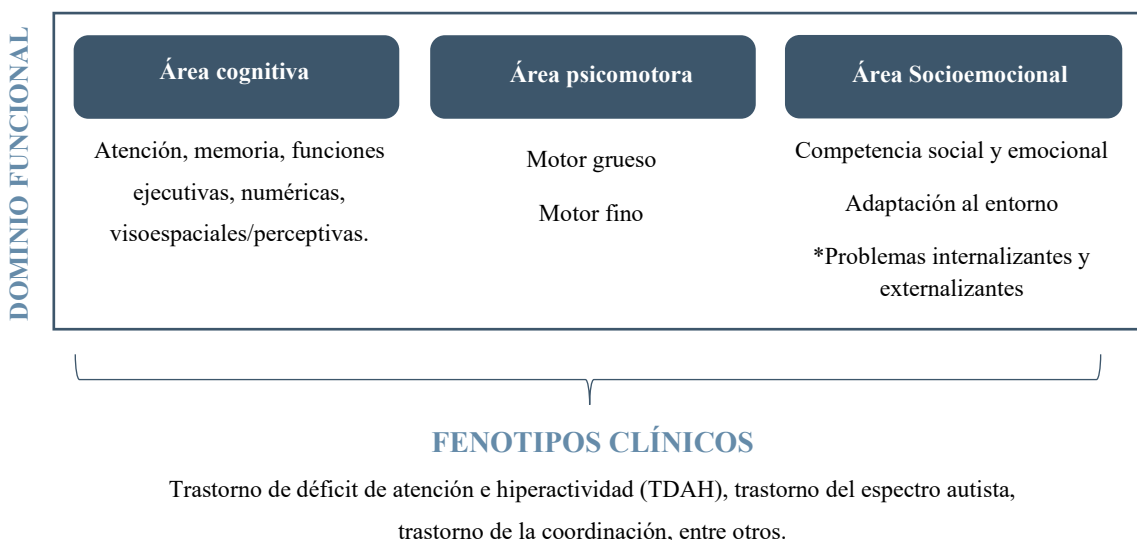
El desarrollo neuropsicológico constituye un proceso continuo, dinámico y de alta complejidad, mediante el cual el sistema nervioso central experimenta una progresiva maduración estructural y funcional (59). El proceso se inicia en la tercera semana de gestación con la diferenciación de las células progenitoras neuronales y se extiende hasta finales de la adolescencia o adultez temprana (60). Este desarrollo inicia con un período de intenso crecimiento neuronal y maduración sináptica, caracterizado por procesos como la sinaptogénesis, la migración celular y la mielinización. Este período finaliza con la maduración funcional de las regiones corticales

anteriores, específicamente de las áreas prefrontales, las cuales están implicadas en funciones ejecutivas superiores (60,61). Dentro de este continuo, durante los primeros años de vida, los individuos atraviesan una etapa vulnerable y crítica, dado que durante este período se configuran las bases neurobiológicas que sustentan el establecimiento de funciones perceptivas, motoras, cognitivas, lingüísticas y afectivas, esenciales para la adaptación y la interacción del/de la niño/a con su entorno físico y social (62).

La maduración del sistema nervioso central va a estar vinculada a factores ambientales (tanto intrauterinos como extrauterinos) que, en interacción con los factores genéticos, van a modular la plasticidad neural y condicionar el curso del desarrollo neuropsicológico (63–66). En consecuencia, el desarrollo neuropsicológico debe entenderse como un constructo amplio, que engloba múltiples procesos y dominios funcionales interrelacionados.

Con el objetivo de estructurar y operacionalizar este concepto, Forns y colaboradores (2012) propusieron un marco conceptual de desarrollo neuropsicológico basado en la literatura existente, incluyendo la información y terminología empleada en estudios de cohortes epidemiológicos y manuales de neuropsicología infantil (67). En el marco conceptual distingue dos niveles principales del desarrollo neuropsicológico: funcional y clínico (*Figura 4*).

Figura 4. Marco conceptual propuesto por Forns y Colegas sobre la definición del desarrollo neuropsicológico infantil (Figura basada en la incluida en el artículo original de Forns, 2012).



2.2. Dominios funcionales y fenotipos clínicos

El *nivel funcional* hace referencia al conjunto de capacidades, destrezas y habilidades que se desarrollan durante la maduración del cerebro y su interacción con el entorno. Estas capacidades van aumentando su complejidad con el paso del tiempo a través del desarrollo de redes neuronales en el córtex, que permiten al individuo adaptarse a las crecientes exigencias del entorno. Este nivel funcional está compuesto por tres áreas o funciones de desarrollo: cognitiva, psicomotora y socioemocional. El desarrollo de cada una de estas áreas se encuentra condicionado por las demás, por lo tanto, un desarrollo patológico de una de ellas puede tener un impacto en el resto de las áreas (67).

Dentro de cada dominio funcional, se desarrollan diferentes subdominios o funciones específicas concretas. De forma concreta, para el correcto desarrollo de la función cognitiva deben desarrollarse diferentes subdominios cognitivos específicos como la atención, las funciones ejecutivas, el lenguaje, la memoria, el aprendizaje y las habilidades visoespaciales. La función psicomotora se compone de habilidades desarrolladas para llevar a cabo actividades motoras gruesas (como caminar, correr o montar en bicicleta) y motoras finas (como escribir, coser o abotonarse una camisa). Por último, la función socioemocional está compuesta por la adquisición y desarrollo de habilidades de competencia social y emocional y la adaptación al entorno (67) *(Figura 4)*.

Aunque muchos niños/as no presentan un diagnóstico clínico específico, pueden manifestar dificultades en cualquiera de estos dominios funcionales del desarrollo neuropsicológico de manera aislada. Se ha descrito que aproximadamente entre el 5,0 al 10,0% de los/as niños/as presenta dificultades en un solo dominio, siendo el lenguaje el área más afectada, seguida por la motricidad fina y gruesa (68,69). Por otro lado, entre el 1,0 y el 3,0% de los/as niños/as en edad preescolar presentan dificultades en dos o más áreas neuropsicológicas, lo que se clasifica como retraso generalizado del desarrollo (70,71). Esta condición implica dificultades en áreas como el lenguaje, la cognición, la motricidad y la adaptación social que pueden afectar al rendimiento escolar, la integración social y el bienestar emocional del/de la niño/a (72,73).

En el caso de las alteraciones emocionales, conductuales y/ sociales en los/as niños/as, la literatura distingue dos tipos de sintomatología, síntomas internalizantes y externalizantes, dependiendo de su forma de expresión. Los problemas internalizantes hacen referencia a manifestaciones dirigidas hacia el interior que causan principalmente malestar al propio niño/a, como son la ansiedad, depresión, las quejas somáticas y el retraimiento (74). Por el contrario, los problemas externalizantes engloban síntomas dirigidos hacia el exterior que no sólo afectan al niño/a, sino que también crean malestar en el entorno en el que se desarrolla, incluyendo en este caso conductas agresivas y de oposición, falta de atención/hiperactividad y desregulación de las

emociones (74,75). Tanto los problemas internalizantes como externalizantes durante la infancia se han identificado como posibles predictores de resultados negativos en el comportamiento, la salud emocional, cognitiva y física en la adolescencia y la edad adulta. Además, estos problemas pueden alterar los procesos de aprendizaje y están relacionados con un bajo rendimiento académico (75). Recientes metaánálisis determinan una prevalencia del 13,0 al 20,0% de presentar un problema de salud mental en niños/as de todo el mundo, teniendo un aumento de casos en los últimos años (13,4% en 2015 vs 20,1% en 2020) (76,77).

Los *fenotipos clínicos* hacen referencia a diversos trastornos del neurodesarrollo, así como a la presencia de sintomatología asociada a estos en la población general, incluso cuando se presenta de forma subclínica. El término trastorno del neurodesarrollo comprende tanto aquellas patologías con una etiología genética identificada (como el síndrome X frágil), como aquellas condiciones relacionadas con etiologías multifactoriales, en las cuales se observan alteraciones específicas en determinados dominios funcionales del desarrollo neuropsicológico. Los trastornos del neurodesarrollo más comunes en la infancia incluyen el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), caracterizado por problemas de atención e hiperactividad; el trastorno del espectro autista, que afecta al 1,0–2,0% y se manifiesta en dificultades en la comunicación e interacción social y comportamientos repetitivos; y los trastornos del lenguaje, que afectan entre el 7,0 y el 10,0% de los/as niños/as. También son frecuentes los trastornos específicos del aprendizaje, presentes en un 5,0–15,0%, que afectan habilidades académicas como la lectura y las matemáticas, y el trastorno del desarrollo de la coordinación, con una prevalencia del 5,0–6,0%, que genera dificultades de planificación y ejecución motora. Por último, la discapacidad intelectual afecta aproximadamente al 1,0–3,0% de los/as niños/as y se caracteriza por limitaciones en el funcionamiento intelectual y adaptativo (67,78,79).

Entre todos ellos, el TDAH es actualmente uno de los fenotipos clínicos que más está siendo estudiado, ya que está considerado como el trastorno del neurodesarrollo más prevalente, afectando aproximadamente al 7,6% de los/as niños/as en todo el mundo (80). El TDAH se caracteriza por síntomas de falta de atención, impulsividad e hiperactividad que persisten en el tiempo y repercuten negativamente en el funcionamiento social, académico y ocupacional de los/as niños/as (81). Estos síntomas tienen un impacto directo en la calidad de vida tanto de los/as niños/as como de sus familias (82). Asimismo, se ha observado que los/as niños/as que presentan TDAH, tienen una mayor prevalencia de comorbilidades psiquiátricas en la edad adulta, como trastornos de ansiedad y de ánimo, comportamientos antisociales, abuso de sustancias, entre otros (83).

2.3. Evaluación del desarrollo neuropsicológico

Las tres áreas o dominios funcionales —cognitiva, psicomotora y socioemocional— pueden evaluarse de forma directa mediante la administración de pruebas o baterías de evaluación neuropsicológica o de forma indirecta a través de cuestionarios cumplimentados por los progenitores o profesores, que proporcionan información sobre diversas características del comportamiento infantil.

Existen pruebas de evaluación específicas para cada subdominio funcional (atención, memoria, funciones ejecutivas, motricidad fina, etc.), pero también encontramos **baterías de evaluación del desarrollo** que son más generales y recogen información sobre el desarrollo de varios dominios funcionales (*Tabla 2*). Entre las baterías de desarrollo más utilizadas en estudios epidemiológicos y en la práctica clínica se encuentran: *Bayley Scales Of Infant and Toddler Development*, *Merrill–Palmer- Revised Scales of Development*, *McCarthy Scales of Children's Abilities (MCSA) Neuropsychological Assessment*, *Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB)*, entre otras (84).

Escala Bayley de desarrollo infantil (Bayley Scales Of Infant and Toddler Development)

Esta escala ha sido diseñada para bebés y niños/as pequeños de 1 a 42 meses y evalúa funciones cognitivas, lenguaje, motoras, socioemocionales y de adaptación al entorno. El tiempo medio de administración de la prueba oscila entre los 30 a 90 minutos, dependiendo de la edad. Actualmente se comercializa su tercera versión (Bayley-III). La escala cognitiva evalúa aspectos de preferencia visual, memoria, atención, procesamiento sensoriomotor, explicación, manipulación y formación de conceptos. La escala motora mide las habilidades de motricidad fina y gruesa y por su parte, la escala de lenguaje recoge aspectos del lenguaje receptivo y expresivo. La versión comercializada en español permite incluir un software on-line de corrección de la prueba (85).

Merrill-Palmer

La escala revisada de *Merrill-Palmer* otorga puntuaciones para los mismos dominios funcionales que la escala Bayley, pero puede emplearse en niños/as de 0 a 6 años y medio. En cuanto al tiempo de administración, es similar a la anterior, oscilando entre los 30 y 60 minutos aproximadamente. Esta batería combina diferentes fuentes de información como son la ejecución directa de tareas por parte de los/as niños/as, como por ejemplo manipulando juguetes, láminas o haciendo imitación, con la información reportada por los progenitores o profesores (86).

McCarthy Scales of Children's Abilities

Las escalas *McCarthy de aptitudes y psicomotricidad para niños* evalúan los dominios cognitivo y psicomotor desde los 2 años y medio hasta los 8 años y medio en un tiempo de 45 a 60 minutos. Uno de sus principales objetivos es detectar posibles problemas de aprendizaje que puedan

interferir en el funcionamiento escolar de los/as niños/as. La batería de evaluación consta de 18 pruebas que se agrupan en 6 subescalas de áreas neuropsicológicas (área verbal, perceptivo-manipulativa, numérica-cuantitativa, memoria, índice cognitivo general y motora) (87).

Neuropsychological Assessment

La batería *Neuropsychological Assessment* o *NEPSY* valora de forma exhaustiva el funcionamiento neuropsicológico de niños/as y adolescentes de entre 3 a 17 años a través de 36 pruebas agrupadas en 6 subdominios cognitivos (atención, función ejecutiva, lenguaje, memoria y aprendizaje, percepción social, procesamiento visoespacial y sensoriomotor). Esta herramienta permite elegir el nivel de aplicación (general, diagnóstica o exhaustiva) según el objetivo que se persiga conseguir. Se puede realizar una evaluación general a través de la ejecución de unas pruebas concretas (45 a 60 minutos), utilizar las pruebas específicas según diagnóstico (tiempo variable) o incluir todas las pruebas disponibles para su edad (90 minutos a 3 horas) (88).

Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery

La *CANTAB* es una herramienta de evaluación desarrollada en la Universidad de Cambridge para evaluar diversas funciones cognitivas, como memoria, atención, planificación y control inhibitorio, mediante pruebas automatizadas y objetivas. Se utiliza ampliamente en investigación y clínica para estudiar poblaciones desde niños/as desde los 4 años hasta adultos mayores de 80 años o más. Entre sus aplicaciones más frecuentes destacan el diagnóstico y seguimiento de trastornos como el trastorno del espectro autista, TDAH y demencia, así como la evaluación cognitiva en estudios epidemiológicos (89).

Como se puede observar, todas las baterías anteriormente mencionadas incluyen la valoración de las áreas cognitiva y psicomotora. Adicionalmente, algunas de ellas incorporan la evaluación del **área socioemocional**, que suele recogerse mediante cuestionarios y/o entrevistas que se realizan a los progenitores y/o profesores. Debido a que esta área de desarrollo habitualmente es reportada por el entorno del/de la niño/a, es frecuente el uso de cuestionarios de evaluación específicos, como pueden ser la *California Preschool Social Competence Scale (CPSCS)*, el cuestionario *SDQ*, la *Child Behavior Checklist (CBCL)* o el *MacArthur Health and Behavior Questionnaire (HBQ)*.

California Preschool Social Competence Scale

La *CPSCS* evalúa la competencia social y emocional en relación con el comportamiento interpersonal y el grado de responsabilidad social de los/as niños/as de preescolar de los 2 a los 6 años. Se diseñó para su uso por profesores en el contexto escolar y consta de 30 preguntas con opción múltiple para calificar el comportamiento social. Se evalúan aspectos de consideración

(comportamientos amables y no hostiles), orientación a la tarea (atención), extraversión (implicación en el entorno y con los/as compañeros/as), facilidad verbal (habilidades de comunicación) y respuesta a lo desconocido (capacidad de adaptarse a nuevas situaciones sociales) (90).

Strengths and Difficulties Questionnaire

El *SDQ* es un cuestionario consta de cinco subescalas separadas, cada una de las cuales incluye 5 preguntas (25 preguntas en total) que recogen diferentes aspectos del comportamiento, como son los problemas emocionales y conductuales, síntomas de hiperactividad e inatención, problemas de relación con los compañeros y el comportamiento prosocial (91).

Child Behavior Checklist

El *CBCL* es un cuestionario reportado por los progenitores de niños/as de entre 6 y 18 años, compuesto por 113 ítems que miden la presencia de problemas emocionales y conductuales. Los ítems se refieren a problemas que podrían haber ocurrido en los seis meses anteriores y se valoran aspectos relacionados con síntomas depresivos, ansiosos y/o retraimiento, quejas somáticas, dificultades en las relaciones sociales, alteraciones en el pensamiento, problemas de atención, conductas de incumplimiento de normas, comportamientos agresivos, entre otros. También existe una versión para profesores de niños/as de 6 a 18 años, una de autorreporte de adolescentes de 11 a 18 años y una para padres de niños pequeños de 1 año y medio a 5 años (92). Tanto los cuestionarios *SDQ* como el *CBCL* combinan diferentes ítems para poder proporcionar información sobre la presencia de síntomas emocionales (internalizantes) y conductuales (externalizantes) en los/as niños/as.

MacArthur Health and Behavior Questionnaire

El *HBQ* original fue diseñado para recopilar datos reportados por los progenitores o profesores sobre niños/as de 4 y 8 años. El *HBQ* comprende múltiples escalas que miden los síntomas de salud mental de los/as niños/as (p. ej., síntomas internalizantes y externalizantes y sus subescalas), la salud física (p. ej., condiciones médicas crónicas, salud física global), el funcionamiento social (p. ej., aceptación y rechazo de pares, conductas prosociales) y el funcionamiento escolar (p. ej., competencia académica, participación escolar). El *HBQ* también incluye medidas de la utilización de la atención médica de los niños en los dominios mental, físico y escolar. También se encuentra disponible su versión para niños/as de adolescentes de 9 a 18 años para ser cumplimentada por los progenitores, profesores o por ellos mismos (93).

En cuanto a la evaluación del **fenotipo clínico TDAH**, actualmente se encuentra reconocido como trastorno del neurodesarrollo en el manual de diagnóstico de trastornos mentales *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5* (DSM-5) con criterios definidos para su diagnóstico o en la Clasificación Internacional de Enfermedades/CIE-11 (Organización Mundial de la Salud, 2019). Sin embargo, en estudios epidemiológicos realizados con niños/as de la población general, se emplean además de los criterios diagnósticos, cuestionarios de evaluación de síntomas relacionados con el trastorno (como son la inatención, hiperactividad y/o impulsividad). La mayor parte de estos cuestionarios son cumplimentados por los progenitores y/o profesores, y algunos de los más utilizados son la *CBCL* o el *Conners' Parent Rating Scale* (CPRS). La *CBCL* ha sido anteriormente mencionada para evaluar los problemas emocionales y sociales de los/as niños/as, sin embargo, en múltiples estudios de investigación se han combinado sus ítems para proporcionar índices de síntomas de TDAH (94,95).

Conners' Parent Rating Scale

El *CPRS* es un cuestionario diseñado para identificar casos probables de problemas conductuales y de salud mental en niños/as de 4 a 16 años. Existen diferentes versiones de la escala, incluyendo la versión abreviada, la versión revisada, y la versión para niños pequeños (Conners Early Childhood). Esta escala permite evaluar, desde la perspectiva de los progenitores, la presencia y gravedad de la sintomatología presente en el TDAH, tales como los problemas de atención, impulsividad e hiperactividad (96).

Tabla 2. Características de las baterías y cuestionarios más utilizados para evaluar el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).

Nombre de la evaluación	Autor/a original (Año)	Áreas de desarrollo evaluadas	Edad de aplicación	Tipo de evaluación	Editorial que comercializa su versión española
Bayley Scales Of Infant and Toddler Development	Bayle (2006)	Cognitiva, psicomotora y socioemocional	1 a 42 meses	Batería de pruebas y cuestionarios	Pearson
Merrill- Palmer- Revised Scales of Development	Roid y Sampers (2004)	Cognitiva, psicomotora y socioemocional	0 a 6 años y medio	Batería de pruebas y cuestionarios	TEA Ediciones
McCarthy Scales of Children's Abilities (MCSA)	McCarthy (1972)	Cognitiva y psicomotora	2 y medio hasta 8 y medio	Batería de pruebas	Pearson
NEPSY and NEPSY- II: A Developmental Neuropsychological Assessment	Korkman, Kirk y Kemp (1998 y 2007)	Cognitiva	3 a 16 años	Batería de pruebas	Pearson
Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery (CANTAB)	Robbins, Sahakian, y Owen (1990)	Cognitiva	4 a 80 años	Batería de pruebas	Cambridge Cognition
California Preschool Social Competence Scale (CPSCS)	Levin (1969)	Socioemocional	2 a 6 años	Cuestionario para profesores	Gratuito
Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ)	Goodman (1997)	Socioemocional	4 a 18 años	Cuestionario para progenitores o profesores	Gratuito
Child Behavior Checklist (CBCL)	Achenbach (2001)	Socioemocional Síntomas de TDAH	6 a 18 años	Cuestionario para progenitores o profesores	ASEBA (Achenbach System of Empirically Based Assessment)
MacArthur Health and Behavior Questionnaire (HBQ)	McArthur Foundation (2002)	Socioemocional Físico Escolar	4 a 8 años 9 a 18 años	Cuestionario para progenitores, profesores y autoadministrado (versión 9 a 18 años)	Gratuito (versión 4 a 8 años)
Conners' Parent Rating Scale (CPRS)	Conners (1997)	Síntomas de TDAH	4 a 16 años	Cuestionario para progenitores o profesores	Pearson

3. LONGITUD DEL TELÓMERO Y DESARROLLO NEUROPSICOLÓGICO

Hasta la fecha, la mayoría de la evidencia disponible se ha centrado en explorar el posible impacto de la LT en el envejecimiento cerebral y desarrollo de patologías neurológicas y psiquiátricas en población adulta y mayor, como se ha descrito anteriormente. No obstante, la LT también podría considerarse un indicador indirecto de la exposición a factores como el estrés oxidativo y la inflamación, y por tanto, comportarse como un biomarcador de neurotoxicidad también en etapas infantiles (18,97,98) (Figura 5). Sin embargo, la investigación en este ámbito en población pediátrica sigue siendo bastante limitada.

Figura 5. Posible relación entre estrés oxidativo y neuroinflamación, acortamiento de la longitud del telómero y su impacto en el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).



Hasta el momento, se han identificado 6 estudios que exploran el impacto de la LT en diferentes resultados neuropsicológicos funcionales en la infancia (99–104). De estos, 2 investigaciones examinan su relación con las áreas psicomotora-cognitiva (99,100). Mientras que las 4 restantes se centran en aspectos del desarrollo socioemocional infantil (101–104). Por otro lado, actualmente se encuentran publicados 3 artículos que relacionan la LT con la presencia de síntomas relacionados con el fenotipo clínico de TDAH (94,95,105). La mayoría de estas investigaciones analizan datos pertenecientes a estudios de cohorte de nacimiento que permiten realizar análisis transversales y, en algunos casos, examinar múltiples mediciones de las variables de interés a lo largo del seguimiento del desarrollo infantil.

3.1. Longitud del telómero y área psicomotora/cognitiva

En las investigaciones que abordan resultados vinculados al ámbito psicomotor y cognitivo, destaca el estudio realizado por Feiler y colegas (2018), cuyo objetivo fue explorar la asociación entre la LT y el desarrollo cognitivo y motor en los/as niños/as, incluyendo pruebas de lenguaje, memoria, resolución de problemas y habilidades motoras. Para ello, contaron con los datos del Seychelles Child Development Study, una cohorte de embarazadas compuesta por 300 mujeres

que se inició en el año 2001. La LT se midió al nacer a partir de una muestra sanguínea del cordón umbilical (n= 184) y, de sangre extraída a los 5 años (n= 209), y en ambos casos se empleó el protocolo qPCR para su determinación.

Los resultados cognitivos y motores se evaluaron mediante la Escala Bayley de Desarrollo Infantil-II a los 9 y 30 meses, y mediante las pruebas Preeschool Language Scale, Woodcock-Johnson Scholastic Achievement Test, Kaufman Brief Intelligence Test, el CBCL y finger tapping a los 5 años. Los análisis mostraron que la LT en sangre del cordón umbilical se asoció con puntuaciones más altas en el índice de desarrollo psicomotor a los 30 meses ($\beta = 4,01$; IC95% = 0,17; 7,85) y en la subprueba de lectura de letras y palabras de la prueba Woodcock Johnson a los 5 años ($\beta = 2,88$; IC95% = 1,21; 4,56). Sin embargo, no encontraron asociaciones significativas con el resto de los resultados a los 5 años. Además, las personas autoras señalan que los resultados interpretarse con cautela, ya que los análisis categóricos dosis-respuesta realizados posteriormente no mostraron asociaciones consistentes. Asimismo, al excluir los valores atípicos en las pruebas neuropsicológicas, la asociación observada con el índice de desarrollo motor dejó de ser significativa (99).

En esta misma línea, un estudio de la cohorte de nacimiento Belga *ENVIRONAGE* analizó la asociación entre la LTL y funciones neurocognitivas a los 4-6 años con una muestra de 283 niños/as. La LTL se determinó mediante qPCR a través de una muestra sanguínea y para evaluar el funcionamiento neurocognitivo (atención, memoria, funciones ejecutivas y psicomotor) se utilizó la batería CANTAB. Los resultados mostraron una asociación inversa entre la LTL y la subprueba de errores espaciales pertenecientes a la tarea de cribado motor ($\beta = -0,57$; IC95% = -1,04; -0,10; $p = 0,017$), lo que supone que los/as niños/as con LTL más larga presentaban una mayor precisión motora. Sin embargo, la LTL no se asoció con ningún otro resultado cognitivo evaluado (100).

3.2. Longitud del telómero y área socioemocional

El estudio de Kroenke y colaboradores (2012) incluyó a 78 niños/as de preescolar de la Bahía de San Francisco, seleccionados a partir de un estudio longitudinal *Peers and Wellness Study – PAWS*, centrado en el dominio social, las respuestas biológicas a la adversidad y la salud mental y física. La LT se determinó mediante una muestra de células bucales extraída de las mejillas, y posteriormente, se utilizó el protocolo qPCR para su determinación. La evaluación del área socioemocional (problemas internalizantes y externalizantes) se realizó mediante el cuestionario HBQ, que fue completado por los progenitores y profesores. Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que los síntomas internalizantes se asociaron inversamente (β estandarizado =

-0,33; $p= 0,004$) con la LT bucal, pero no con los síntomas externalizantes (β estandarizado = -0,11; $p= 0,380$) (101).

Con resultados similares, la investigación de Wade y colaboradores (2021) encontró que la LT más corta a los 8-10 años (infancia tardía) se asoció significativamente con mayores problemas internalizantes, pero no se relacionó con la psicopatología general o síntomas externalizantes. Por otro lado, la LT más corta a los 12-14 años (adolescencia temprana) se asoció con mayor psicopatología general, pero no con los síntomas internalizantes y externalizantes a esta edad. En este caso, los/as participantes ($n= 195$) provenían de un estudio con niños/as institucionalizados en Bucarest y utilizó los mismos procedimientos e instrumentos de evaluación para las variables principales que el estudio de Kroenke anteriormente mencionado (102).

En contraposición a los hallazgos encontrados en los dos estudios anteriores, otras investigaciones posteriores encontraron asociaciones entre la LT y los síntomas externalizantes en la infancia. En concreto, el estudio de Wojcicki y colaboradores (2015) analizó la asociación entre LT y el comportamiento infantil en una cohorte de 200 niños/as latinos de 3 a 5 años. La LT se estimó a través de qPCR utilizando ADN genómico de muestras de sangre seca, expresando los resultados como medida relativa de los telómeros (T/S) como pares de bases. El comportamiento infantil fue evaluado mediante el cuestionario CBCL. Los resultados de este estudio mostraron que los/as niños/as con conductas negativistas desafiantes a los 3, 4 o 5 años presentaron una TL significativamente más corta ($\beta = -359,25$; IC95% = -633,84; 84,66; $p = 0,010$) que aquello/as sin este patrón conductual (104). De forma consistente, una investigación posterior del consorcio europeo *Human Early Life Exposome – HELIX*, que incluyó a 1173 niños/as de 5 a 12 años de seis países (Reino Unido, Francia, España, Noruega, Lituania y Grecia), encontró que una menor LTL se asoció con peores conductas de externalización ($p = 0,030$), mientras que no observó asociación con los síntomas de internalización (103).

3.3. Longitud del telómero y trastorno por déficit de atención e hiperactividad

Respecto al fenotípico clínico del TDAH, se han publicado hasta la fecha 3 estudios que muestran resultados inconsistentes. Específicamente, Costa y colaboradores (2015) encontraron una correlación negativa entre los síntomas de hiperactividad e impulsividad y la LT en una muestra de 61 niños/as brasileños de 6 a 16 años con diagnóstico de TDAH. Los síntomas de TDAH fueron reportados por los progenitores mediante una entrevista semiestructurada utilizando la versión brasileña de la *Kiddie-Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia* (síntomas de hiperactividad/impulsividad y de inatención) y el diagnóstico de TDAH se estableció de acuerdo con los criterios DSM-IV. La LT se recogió mediante muestras de sangre periférica usando qPCR. Se observó que los niveles más altos de hiperactividad e impulsividad se asociaron con una LT

relativa más corta en niños/as con TDAH ($r = -0,340$; $p = 0,008$). Sin embargo, los síntomas de inatención no se relacionaron con la LT en este estudio ($r = 0,268$; $p > 0,050$) (105).

Asimismo, el Barwon Infant Study, un estudio australiano de cohorte prospectiva, mostró una asociación significativa entre telómeros más cortos a los 12 meses y un aumento de los síntomas de TDAH a los 2 años ($n = 477$). La LT se midió tanto en sangre del cordón umbilical al nacimiento como en sangre periférica venosa a los 12 meses. Los síntomas conductuales se evaluaron mediante el CBCL. Los resultados mostraron que la LT a los 12 meses ($n = 477$), pero no al nacer ($n = 518$), se asoció inversamente con problemas de atención ($\beta = -0,56$; IC95% = $-1,13$; $0,01$; $p = 0,050$) y TDAH ($\beta = -0,66$; IC95% = $-1,11$; $-0,21$; $p = 0,004$) (94).

En contraste, el estudio longitudinal realizado por Howell y colaboradores (2022) reportó resultados contrarios. Este estudio pretendía examinar la relación entre el consumo de tabaco materno prenatal, la LT infantil y el reporte materno de síntomas de TDAH en la primera infancia. En este estudio se evaluó a 133 niños/as con el objetivo de analizar el papel mediador del acortamiento telomérico en la relación entre el consumo de tabaco materno prenatal y los síntomas de TDAH a los 18 meses. Aunque no se encontró una relación directa entre el acortamiento de la LT (de los 4 a los 18 meses) y los síntomas de TDAH, los/as autores/as observaron que los/as niños/as cuyas madres reportaron tabaquismo durante el embarazo presentaban mayores puntuaciones en síntomas de TDAH y menor reducción en la LT durante el período estudiado ($\beta = -5,797$; IC95% = $-10,207$; $-1,386$; $p = 0,010$) (95). En línea con esta dirección inversa, otro estudio en adultos jóvenes con diagnóstico de TDAH encontró una relación entre los síntomas hiperactivos-impulsivos y telómeros más largos (106).

En conjunto, la revisión de la literatura existente revela una falta de consistencia en los hallazgos sobre la relación entre la LT y el desarrollo neuropsicológico infantil. Los escasos estudios realizados, encuentran una posible asociación entre la LT y el desarrollo motor (99,100) y socioemocional (101–104), pero no con el desarrollo cognitivo. Sin embargo, en el área socioemocional, algunos estudios vinculan la LT más corta con síntomas internalizantes (101,102), mientras que otros la asocian con síntomas externalizantes exclusivamente (103,104). De manera similar, la evidencia sobre la asociación entre la LT y los síntomas de TDAH presenta resultados inconsistentes: mientras que algunos estudios relacionaron el acortamiento de LT con mayor sintomatología de TDAH (94,105), otros estudios no encuentran una asociación directa, sino un efecto mediador o incluso en direcciones opuestas de asociación (95, 106).

Esta escasez e inconsistencia en la evidencia actual subraya la necesidad de realizar más estudios longitudinales y con muestras amplias y diversas, que permitan dilucidar el papel potencial de la LT como biomarcador en el desarrollo neuropsicológico infantil (*Tabla 3*).

Tabla 3. Características y resultados principales de los estudios que exploran la asociación entre la longitud de los telómeros y el desarrollo neuropsicológico (Elaboración propia).

Artículo	Participantes	Determinación de la LT	Evaluación neuropsicológica	Resultados principales
Feiler 2018	n = 184 al nacimiento y n = 209 a los 5 años. Seychelles	Muestra sanguínea del cordón umbilical y periférica venosa (5a) con qPCR	Dominio cognitivo y psicomotor 9 y 30 meses Bayley II 5 años: Preeschool Language Scale, Woodcock-Johnson Scholastic Achievement Test, Kaufman Brief Intelligence Test, Child Behavior Checklist y finger tapping.	La LT de la sangre del cordón umbilical se asoció con mejores puntuaciones en el índice de desarrollo psicomotor a los 30 meses de edad y con la subprueba de logro Woodcock Johnson de letras y palabras a los 5 años.
Croons 2024	n = 283 a los 4-6 años Bélgica	Muestra sanguínea con qPCR	Dominio cognitivo y psicomotor Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery	Asociación inversa entre la LTL y la subprueba de errores espaciales pertenecientes a la tarea de cribado motor.
Kroenke 2011	n = 78 de 5-6 años San Francisco	Muestra de células bucales con qPCR	Dominio socioemocional MacArthur Health and Behavior Questionnaire	Los síntomas internalizantes se asociaron inversamente con la LT bucal.
Wojcicki 2015	n = 200 de 4 y 5 años Latinos	Muestra sanguínea con qPCR	Dominio socioemocional Child Behavior Checklist	Los/as niños/as que presentaron conducta negativista desafiante a los 3, 4 o 5 años tuvieron una LT más corta
Wade 2020	n = 195 con seguimiento a los 8-10 y 12-14 años Bucarest	Muestra de células bucales con qPCR	Dominio socioemocional MacArthur Health and Behavior Questionnaire	LT más corta a los 8-10 años se asoció significativamente con mayores problemas internalizantes. Por otro lado, la LT más corta a los 12-14 años se asoció con mayor psicopatología general.
Robinson 2023	n = 1173 de 5 a 12 años Reino Unido, Francia, España, Noruega, Lituania y Grecia.	Muestra sanguínea con qPCR	Dominio socioemocional Child Behavior Checklist	Menor LT se asoció con peores conductas de externalización
Costa 2015	n = 61 de 6 a 16 años Brasil	Muestra sanguínea con qPCR	Síntomas de TDAH Kiddie-Schedule y criterios DSM-IV	Mayores síntomas de hiperactividad e impulsividad se asociaron con una LT más corta en niños/as con TDAH
Pham 2022	n = 518 al nacer y n = 477 a los 12 meses Australia	Muestra sanguínea del cordón y periférica venosa con qPCR	Síntomas de TDAH Child Behavior Checklist	La LT a los 12 meses se asoció inversamente con AP y TDAH a los 2 años.
Howell 2022	n = 133 de 4 y 18 meses	Muestra de células bucales con qPCR	Síntomas de TDAH Child Behavior Checklist	Los bebés cuyas de madres reportaron tabaquismo prenatal tenían puntuaciones más altas de TDAH a los 18 meses y una menor erosión de la LT de los 4 a los 18 meses

JUSTIFICACIÓN

El desarrollo neuropsicológico infantil comprende un conjunto de procesos interrelacionados que abarcan las áreas cognitiva, psicomotora y socioemocional, y que son fundamentales para el funcionamiento diario de los/as niños/as en su entorno familiar, escolar y social. Sin embargo, diversos factores biológicos, ambientales y psicosociales pueden interferir en este desarrollo, dando lugar a dificultades en estas áreas o a trastornos del neurodesarrollo.

Como se ha expuesto previamente, estudios recientes sugieren que la LT podría desempeñar un papel relevante en etapas tempranas de la vida, cuando el cerebro es particularmente vulnerable y se encuentra en pleno proceso de maduración. En este contexto, la LT se plantea como un posible biomarcador de exposición acumulada a factores como la neuroinflamación y el estrés oxidativo, que podrían influir en el neurodesarrollo. Sin embargo, la evidencia científica disponible sobre la relación entre la LT y el desarrollo neuropsicológico en población infantil es todavía bastante limitada y presenta resultados inconsistentes.

Por tanto, la presente tesis doctoral tiene como objetivo avanzar en el conocimiento en esta área de estudio emergente, superando las limitaciones de investigaciones previas mediante un diseño de mayor tamaño muestral, que permita analizar la asociación entre la LT, y un conjunto amplio de indicadores de desarrollo neuropsicológico, medidos en distintos momentos del desarrollo infantil.

En caso de confirmarse una asociación significativa entre la LT y el desarrollo neuropsicológico, los resultados podrían tener implicaciones relevantes para el diseño de estrategias de prevención y promoción de la salud infantil, tanto a nivel poblacional como en el ámbito clínico. Asimismo, esta línea de investigación contribuiría al desarrollo de una medicina más personalizada, incorporando la LT como posible biomarcador en la evaluación del desarrollo neuropsicológico, lo que permitiría una detección precoz de alteraciones y una intervención más eficaz en edades tempranas.

HIPÓTESIS

En base a lo expuesto anteriormente y considerando el potencial de la longitud de los telómeros como biomarcador del envejecimiento celular y de la exposición acumulada a factores adversos durante el desarrollo, se plantean las siguientes hipótesis específicas para esta tesis doctoral:

- **Hipótesis 1:** Una mayor longitud del telómero en leucocitos se asocia con un mejor rendimiento en las funciones cognitivas y psicomotoras en niños/as a los 4 años (*Publicación I*).
- **Hipótesis 2:** Una mayor longitud del telómero en leucocitos, medida a los 4 y 8 años, se asocia con una menor sintomatología de problemas socioemocionales en niños/as a los 8 años (*Publicación II*).
- **Hipótesis 3:** Una mayor longitud del telómero en leucocitos se asocia con una menor sintomatología de déficit de atención e hiperactividad en niños/as de 6 a 12 años (*Publicación III*).

Estas hipótesis se enmarcan en un enfoque multidimensional del desarrollo neuropsicológico infantil, y cada una de ellas se ha abordado mediante estudios observacionales con diseños prospectivos o transversales, según los objetivos específicos de cada publicación.

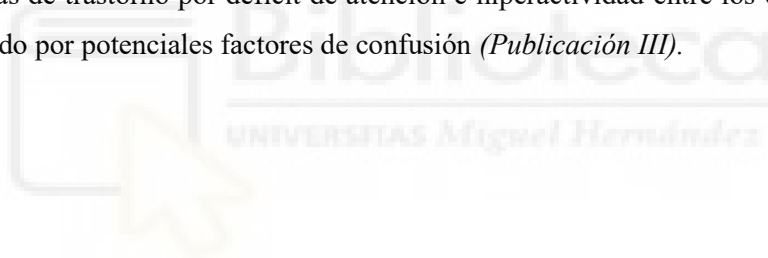
OBJETIVOS

Objetivo general

Explorar la asociación entre la longitud del telómero en leucocitos y el desarrollo neuropsicológico en la infancia.

Objetivos específicos

1. Analizar la asociación transversal entre la longitud del telómero en leucocitos y las funciones cognitiva y psicomotora a los 4 años, ajustando por potenciales factores de confusión (*Publicación I*).
2. Examinar la asociación entre la longitud del telómero en leucocitos a los 4 y 8 años y los problemas socioemocionales a los 8 años, así como el efecto de los cambios en dicha longitud entre los 4 a los 8 años, ajustando por potenciales factores de confusión (*Publicación II*).
3. Explorar la asociación transversal entre la longitud del telómero en leucocitos y los síntomas de trastorno por déficit de atención e hiperactividad entre los 6 y los 12 años, ajustando por potenciales factores de confusión (*Publicación III*).



METODOLOGÍA

1. DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para dar respuesta a los objetivos planteados en esta tesis doctoral, se utilizaron datos procedentes del proyecto Infancia y Medio Ambiente (INMA, <https://www.proyectoinma.org/>). Además, con el fin de aumentar el tamaño muestral al objetivo 3, se incorporaron también datos de varias cohortes de nacimiento incluidas en el proyecto Human Early-Life Exposome (HELIX, <https://athleteproject.eu/helix-cohort/>).

El **proyecto INMA** es un estudio prospectivo de cohortes de nacimiento multicéntrico español. Su población de estudio la constituyen mujeres embarazadas pertenecientes a siete zonas geográficas del país (Ribera d'Ebre, Menorca, Granada, Asturias, Guipúzcoa, Sabadell y Valencia), así como sus hijos/as (*Figura 6*). Este estudio se originó uniendo la experiencia y el trabajo realizado en tres cohortes independientes (Ribera d'Ebre, 1997-1999; Menorca, 1997 y Granada, 2000-2002). Derivado de este aprendizaje, se crearon cuatro cohortes nuevas (Asturias, Guipúzcoa, Sabadell y Valencia) con el objetivo de investigar el papel de los contaminantes ambientales más importantes en el aire, agua y en la dieta durante el embarazo e inicio de la vida, y sus efectos en el crecimiento y desarrollo infantil. Las participantes fueron incluidas en cada cohorte desde el año 2004 al 2008 (Valencia, 2004-2005; Sabadell, 2004-2007; Asturias, 2004-2007 y Guipúzcoa, 2006-2008).

Figura 6. Localización geográfica de las cohortes pertenecientes al proyecto INMA (Fuente: <https://www.proyectoinma.org/>).

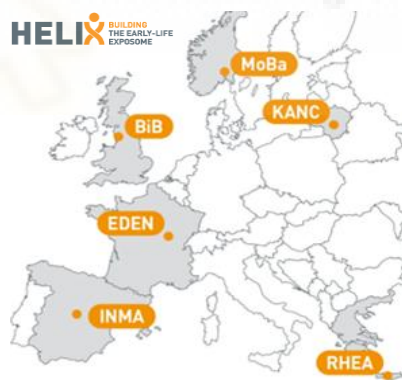


Las participantes de las cuatro cohortes nuevas fueron reclutadas durante la primera visita prenatal, que tuvo lugar entre las semanas 10 y 13 de embarazo, a través del centro de salud o hospital público de referencia de la región donde residían. Las madres podían ser incluidas en el estudio si cumplían los siguientes criterios: residir en una de las áreas de estudio, ser mayor de 16 años, estar cursando con un embarazo único, no estar recibiendo ningún tratamiento de

reproducción asistida, expresar su deseo de dar a luz en el hospital de referencia y no tener problemas de comunicación. Tras el reclutamiento, se llevaron a cabo visitas de seguimiento durante el embarazo (primer, segundo y tercer trimestre) y parto, a los 6 meses (solamente Sabadell y Asturias), a los 12-18 meses y a los 2, 4 y 8 años (107).

Por su parte, **el proyecto HELIX**, es un proyecto de colaboración entre estudios de cohorte de nacimiento longitudinales de seis países europeos: BiB (Born in Bradford, Reino Unido); EDEN (Etude des Déterminants pré et postnataux du développement et de la santé de l'Enfant, Francia); KANC (Kaunas cohort, Lituania); MoBa (The Norwegian Mother, Father, and Child Cohort study, Noruega); Rhea (The Mother-Child Cohorte de Creta, Grecia) y la cohorte INMA-Sabadell (Proyecto Infancia y Medio Ambiente, España) (*Figura 7*). Las participantes del proyecto HELIX se seleccionaron de sus cohortes de origen, lo cual garantizó una muestra representativa de aproximadamente 200 parejas madre-hijo de cada una de las seis cohortes incluidas. El proyecto HELIX cuenta con la información de 1663 parejas madres-hijos/as que se reclutaron durante el embarazo, y un total de 1301 niños/as con datos comunes sobre biomarcadores, exposiciones y cuestionarios sobre desarrollo y salud infantil entre los 6 y los 12 años (108).

Figura 7. Localización geográfica de las cohortes pertenecientes al proyecto HELIX (Fuente: <https://athleteproject.eu/helix-cohort/>).

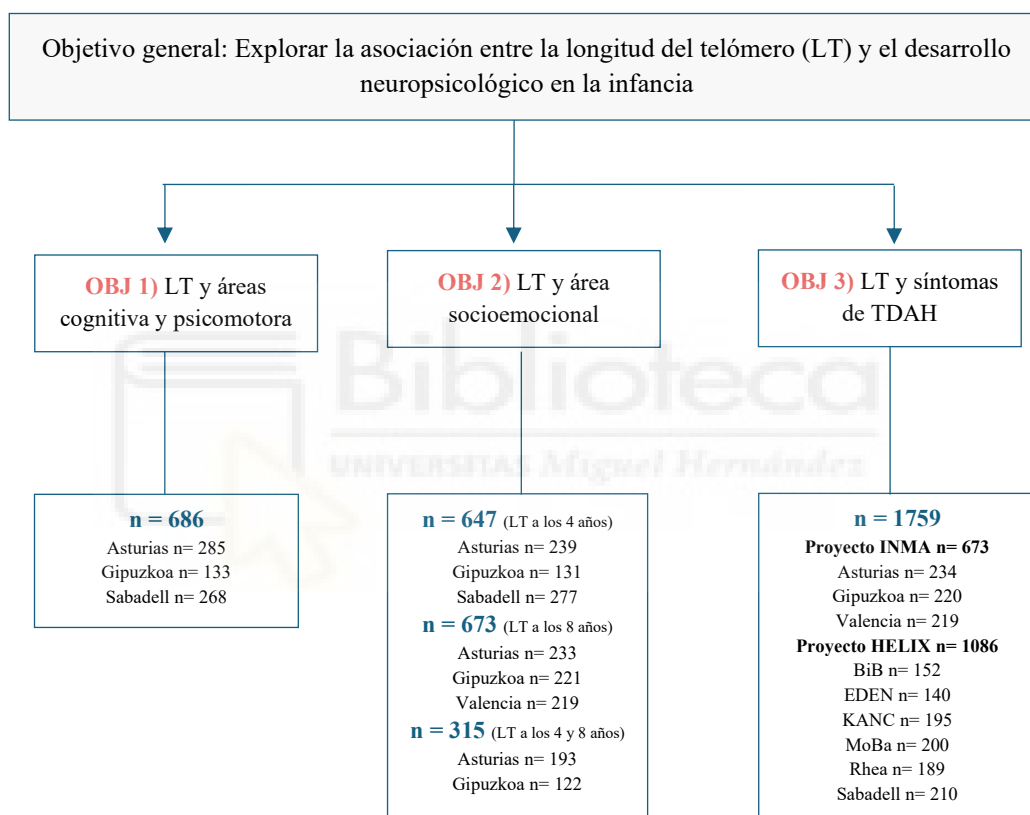


Para poder dar respuesta al primer objetivo de la tesis doctoral, se incluyeron datos de 686 niños/as con información completa sobre las variables principales de estudio (LTL y desarrollo cognitivo y psicomotor) y potenciales covariables de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Sabadell de la visita a los 4 años. Para el segundo objetivo, se incluyeron un total de 647 niños/as de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Sabadell, con datos sobre LTL a los 4 años y problemas socioemocionales a los 8 años. Asimismo, se incorporaron 673 niño/as de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Valencia, con datos sobre LTL y problemas socioemocionales a los 8 años. En

paralelo, también se incorporaron 315 individuos de las cohortes de Asturias y Guipúzcoa con ambas medidas de LTL a los 4 y 8 años.

En relación con el tercer objetivo, la muestra final incluida fue de 1759 niños/as con información sobre LTL, síntomas de TDAH y covariables entre los 6 y los 12 años, de los cuales 673 pertenecían a las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Valencia, y 1086 a las cohortes europeas del proyecto HELIX. (Figura 8).

Figura 8. Parejas madre-hijo/a incluidas para responder a cada uno de los objetivos propuestos (Elaboración propia).



2. ASPECTOS ÉTICOS

Los proyectos INMA y HELIX cuentan con la aprobación del Comité Ético de los hospitales referentes en cada una de las cohortes involucradas. Al inicio del estudio, las mujeres embarazadas recibieron la información del estudio y dieron su consentimiento para poder participar. Además, se les pidió que firmasen de nuevo el consentimiento para la realización de cada visita de seguimiento a sus hijos/as.

Esta tesis doctoral ha sido aprobada por el Comité de Ética e Integridad en la Investigación de la Universidad Miguel Hernández (código ADH.SPU.ENM.ICS.23). El proyecto “*Dieta y actividad física en el embarazo y al nacimiento y la longitud del telómero en la niñez y la adolescencia*” (PI18/00825), que permitió la determinación de la longitud telomérica en las cohortes del proyecto INMA, cuenta con la aprobación del Órgano Evaluador de Proyectos de esta misma universidad (código DSP.ENM.01.18), así como del Comité de Ética para la Investigación con Medicamentos del Departamento de Salud de Alicante (código PI2019/072).

Además, el proyecto que ha financiado esta investigación, titulado “*Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico entre los 4 y los 8 años: Proyecto TeloNeuro*” (GVA/2021/191), fue aprobado por el órgano de investigación responsable de la UMH (código DPC.ENM.01.20).

El tratamiento de los datos para la realización de la presente tesis doctoral se ha llevado a cabo siguiendo las normas reconocidas en la Declaración de Helsinki (52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia, octubre 2000), las Normas de Buena Práctica Clínica y cumplimiento de la normativa legal vigente española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 561/1993) y la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos.

3. VARIABLES DEL ESTUDIO

3.1. Longitud del telómero de los leucocitos

Determinación de la LTL a los 4 y 8 años en la muestra del Proyecto INMA

Los datos de LTL a los 4 años estuvieron disponibles para las regiones de Asturias, Gipuzkoa y Sabadell, mientras que los datos a los 8 años se encontraban disponibles para las zonas de Asturias, Gipuzkoa y Valencia. La LTL se estimó utilizando la fracción leucocitaria de muestras de sangre recolectadas durante las visitas de seguimiento.

La determinación de la LTL se llevó a cabo mediante un protocolo qPCR basado en fluorocromos (55). La extracción del ADN se realizó a partir de la capa leucocitaria ("buffy coat") utilizando el kit QIAamp DNA Mini (Qiagen) en Asturias, el kit Flexigen AGKT-WB-640 (Qiagen) en Gipuzkoa, y el kit Chemagen (Perkin Elmer) en Sabadell. Las mediciones se realizaron por triplicado en un sistema de PCR en tiempo real 7900HT (Applied Biosystems), en formato de 384 pocillos. En cada ciclo, se llevó a cabo una dilución en serie de 6 puntos de un ADN combinado ($n = 12$ muestras de ADN) para evaluar la eficiencia de la qPCR en las series de telómero (T) y de genes de copia única (S). La eficiencia fue del 107,0% para las series T (R^2 entre 0.994 y 0.999) y del 97,0% para las series S (R^2 entre 0.995 y 0.999). La LT se analizó utilizando el software qBase (Biogazelle, Zwijnarde, Bélgica) y se expresó como la proporción entre el número de copias de telómeros y el número de genes de copia única (T/S), en relación con el valor T/S

promedio del conjunto total de muestras. Para estas determinaciones se utilizó el gen de copia única que contenía 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 400 nM del cebador HBG1 (GCTTCTGACACAACTGTGTTCACTAGC) y 400 nM del cebador HBG2 (CACCAACTTCATCCACGTTACC) (109).

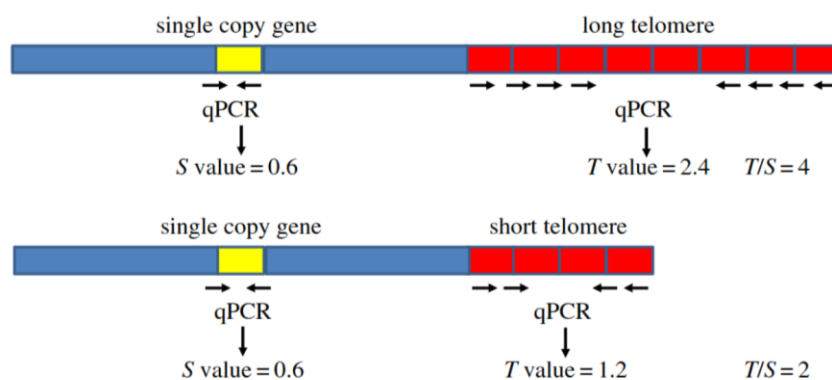
Para garantizar la fiabilidad y precisión del protocolo aplicado, se calcularon los coeficientes de correlación intraclase (ICC) para las mediciones triplicadas de los valores T (0.957; IC95% = 0.954; 0.96; P < 0.0001), valores S (0.968; IC95% = 0.965; 0.97; P < 0.0001) y de la razón T/S (0.925; IC95% = 0.918; 0.93; P < 0.0001), utilizando el código ICC en R proporcionado por la Telomere Research Network (110).

Determinación de la LTL para la muestra del proyecto HELIX

La LT se determinó a partir de una muestra de sangre recolectada en niños de entre 6 y 12 años. Para su análisis se utilizó un protocolo qPCR basada en fluorocromo y siguiendo el mismo protocolo. En este caso el gen de copia única utilizado fue amplificado con una mezcla de qPCR que contenía 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 300 nM del cebador 36B4u (CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC) y 500 nM del cebador 36B4d (CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA) (109).

Para los análisis de asociación del primer objetivo de la tesis doctoral se utilizaron las medidas directas obtenidas de la determinación de la LTL (expresadas en T/S) (Figura 9), y en el caso del segundo y tercer objetivo estas mediciones fueron transformadas en puntuaciones Z. Esta transformación consistió en convertir las mediciones de telómeros a una distribución con media igual a cero y una desviación estándar de uno, expresando los coeficientes de regresión en desviaciones estándar. Esta estrategia metodológica garantizó la comparación de las determinaciones realizadas entre diferentes estudios y momentos temporales (111).

Figura 9. Ejemplo de determinación de la longitud del telómero de los leucocitos mediante qPCR con medida de resultado expresada en T/S (Extraída del artículo original de Lai TP, 2018).



3.2. Desarrollo neuropsicológico

Las diferentes áreas del desarrollo neuropsicológico funcional (cognitiva, psicomotora y socioemocional) fueron evaluadas por profesionales especializados/as en psicología mediante la prueba *MSCA* en la visita a los 4 años y el cuestionario *SDQ* en la visita a los 8 años.

3.2.1. Área cognitiva y psicomotora

Durante la visita a los 4 años, se utilizó la batería de evaluación *MCSA*, en su versión estandarizada y adaptada a la población española (*Figura 10*), diseñada para evaluar el desarrollo cognitivo y psicomotor de los/as niños/as (87). En el caso de los/as niños/as de la cohorte de Guipúzcoa, se empleó la versión en euskera del instrumento para facilitar su administración en esta región concreta (*MSCA-E*) (112). Esta herramienta, distribuida en España por la editorial Pearson, incluye un maletín con materiales específicos para la administración de las pruebas y un manual detallado con las instrucciones de aplicación.

La evaluación tiene una duración aproximada de 45 a 60 minutos y consta de 17 pruebas independientes, agrupadas en 5 escalas: Verbal, Perceptivo-Manipulativa, Numérica, Memoria y Motora. Las 3 primeras escalas conforman el Índice Cognitivo General. A continuación, se describen brevemente las escalas:

- **Escala verbal:** mide la habilidad para procesar y comprender los estímulos verbales, así como para expresar los pensamientos de forma oral.
- **Escala perceptiva-manipulativa:** evalúa la coordinación visual-motora y el razonamiento no verbal mediante la manipulación de objetos concretos.
- **Escala numérica-cuantitativa:** evalúa la capacidad para la comprensión de los números en términos cuantitativos.
- **Índice cognitivo general:** se calcula teniendo en cuenta las puntuaciones de las tres escalas anteriores, y representa una medida global del razonamiento y la capacidad para formar conceptos, tanto verbales como manipulativos.
- **Escala de memoria:** evalúa la memoria inmediata mediante estímulos visuales y auditivos.
- **Escala motora:** evalúa la coordinación motora en tareas motoras tanto gruesas como finas.

Figura 10. Batería de evaluación McCarthy (Fotografía extraída de la editorial Pearson que la comercializa).



Además, en la presente tesis también se utilizaron las puntuaciones creadas por Julvez y colaboradores (113) para 11 funciones neuropsicológicas derivadas de los ítems originales de la MSCA. Estas nuevas subescalas permiten una aproximación más específica al funcionamiento neuropsicológico infantil y son las siguientes: 1) funciones ejecutivas, 2) funciones ejecutivas visuales, 3) funciones ejecutivas verbales, 4) retención visual y verbal, 5) memoria de trabajo, 6) memoria verbal, 7) función motora gruesa, 8) función motora fina, 9) funciones cognitivas del córtex cerebral posterior, 10) funciones verbales (córtex izquierdo) y 11) funciones visuales (córtex derecho) (*Tabla 4*).

Tabla 4. Subescalas incluidas en la prueba de evaluación McCarthy (Elaboración propia basada en los resultados originales de la batería de evaluación y los propuestos por Julvez y colaboradores).

Áreas (Escala Original)	Funciones (Julvez y colegas)
Verbal	Ejecutivas
Perceptiva-Manipulativa	Ejecutivas Visuales
Numérica-Cuantitativa	Ejecutivas Verbales
Índice Cognitivo General	Retención Visual y Verbal
Memoria	Memoria de Trabajo
Motora	Memoria Verbal
	Motora Gruesa
	Motora Fina
	Cognitivas del córtex cerebral posterior
	Verbales del córtex cerebral posterior izquierdo
	Visuales del córtex cerebral posterior derecho

Para garantizar la fiabilidad de las pruebas, se estimó la fiabilidad entre los evaluadores aplicando la correlación intraclase. Las escalas globales del MSCA, que incluyen funciones cognitivas generales, verbales, perceptivo-manipulativas, cuantitativas, de memoria y motoras, obtuvieron coeficientes de 0,97, 0,98, 0,78, 0,98, 0,96 y 0,92, respectivamente.

Asimismo, se evaluó la consistencia interna de las escalas globales mediante el coeficiente alfa de Cronbach, obteniéndose valores de 0,90 (cognitivas generales), 0,79 (verbales), 0,81 (perceptivo-manipulativas), 0,77 (cuantitativas), 0,74 (memoria) y 0,64 (motoras). En general, las nuevas subescalas derivadas de la MSCA mostraron una consistencia interna moderadamente buena ($\alpha \geq 0,70$) (114). Con el fin de homogeneizar las puntuaciones de la prueba, se estandarizaron los resultados crudos del MSCA a una media de 100 puntos y una desviación estándar de 15. En todas las escalas y subescalas, una mayor puntuación indica un mejor rendimiento neuropsicológico en la función correspondiente.

3.2.2. *Área socioemocional*

En la visita a los 8 años se recogió información relativa al desarrollo socioemocional de los niños/as mediante el cuestionario SDQ, disponible de forma gratuita en español (<http://www.sdqinfo.com>). Este cuestionario estandarizado, diseñado para niños/as de 4 a 16 años, fue cumplimentado por los progenitores y se compone de 25 ítems valorados en una escala Likert de tres puntos: 0 = no es cierto; 1 = algo cierto y 2 = muy cierto. No obstante, cinco ítems (7, 11, 14, 21 y 25) se puntúan de forma inversa, de modo que 2 = no es cierto, 1 = un tanto cierto y 0 = absolutamente cierto.

El SDQ permite obtener puntuaciones en cinco subescalas: problemas emocionales, dificultades de relación con los/as compañeros/as, problemas conductuales, síntomas de hiperactividad y comportamiento prosocial. A partir de estas subescalas se calcularon tres puntuaciones compuestas: la puntuación de problemas internalizantes, obtenida sumando las subescalas de síntomas emocionales y problemas con los compañeros (rango: 0-20); la puntuación de problemas externalizantes, derivada de la suma de las subescalas de problemas de conducta e hiperactividad/inatención (rango: 0-20); y la puntuación total de dificultades psicoemocionales, que se obtuvo sumando todas las subescalas excepto la de conducta prosocial (rango: 0-40) (*Tabla 5*). En todos los casos, puntuaciones más elevadas indican una mayor presencia de problemas emocionales y conductuales. Además, el cuestionario ha mostrado adecuadas propiedades psicométricas en la población española (115).

Tabla 5. Ítems incluidos en cada subescala evaluada en el cuestionario Strengths and Difficulties Questionnaire (Elaboración propia basada en el cuestionario disponible en <http://www.sdqinfo.com>).

Subescala	Ítems (formulación original)	N.º de Ítem
Síntomas emocionales	Se queja con frecuencia de dolor de cabeza, de estómago o de náuseas	3
	Tiene muchas preocupaciones, a menudo parece inquieto/a o preocupado/a	8
	Se siente a menudo infeliz, desanimado o lloroso	13
	Es nervioso/a o dependiente ante nuevas situaciones, fácilmente pierde la confianza en sí mismo/a	16
	Tiene muchos miedos, se asusta fácilmente	24
Problemas de conducta	Frecuentemente tiene rabietas o mal genio	5
	Por lo general es obediente, suele hacer lo que le piden los adultos (<i>inverso</i>)	7
	Pelea con frecuencia con otros niños/as o se mete con ellos/ellas	12
	A menudo miente o engaña	18
	Roba cosas en casa, en la escuela o en otros sitios	22
Hiperactividad/inatención	Es inquieto/a, hiperactivo/a, no puede permanecer quieto/a por mucho tiempo	2
	Está continuamente moviéndose y es revoltoso	10
	Se distrae con facilidad, su concentración tiende a dispersarse	15
	Piensa las cosas antes de hacerlas (<i>inverso</i>)	21
	Termina lo que empieza, tiene buena concentración (<i>inverso</i>)	25
Problemas con compañeros	Es más bien solitario/a y tiende a jugar solo/a	6
	Tiene por lo menos un/a buen/a amigo/a (<i>inverso</i>)	11
	Por lo general cae bien a los otros niños/as (<i>inverso</i>)	14
	Los otros niños se meten con él/ella o se burlan de él/ella	19
	Se lleva mejor con adultos que con otros niños/as	23
Conducta prosocial	Tiene en cuenta los sentimientos de otras personas	1
	Comparte frecuentemente con otros niños/as chucherías, juguetes, lápices, etc	4
	Ofrece ayuda cuando alguien resulta herido, disgustado, o enfermo	9
	Trata bien a los niños/as más pequeños/as	17
	A menudo se ofrece para ayudar (a padres, maestros, otros niños)	20

3.2.3. TDAH

Los síntomas del TDAH fueron evaluados en distintos momentos del desarrollo infantil, dependiendo de la cohorte, en un rango de edad comprendido entre los 6 y los 12 años. La mayoría de los niños/as presentaban una edad media de entre 7 y 9 años, aunque en las cohortes de KANC y RHEA la edad media era de 6 años, mientras que en la cohorte EDEN alcanzaba los 11 años.

Para valorar la sintomatología de TDAH, los progenitores cumplimentaron la versión adaptada de la Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (CPRS-R:S, Conners, 1997) (96), un cuestionario estandarizado diseñado para evaluar síntomas conductuales en población infantil y adolescente de 4 a 16 años. Este instrumento consta de 27 síntomas ítems que deben ser valorados por los progenitores en función de la frecuencia con la que han observado cada comportamiento durante el último mes, utilizando una escala Likert de 4 puntos (0=nunca o rara vez, 1=algunas

veces, 2=frecuentemente, y 3=muy a menudo). El CPRS-R:S proporciona puntuaciones para tres subescalas específicas: Conductas de oposición, Problemas cognitivos/Inatención e Hiperactividad. Cada de estas escalas está compuesta por seis ítems y con un rango de puntuación de 0 a 18, siendo las puntuaciones más altas indicativas de mayor gravedad sintomática. Además, se calcula un índice global de síntomas TDAH, que agrupa 12 ítems pertenecientes a las subescalas de inatención e hiperactividad, con un rango de 0 a 36, ofreciendo una estimación de la severidad general del cuadro (Tabla 6). La versión española del cuestionario ha demostrado validez para la detección de síntomas de TDAH en población infantil no clínica (116).

Tabla 6. Ejemplos de los ítems que se incluyen en las diferentes subescalas de la Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (Elaboración propia basado en el cuestionario adaptado de Keith Conners).

Conductas de Oposición	Desafía a los adultos, discute o se niega a obedecer. Tiene accesos de rabia o se enfada fácilmente.
Problemas cognitivos/Inatención	Tiene dificultades para concentrarse o prestar atención. No termina lo que empieza, fácilmente se distrae.
Hiperactividad	No puede estar quieto, se mueve constantemente. Habla en exceso o interrumpe con frecuencia.

3.3. Covariables

Los posibles factores de confusión considerados en esta tesis doctoral fueron seleccionados a partir de la literatura científica disponible y comprenden un amplio rango de características sociodemográficas, exposiciones ambientales y variables de estilo de vida materna e infantil que podrían influir tanto en la LTL como en el desarrollo neuropsicológico infantil (64,117–119), tal como se detalla en la *tabla 7*.

Los modelos de regresión que se llevaron a cabo para responder al primer objetivo de la tesis (LTL y áreas cognitiva y psicomotora) se ajustaron por variables medidas durante el embarazo, como el nivel educativo materno (categorizado como primario, secundario o universitario), paridad (0 o ≥ 1 partos), y las concentraciones ambientales de dióxido de nitrógeno (NO²) (expresadas en $\mu\text{g}/\text{m}^3$). También se incluyeron variables recogidas en el momento de seguimiento a los 4 años, como la edad del niño en el momento de la evaluación neuropsicológica (en años), la puntuación relativa dieta mediterránea continua, la ingesta energética diaria (en kilocalorías) y la fecha de extracción de la muestra de sangre para la determinación de los telómeros (DD/MM/AA) categorizada en las estaciones del año (primavera, verano, otoño o invierno). Además, se tuvo en cuenta la zona geográfica de estudio (cohortes de Asturias, Guipúzcoa o Sabadell).

Para el segundo objetivo (LTL y área socioemocional), se incluyó la información adicional sobre el nivel educativo de la madre, la edad (en años), el hábito de fumar durante el embarazo (sí o no) y IMC (kg/m²) previo a la concepción. En lo que respecta a las variables relacionadas con los hijos/as, se consideraron el sexo (masculino o femenino), la edad (años) y el IMC (kg/m²), que se recogieron durante las visitas de seguimiento a los 4 y 8 años.

Finalmente, en los modelos de asociación para la LTL y los síntomas de TDAH (tercer objetivo), se tuvo en cuenta covariables maternas como la cohorte de origen, la edad (años), el nivel educativo (bajo, medio o alto), el IMC (kg/m²) y el tabaquismo activo durante el embarazo (sí o no) de las madres. Sobre los/as niños/as, se incluyeron datos sobre su edad en el momento del examen clínico (años), la fecha de la extracción de la muestra de sangre categorizada por estación del año, el sexo (masculino o mujer) e IMC (kg/m²) en la visita de seguimiento correspondiente en cada cohorte.

Tabla 7. Covariables incluidas en los diferentes objetivos del estudio (Elaboración propia).

		OBJETIVO 1	OBJETIVO 2	OBJETIVO 3
MADRES	Nivel educativo	X	X	X
	Número de partos	X		
	Edad		X	X
	Dióxido de nitrógeno en el embarazo	X		
	Tabaco en el embarazo		X	X
	Índice de masa corporal preconcepcional		X	X
NIÑOS/AS	Edad	X	X	X
	Sexo	X	X	X
	Dieta mediterránea	X		
	Ingesta energética diaria	X		
	Fecha extracción de sangre	X		X
	Índice de masa corporal		X	X

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa R (<https://www.r-project.org/>). Se estableció un nivel de significancia estadística de 0,05 y se comprobó la distribución de la normalidad de las variables continuas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors.

Para cada uno de los estudios realizados en esta tesis doctoral se realizaron análisis descriptivos univariantes y bivariantes para resumir las características de las madres y los/as niños/as de las cohortes participantes. Las variables categóricas se presentaron como frecuencias y porcentajes

(%) y las variables continuas, se presentaron como mediana y rango intercuartílico (RI), ya que no seguían una distribución normal. En el caso de las descripciones bivariantes, se emplearon test de comparación de grupos dependiendo del tipo de variable, usando pruebas como la Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas y las pruebas U de Mann-Whitney o de Kruskal-Wallis para las variables continuas.

Para estimar las asociaciones entre la LTL y los diferentes resultados de desarrollo neuropsicológico infantil se combinaron los datos pertenecientes a cada cohorte utilizando técnicas metaanalíticas de análisis de datos. La heterogeneidad entre las cohortes se cuantificó mediante el estadístico I^2 y se aplicaron modelos de efectos fijos cuando no existió heterogeneidad notable ($I^2 < 50,0\%$) o modelos de efectos aleatorios cuando se detectó heterogeneidad ($I^2 > 50,0\%$). Para determinar las covariables a incluir en los modelos, se consideraron aquellas que presentaron una significación estadística ($p < 0,2$) en los análisis bivariantes y que, además, alteraron la estimación del efecto principal en un 10,0% o más al ser introducidas o retiradas del modelo.

Para explorar la asociación entre la LTL y el desarrollo neuropsicológico se utilizaron modelos de regresión múltiple, controlando el efecto potencial de los factores de confusión. En concreto, para dar respuesta al primer objetivo (asociación entre la LTL y las funciones cognitivas y psicomotoras) se utilizaron modelos de regresión lineal múltiple ajustados por potenciales confusores, ya que en este caso las puntuaciones derivadas de la prueba MSCA fueron cuantitativas continuas. Posteriormente, para confirmar la robustez de los hallazgos se llevaron diferentes análisis de sensibilidad, incluyendo variables adicionales como un indicador indirecto del coeficiente intelectual de la madre (medido mediante la prueba de similitudes de la Escala de Inteligencia para Adultos III de Wechsler) y diferentes estilos de vida de los/as niños/as, como el consumo de pescado azul (en gramos), visionado de televisión y la duración del sueño (ambas en horas a la semana). Asimismo, el modelo se ejecutó excluyendo a los niños con puntuaciones bajas en la prueba MCSA ($n = 35$). Además, los modelos se estratificaron por sexo (niños o niñas) y por el nivel de inflamación (por debajo o por encima de la mediana), determinado por la proteína c reactiva (en cuantiles), la circunferencia abdominal (en centímetros) y el IMC de los niños a los 4 años (en kg/m^2).

Para responder al segundo objetivo, en este caso, explorar la asociación entre la LTL y los problemas socioemocionales en diferentes puntos temporales (a los 4 y 8 años), se utilizaron modelos de regresión binomial negativa inflada por cero (*zero-inflated negative binomial*, ZINB) o modelos de regresión binomial negativa (*negative binomial*, NB), dependiendo de la distribución de la variable de resultado. La puntuación de los problemas internalizantes (medida con el cuestionario SDQ), al tratarse de una variable de recuento con un exceso de ceros, se

analizó mediante un modelo ZINB para estimar las *odds ratio* (OR) ajustadas y el *incidence rate ratio* (IRR) o tasa de incidencia. Para la puntuación de problemas externalizantes y la puntuación total de problemas, al no haber excesos de cero, se emplearon modelos NB para calcular las IRR. No se realizaron análisis de sensibilidad puesto que no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas.

Finalmente, para estudiar la asociación entre la LTL y los síntomas de TDAH (tercer objetivo), se utilizaron modelos de regresión NB múltiple que proporcionaron IRR como medida de efecto. Se llevaron a cabo análisis incluyendo a todas las cohortes participantes y, adicionalmente, análisis separados para las cohortes de HELIX y las de INMA (Asturias, Guipúzcoa y Valencia). Se presentaron dos modelos de análisis: 1) un modelo básico ajustado por la edad de los/as niños/as y el sexo; y 2) un modelo completo que, además de las variables anteriores, incluyó la edad, el nivel educativo, el tabaquismo activo durante la gestación, el IMC materno preconcepcional, y el IMC de los/as niños/as.



RESULTADOS

1. PUBLICACIÓN I.

Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz EM, Hurtado-Pomares M, Júlvez J, Lertxundi N, Martens DS, Fernández-Somoano A, Riaño-Galán I, Guxens M, Ibarluzea JM, Nawrot T, Valera-Gran D. **Association between telomere length and neuropsychological function at 4-5 years in children from the INMA project: a cross-sectional study.** Eur Child Adolesc Psychiatry. 2024;33(8):2803-2812. doi: 10.1007/s00787-023-02361-y.

1.1. Resumen

La investigación hasta la fecha ha encontrado que una LT más corta se asocia con diversas patologías neurológicas en adultos, así como con un menor rendimiento cognitivo y ciertos trastornos del neurodesarrollo en población pediátrica. Sin embargo, la evidencia sobre la asociación entre la LT y el desarrollo neuropsicológico en niños/as de la población general es todavía muy escasa. Por tanto, el objetivo fue explorar la asociación entre la LTL y la función neuropsicológica (cognitiva y motora) en niños/as de 4-5 años.

Se analizaron datos de 686 niños/as pertenecientes a las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Sabadell del Proyecto INMA, un estudio de cohortes de nacimiento español. La LTL se determinó mediante el método PCR cuantitativo, y los resultados neuropsicológicos se midieron utilizando la escala MCSA. Para estimar las asociaciones se utilizaron modelos de regresión lineal múltiple ajustadas por posibles variables de confusión.

Los principales hallazgos mostraron que una LTL más larga se asoció con una puntuación media más alta en memoria de trabajo ($\beta = 4,55$; IC95% = 0,39; 8,71). Además, una LTL más larga se asoció con una puntuación cuantitativa global media más alta ($\beta = 3,85$; IC95% = -0,19; 7,89), aunque la asociación fue marginalmente significativa.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que muestra una asociación positiva entre la LTL y mejores resultados neuropsicológicos cognitivos en niños/as de la población general. Aunque se requieren más investigaciones para confirmar estos resultados, los hallazgos de este estudio respaldan la hipótesis de que la LT podría desempeñar un papel protector en la salud neurocognitiva infantil, particularmente en funciones cognitivas como la memoria de trabajo.

1.2. Resultados

Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y sus hijos/as

La *Tabla 8* muestra las características sociodemográficas, factores de exposición ambiental y estilos de vida de las madres y niños/as incluidos en el estudio. De las 686 madres, el 41,5% pertenecían a la región de Asturias, el 39,1% y el 19,4% residían en Sabadell y Guipúzcoa, respectivamente. En general, se observó que las madres de la región de Guipúzcoa tenían un nivel educativo superior al de las mujeres de las otras cohortes del estudio. Además, tenían de media una menor exposición al contaminante ambiental NO² durante el embarazo (mediana = 15,1 µg/m³; RI = 13,9 – 16,9) en comparación con las madres de Asturias (mediana = 27,6; RI = 16,8 – 37,6) y Sabadell (mediana = 39,0; RI = 30,3 – 44,0), que tuvieron una mayor exposición.

En lo que respecta a los/as niños/as, aquellos/as pertenecientes a la cohorte de Guipúzcoa presentaban una menor ingesta energética diaria (mediana = 1464,5 kcal/día; RI = 1277,6 – 1695,5) y una LTL media más larga (mediana = 1,2; RI = 1,0 – 1,4) que los/as de Asturias y Sabadell. Por otro lado, la puntuación relativa de la dieta mediterránea fue mayor en los/as niños/as de Asturias (mediana = 9,0; RI = 8,0 – 11,0) frente a los/las de Guipúzcoa y Sabadell (mediana = 8,0; RI = 6,0 – 10,0).

También se observaron diferencias en la distribución estacional de la determinación de la longitud telomérica según la fecha de extracción de las muestras sanguíneas. En Guipúzcoa, la extracción de sangre se realizó principalmente en verano (62,4%); en Asturias, se realizó aproximadamente en la misma proporción en primavera, otoño e invierno y, en menor medida, en verano; y en Sabadell, la recogida se repartió de forma relativamente uniforme entre las cuatro estaciones del año.

Tabla 8. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y los/as niños/as del proyecto INMA a los 4-5 años (n= 686).

	Todas las cohortes (n=686)	Asturias (n=285)	Guipúzcoa (n=133)	Sabadell (n=268)	P ^a
Características de las madres					
Nivel educativo, n (%)					
Primarios o inferiores	134 (19,5)	46 (16,1)	21 (15,8)	67 (25,0)	0,001
Secundarios	285 (41,6)	128 (44,9)	44 (33,1)	113 (42,2)	
Universitarios	267 (38,9)	111 (39,0)	68 (51,1)	88 (32,8)	
Paridad ≥ 1, n (%)	293 (42,7)	110 (38,6)	64 (48,1)	119 (44,4)	0,144
NO ₂ (µg/m ³) durante el embarazo, mediana, RI	28,7 (16,7-40,5)	27,6 (16,8-37,6)	15,1 (13,9-16,9)	39,0 (30,3-44,0)	<0,001
Características de los/as niños/as					
Edad en años en la administración de la prueba MCSA, mediana (RI)					
	4,4 (4,3-4,5)	4,4 (4,3-4,5)	4,4 (4,4-4,5)	4,4 (4,4-4,5)	0,102
Consumo diario de energía en kilocalorías/día, mediana (RI)					
	1579,6 (1390,0-1822,6)	1618,5 (1428,5-1868,3)	1464,5 (1277,6-1695,5)	1598,5 (1430,7-1819,3)	<0,001
Puntuación relativa de dieta mediterránea, mediana (RI)					
	9,0 (7,0-10,0)	9,0 (8,0-11,0)	8,0 (6,0-10,0)	8,0 (6,0-10,0)	<0,001
Longitud del telómero, mediana (RI)					
	1,0 (0,9-1,2)	1,0 (0,9-1,1)	1,2 (1,0-1,4)	1,0 (0,9-1,1)	<0,001
Estación de extracción de muestra sanguínea, n (%)					
Primavera	185 (27,0)	84 (29,5)	16 (12,0)	85 (31,7)	<0,001
Verano	174 (25,4)	31 (10,9)	83 (62,4)	60 (22,4)	
Otoño	154 (22,4)	74 (25,9)	18 (13,6)	62 (23,1)	
Invierno	173 (25,2)	96 (33,7)	16 (12,0)	61 (22,8)	

RI, Rango Intercuartílico; MCSA, McCarthy Scales of Children's Abilities; INMA, Infancia y Medio Ambiente.

^aSe utilizó la prueba chi-cuadrado para las variables categóricas y la prueba Kruskal-Wallis para las variables continuas no paramétricas.

Descripción de las variables principales

La mediana de LTL, expresada como cociente T/S, fue de 1,0 (0,9 – 1,2) en los/as niños/as evaluados a los 4 años. En cuanto a las puntuaciones para la escala de desarrollo neuropsicológico MCSA, los valores se situaron en torno a los 100 puntos, dado que las puntuaciones se estandarizaron a una media de 100 y una desviación estándar de 15 para toda la muestra. Cabe destacar que la puntuación mediana más alta se observó en el Índice Cognitivo General (mediana= 100,7 puntos; RI= 90,3 – 109,6), mientras que la más baja correspondió a la subescala de memoria de trabajo (mediana= 96,9 puntos; RI= 89,8 – 109,4) (*Tabla 9*).

Tabla 9. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo cognitivo y psicomotor a los 4 años.

Variables principales	Mediana (Rango Inter cuartílico)
LTL (T/S Ratio)	1,0 (0,9-1,2)
Puntuaciones de la escala MCSA	
Áreas neuropsicológicas	
Índice cognitivo general	100,7 (90,3 – 109,6)
Verbal	99,9 (89,4 – 109,5)
Perceptiva/manipulativa	100,1 (91,2 – 110,4)
Numérico/cuantitativo	99,6 (89,8 – 109,4)
Memoria	100,5 (89,4 – 110,0)
Habilidades motoras	99,6 (89,8 – 109,1)
Funciones neuropsicológicas	
Ejecutivas	99,9 (91,0 – 108,9)
Ejecutivas visuales	98,9 (90,2 – 110,9)
Ejecutivas verbales	99,1 (90,6 – 109,4)
Retención visual-verbal	99,3 (90,1 – 109,9)
Memoria de trabajo	96,9 (89,8 – 109,4)
Memoria verbal	101,5 (86,7 – 111,8)
Motricidad gruesa	98,7 (90,3 – 109,8)
Motricidad fina	99,9 (89,0 – 110,2)
Córtex cerebral posterior	100,4 (91,2 – 109,3)

Asociación entre LTL y desarrollo neuropsicológico cognitivo y motor

La **Tabla 10** presenta los resultados de los modelos de análisis de regresión lineal múltiple que exploran la asociación entre la LTL y el desarrollo neuropsicológico cognitivo y motor de los niños/as a los 4-5 años, ajustados por variables potenciales de confusión.

Al analizar la asociación entre la LTL y los resultados de las áreas del MCSA (índice cognitivo general, verbal, perceptivo-manipulativo, cuantitativo, memoria y habilidades motoras) se observó que el aumento en la LTL se asoció con una mayor puntuación media del índice cuantitativo global. No obstante, esta asociación fue marginalmente significativa ($\beta = 3,85$; IC95% = -0,19; 7,89; $p = 0,062$; $I^2 = 0,0\%$).

Por otro lado, al considerar las funciones neuropsicológicas propuestas por Julvez y colaboradores a partir del MCSA, se encontró una asociación positiva y estadísticamente significativa entre una mayor LTL y un aumento en la puntuación media en memoria de trabajo ($\beta = 4,55$; IC95% = 0,39; 8,71; $p = 0,032$; $I^2 = 0,0\%$). No se obtuvieron asociaciones significativas entre la LTL y el resto de funciones neuropsicológicas evaluadas esta edad.

Tabla 10. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo neuropsicológico en los/as niños/as del proyecto INMA a los 4-5 años (n=686).

LTL (n=686)			
Desarrollo neuropsicológico	β (IC 95%)	<i>P</i>	<i>I</i> ² (%) ^b
Áreas del MCSA^a			
Índice Cognitivo General	-0,54 (-4,37; 3,30)	0,783	19,3
Verbal Global	-2,79 (-6,70; 1,41)	0,193	0,0
Perceptivo-Manipulativo Global	1,98 (-1,92; 5,89)	0,319	49,8
Índice Cuantitativo Global	3,85 (-0,19; 7,89)	0,062	0,0
Memoria Global	-0,44 (-4,63; 3,73)	0,833	38,1
Habilidades Motoras Globales	0,43 (-3,84; 4,71)	0,843	0,0
Funciones MCSA^a			
Ejecutiva	0,56 (-3,36; 4,48)	0,779	0,0
Ejecutiva Visual	0,05 (-4,10; 4,21)	0,979	27,2
Ejecutiva Verbal	0,75 (-3,21; 4,17)	0,710	0,0
Alcance Visual y Verbal	-0,81 (-7,19; 5,56)	0,803	53,1
Memoria de trabajo	4,55 (0,39; 8,71)	0,032	0,0
Memoria Verbal	-2,40 (-6,89; 2,08)	0,294	0,0
Motora Gruesa	-2,35 (-6,67; 1,96)	0,285	0,0
Motora Fina	3,03 (-1,28; 7,34)	0,168	0,0
Función Cognitiva de la Corteza Posterior	-0,01 (-4,00; 3,99)	0,997	40,0
Función Cognitiva de la Corteza Posterior Izquierda (Verbal)	-2,59 (-6,92; 1,73)	0,240	0,0
Función Cognitiva de la Corteza Posterior Derecha (Visual)	2,91 (-1,27; 7,10)	0,173	27,7

LTL, Longitud del Telómero de los Leucocitos, MCSA, McCarthy Scales of Children's Abilities; IC, Intervalo de Confianza; INMA, Infancia y Medio Ambiente.

^aTodos los modelos de regresión lineal se ajustaron por el nivel educativo de la madre (primario o inferior, secundario o universitario), paridad (0 o \geq 1), exposición a NO₂ en el embarazo ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), edad del niño en la prueba MCSA (en años), puntuación relativa de la dieta mediterránea del niño (continua), ingesta energética (en kilocalorías/día) y estación de extracción de muestra sanguínea (primavera, verano, otoño o invierno) a los 4-5 años.

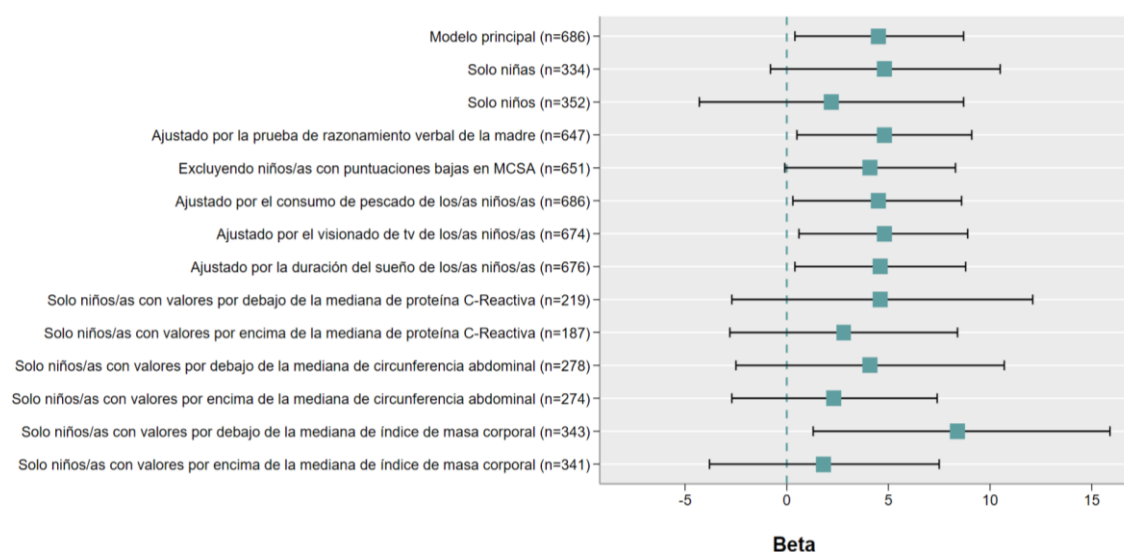
^bSe utilizaron los resultados del modelo de metanálisis de efectos fijos cuando $<50,0\%$ y del modelo de metanálisis de efectos aleatorios cuando $>50,0\%$.

Los resultados del análisis de sensibilidad para la asociación entre la LTL y la función de memoria de trabajo se presentan en la *Figura 11*. Tras ajustar el modelo principal por el coeficiente de inteligencia proxy de la madre, mediante los resultados de la prueba de razonamiento verbal ($\beta = 4,83$; IC95% = 0,50; 9,15; $p = 0,028$) y estilos de vida de los/as niños/as, como el consumo de pescado ($\beta = 4,46$; IC95% = 0,28; 8,64; $p = 0,036$), horas por semana de televisión ($\beta = 4,76$; IC95% = 0,58; 8,94; $p = 0,026$) y duración del sueño ($\beta = 4,64$; IC95% = 0,43; 8,85; $p = 0,031$), la asociación positiva y significativa obtenida en el modelo principal ($\beta = 4,55$; IC95% = 0,39; 8,71; $p = 0,032$) se mantenía prácticamente sin cambios.

Cuando se excluyeron del análisis los/as niños/as con puntuaciones bajas en la prueba MCSA, la asociación se mantuvo en la misma dirección, aunque pasó a ser marginalmente significativa ($\beta = 4,12$; IC95% = -0,10; 8,34; $p = 0,055$). Sin embargo, al estratificar los análisis por sexo, se observó que la asociación positiva persistía en las niñas ($\beta = 4,81$; IC95% = -0,85; 10,47; $p = 0,096$), mientras que en los niños la magnitud de la asociación fue menor y no significativa ($\beta = 2,16$; IC95% = -4,34; 8,67; $p = 0,515$).

Por último, los análisis estratificados por marcadores de inflamación mostraron asociaciones más fuertes entre LTL y memoria de trabajo en el subgrupo de niños/as con niveles de inflamación por debajo de la mediana, según proteína C-reactiva (cuartiles 1 – 2) ($\beta = 4,68$; IC95% = -2,75; 12,11; $p = 0,217$), perímetro abdominal (40,8 – 52,5) ($\beta = 4,08$; IC95% = -2,50; 10,67; $p = 0,224$) e índice de masa corporal (11,5 – 16,0) ($\beta = 8,37$; IC95% = 1,32; 15,91; $p = 0,020$). En contraste, en lo/as niños/as con un mayor nivel de inflamación por encima de la mediana, la asociación fue positiva, pero de menor magnitud y no significativa.

Figura 11. Análisis de sensibilidad de la asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y la función de memoria de trabajo en niños/as de 4-5 años.



2. PUBLICACIÓN II

Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz E.M, Barber-Valles J.X, Martens D.S, Riaño-Galán I, Irizar A, Llop S, Guxens M, Rodríguez-Dehli C, Babarro, I, Lozano M, Vrijheid M, Nawrot T, Valera-Gran D. **Telomere Length and Emotional and Behavioral Problems in Children from the Prospective Birth Cohort INfancia y Medio Ambiente (INMA) Study.** *Children* 2025;(12):875. doi: <https://doi.org/10.3390/children12070875>.

2.1. Resumen

El objetivo fue examinar la asociación entre la LTL a los 4 y 8 años de edad y los problemas psicoemocionales a los 8 años, así como evaluar si los cambios en la LTL entre los 4 y los 8 años influyen en los resultados psicoemocionales. Se utilizaron datos pertenecientes al proyecto INMA, incluyendo a 647 niños/as con medición de LTL a los 4 años y evaluación de problemas psicoemocionales a los 8 años, 673 con LTL y resultados psicoemocionales a los 8 años, y 315 con LTL medida en ambas edades. La LTL se determinó mediante PCR cuantitativa en muestras de sangre y se estandarizó como puntuaciones Z para el análisis principal. Los problemas psicoemocionales —incluyendo los problemas internalizantes, externalizantes y dificultades totales— se evaluaron mediante cuestionario SDQ. Las asociaciones se estimaron mediante modelos de ZINB o NB, ajustados por potenciales covariables. En los análisis principales no se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre la LTL a los 4 o 8 años, ni entre los cambios en la LTL durante ese período, y los problemas psicoemocionales a los 8 años. A pesar de que no se encontraron asociaciones significativas, estos resultados subrayan la necesidad de continuar investigando mediante estudios longitudinales el posible papel de la LTL como psicobiomarcador de trastornos emocionales y conductuales en la infancia.

2.2. Resultados

Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y sus hijos/as

La *Tabla 11* resume las características sociodemográficas, comportamientos y estilos de vida de las madres y los/as niños/as en las tres muestras analizadas, correspondientes a los distintos momentos del desarrollo. La distribución de las parejas madre-hijo fue relativamente equilibrada entre las cohortes, con excepción de la muestra con mediciones completas a los 4 y 8 años, en la que los participantes de Guipúzcoa representaron aproximadamente dos tercios (61,3%).

La edad materna se situó en una mediana de entre los 31 y 32 años, y más del 80,0% de las madres había alcanzado un nivel educativo secundario o universitario. El IMC materno antes del embarazo presentó una mediana de entre 22,7 y 22,9 kg/m². En cuanto al tabaquismo durante el embarazo, aproximadamente tres cuartas partes de las madres declararon no haber fumado. En las

tres muestras analizadas, algo más de la mitad de los niños eran varones, con una mediana de IMC de 15,9 kg/m² (RI= 15,2 – 16,9) a los 4 años y de 17,0 kg/m² (RI= 15,7 – 18,9) a los 8 años.

Respecto a las variables principales, la mediana de LTL a los 4 y 8 años (proporción T/S) fue de 1,0 (RI = 0,9 – 1,2) y 1,0 (RI = 0,8 – 1,1), respectivamente. La diferencia en la LTL entre los 4 y los 8 años mostró una mediana de 0,03 (RI = -0,07 – 0,15). A los 8 años, los problemas psicoemocionales evaluados mediante el cuestionario SDQ mostraron una mediana de 3,0 (RI = 1,0 – 5,0) para los problemas internalizantes, y de 5,0 (RI = 3,0 – 8,0) para los problemas externalizantes. La puntuación total de dificultades psicoemocionales tuvo una mediana de 8,0 (RI = 5,0 – 12,0), con una puntuación máxima posible de 40.

Tabla 11. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y los/as niños/as pertenecientes al proyecto INMA (España) a los 4 y 8 años.

	Mediciones LTL a los 4 años (n= 647)	Mediciones LTL a los 8 años (n= 673)	Mediciones LTL a los 4 y 8 años (n= 315)
Cohorte, n (%)			
Asturias	240 (37,1)	234 (34,8)	193 (61,3)
Gipúzcoa	131 (20,2)	220 (32,7)	122 (38,7)
Sabadell	277 (42,7)	-	-
Valencia	-	219 (32,5)	-
Características de las madres			
Edad, mediana (RI)	31,0 (29,0-34,0)	31,0 (29,0-34,0)	32,0 (30,0-35,0)
Nivel educativo, n (%)			
Primarios o inferiores	120 (18,5)	122 (18,1)	47 (14,9)
Secundarios	274 (42,3)	273 (40,6)	125 (39,7)
Universitarios	254 (39,2)	278 (41,3)	143 (45,4)
IMC Preconcepcional, mediana (RI)	22,9 (20,8-25,6)	22,7 (20,7-25,6)	22,8 (20,6-25,3)
Fumadora durante el embarazo, n (%)			
Sí	166 (25,6)	200 (29,7)	81 (25,7)
No	482 (74,4)	473 (70,3)	234 (74,3)
Características de los/as niños/as			
Sexo, n (%)			
Masculino	331 (51,1)	347 (51,6)	163 (51,7)
Femenino	317 (48,9)	326 (48,4)	152 (48,3)
IMC a los 4 años, mediana (RI)	15,9 (15,2-16,9)	-	16,1 (15,3-17,2)
IMC a los 8 años, mediana (RI)	16,7 (15,4-18,5)	17,0 (15,7-18,8)	17,0 (15,7-18,9)

LTL, Longitud del Telómero de los Leucocitos; RI, Rango Intercuartílico; IMC, Índice de Masa Corporal; a, años.

Descripción de las variables principales

La mediana de LTL, expresada como T/S ratio, fue de 1,0 (RI= 0,9 – 1,2) a los 4 años y de 1,0 (RI= 0,8 – 1,1) a los 8 años. En relación a las puntuaciones del cuestionario SDQ, la mediana para los síntomas internalizantes fue de 3,0 puntos (RI= 1,0 – 5,0), mientras que para los síntomas externalizantes fue de 5,0 puntos (RI= 3,0 – 8,0); ambas subescalas presentan un rango posible de 0 a 20 puntos. La mediana de la puntuación total de dificultades fue de 8,0 (RI= 4,0 – 13,0), con un rango de puntuación que podría oscilar de 0 a 40 puntos (Tabla 12).

Tabla 12. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y el desarrollo socioemocional.

Variables principales	Mediana (Rango Intercuartílico)
LTL (T/S Ratio) a los 4 años	1,0 (0,9 – 1,2)
LTL (T/S Ratio) a los 8 años	1,0 (0,8 – 1,1)
Puntuaciones del cuestionario SDQ	
Síntomas internalizantes (0 a 20)	3,0 (1,0 – 5,0)
Síntomas externalizantes (0 a 20)	5,0 (3,0 – 8,0)
Dificultades totales (0 a 40)	8,0 (4,0 – 13,0)

Resultados de asociación entre LTL y el área socioemocional

Los resultados de la asociación entre las puntuaciones Z de la LTL y los problemas psicoemocionales —es decir, problemas internalizantes, externalizantes y dificultades totales— en niños/as del estudio INMA se muestran en la *Tabla 13*.

En general, no se encontraron asociaciones significativas entre la LTL medida a los 4 o 8 años, ni entre el cambio en el rango de LTL entre ambos momentos, y los resultados psicoemocionales a los 8 años. Asimismo, los modelos estratificados por sexo tampoco mostraron asociaciones significativas ni en niñas ni en niños, y no se identificaron patrones o tendencias claras específicas por sexo (*Tablas 14 y 15*). Estos hallazgos sugieren que no existe una asociación consistente entre la LTL y los problemas psicoemocionales en la infancia, independientemente del momento de la medición o del sexo del menor.

Tabla 13. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niños/as del proyecto INMA (España).

Problemas psicoemocionales a los 8 años	Longitud del telómero de los leucocitos								
	4 años (n= 647) ^a			8 años (n= 673) ^b			Cambio 4-8 años (n= 315) ^c		
Problemas internalizantes	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)
OR	0,92 (0,54; 1,55)	0,753	34,1	0,72 (0,29; 1,82)	0,418	0,0	0,34 (0,06; 2,10)	0,263	0,0
IRR	1,02 (0,95; 1,09)	0,635	30,3	1,01 (0,95; 1,08)	0,663	0,0	1,06 (0,94; 1,19)	0,315	38,6
Problemas externalizantes (IRR)	0,97 (0,92; 1,03)	0,317	37,4	1,03 (0,99; 1,09)	0,146	4,0	0,98 (0,87; 1,11)	0,784	49,1
Total dificultades (IRR)	0,99 (0,94; 1,03)	0,582	48,2	1,03 (0,98; 1,08)	0,232	30,3	0,98 (0,87; 1,11)	0,818	48,2

OR, Odds Ratio; IRR, Incidence Rate Ratio o Tasas de incidencia.

^a Modelos ajustados por edad de la madre (continuo), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre 4 y 8 años (continuo).

^b Modelos ajustados por edad de la madre (continua), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo), edad del niño (continuo) e índice de masa corporal a los 8 años (continuo).

^c Modelos ajustados por la edad de la madre (continua), el nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), el tabaquismo durante el embarazo (sí o no), el índice de masa corporal preconcepcional (continuo) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre los 4 y los 8 años (continuo) y la longitud de los telómeros a los 4 años (puntuación z basal).

Tabla 14. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niñas del proyecto INMA (España).

Problemas psicoemocionales a los 8 años	Longitud del telómero de los leucocitos								
	4 años (n= 317) ^a			8 años (n= 326) ^b			Cambio 4-8 años (n= 152) ^c		
	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)
Problemas internalizantes									
OR	0.88 (0.47; 1.63)	0.679	45.8	1.64 (0.60; 4.45)	0.330	33.1	0.87 (0.25; 3.00)	0.826	0.0
IRR	0.90 (0.70; 1.16)	0.414	82.0	1.08 (0.98; 1.19)	0.113	32.6	0.98 (0.84; 1.16)	0.880	47.0
Problemas externalizantes (IRR)	0.93 (0.86; 1.01)	0.093	38.0	1.05 (0.94; 1.20)	0.324	63.5	0.96 (0.84; 1.10)	0.565	43.4
Total dificultades (IRR)	0.91 (0.78; 1.07)	0.261	78.3	1.07 (0.95; 1.21)	0.289	67.5	0.97 (0.80; 1.16)	0.720	63.7

OR, Odds Ratio; IRR, Incidence Rate Ratio o Tasas de incidencia.

^a Modelos ajustados por edad de la madre (continuo), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo), sexo (masculino o femenino) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre 4 y 8 años (continuo).

^b Modelos ajustados por edad de la madre (continua), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo), sexo (masculino o femenino), edad del niño (continuo) e índice de masa corporal a los 8 años (continuo).

^c Modelos ajustados por la edad de la madre (continua), el nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), el tabaquismo durante el embarazo (sí o no), el índice de masa corporal preconcepcional (continuo), sexo (masculino o femenino) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre los 4 y los 8 años (continuo) y la longitud de los telómeros a los 4 años (puntuación z basal).

Tabla 15. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los problemas psicoemocionales (internalizantes, externalizantes y totales) en niños del proyecto INMA (España).

Longitud del telómero de los leucocitos									
Problemas psicoemocionales a los 8 años	4 años (n= 330) ^a			8 años (n= 347) ^b			Cambio 4-8 años (n= 163) ^c		
	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)	Estimación (IC95%)	p-valor	I ² (%)
Problemas internalizantes									
OR	1.15 (0.73; 1.78)	0.541	0.0	0.85 (0.47; 1.52)	0.586	0.0	1.00 (0.48; 2.10)	0.999	0.0
IRR	1.01 (0.98; 1.20)	0.100	0.0	0.96 (0.88; 1.05)	0.416	0.0	1.10 (0.94; 1.31)	0.230	0.0
Problemas externalizantes (IRR)	1.04 (0.97; 1.11)	0.258	0.0	1.02 (0.96; 1.09)	0.444	0.0	1.01 (0.90; 1.14)	0.817	0.0
Total dificultades (IRR)	1.06 (0.99; 1.13)	0.079	0.0	1.00 (0.94; 1.06)	0.936	0.0	1.05 (0.93; 1.17)	0.428	0.0

OR, Odds Ratio; IRR, Incidence Rate Ratio o Tasas de incidencia.

^a Modelos ajustados por edad de la madre (continuo), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre 4 y 8 años (continuo).

^b Modelos ajustados por edad de la madre (continua), nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), tabaquismo durante el embarazo (sí o no), índice de masa corporal preconcepcional (continuo), edad del niño (continuo) e índice de masa corporal a los 8 años (continuo).

^c Modelos ajustados por la edad de la madre (continua), el nivel educativo (primario o inferior, secundario o universitario), el tabaquismo durante el embarazo (sí o no), el índice de masa corporal preconcepcional (continuo) y los valores de cambio en el índice de masa corporal y la edad entre los 4 y los 8 años (continuo) y la longitud de los telómeros a los 4 años (puntuación z basal).

3. PUBLICACIÓN III

Campos-Sánchez I, Navarrete-Muñoz EM, Martens DS, Riaño-Galán I, Lertxundi A, Llop S, Guxens M, Rodríguez-Dehli C, Lertxundi N, Soler-Blasco R, Vrijheid M, Nawrot TS, Wright J, Yang TC, McEachan R, Gützkow KB, Chatzi VL, Vafeiadi M, Kampouri M, Grazuleviciene R, Andrusaityte S, Lepeule J, Valera-Gran D. **Telomere Length and Symptoms of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder in Children at 6-12 Years.** *J Atten Disord.* 2025;29(6):474-485. doi: 10.1177/10870547251314923.

3.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue explorar la asociación entre la LTL y los síntomas de TDAH en niños/as de 6 a 12 años. Para ello, se analizaron datos de 1759 niños/as pertenecientes a las cohortes del proyecto HELIX, así como de las cohortes de Asturias, Guipúzcoa y Valencia del proyecto INMA. La LTL se determinó a partir de muestras sanguíneas mediante PCR cuantitativa. Los síntomas del TDAH fueron evaluados mediante la escala CPRS-R:S, completada por los progenitores. Se utilizaron modelos de regresión binomial negativa múltiple ajustados por posibles factores de confusión para estimar las asociaciones.

En el análisis global no se observaron asociaciones entre la LTL y los síntomas de TDAH. Sin embargo, en la cohorte HELIX se identificó una asociación protectora significativa entre una LTL más larga y un menor riesgo de presentar síntomas de hiperactividad (IRR = 0,93; IC95% = 0,87; 0,99; $p = 0,022$). Aunque el estudio no encontró una asociación consistente entre la LTL y los síntomas de TDAH en el conjunto de las cohortes, la asociación significativa encontrada en la cohorte HELIX sugiere que una mayor LTL podría estar relacionada con un menor riesgo de síntomas de hiperactividad. Por tanto, se requieren estudios adicionales para confirmar y profundizar en esta posible asociación.

3.2. Resultados

Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y sus hijos/as

Las características sociodemográficas y de estilo de vida de los participantes incluidos se presentan en la *Tabla 16*. Entre los 1759 participantes, las madres tenían una edad media de 31,0 años (RI= 28,0 – 34,0). Más del 80,0% de estas madres tenían un nivel educativo medio o alto. Su IMC medio antes de la concepción fue de 23,4 kg/m² (RI= 21,1 – 26,6), y el 20,9% de ellas informó haber fumado durante el embarazo.

Se observaron diferencias en estas características entre los participantes del proyecto HELIX y las cohortes de INMA (Asturias, Guipúzcoa y Valencia). En particular, un mayor porcentaje de madres del proyecto HELIX tenía un nivel educativo alto en comparación con las madres de la

muestra INMA (50,3% vs. 41,3%). Además, las madres del proyecto HELIX presentaban un IMC medio preconcepcional superior (23,9 vs. 22,6 kg/m²). Por el contrario, la prevalencia de consumo de tabaco durante el embarazo fue mayor entre las madres de INMA (29,7% vs. 15,0%).

Respecto a los niños, algo más de la mitad eran varones de 7,8 años de media (RI= 7,0 – 8,4). Su IMC promedio fue de 16,5 kg/m² (RI= 15,3 – 18,3), y aproximadamente el 53,2% de las muestras de sangre se recogieron durante los meses de otoño e invierno. Los/as niños/as de la muestra HELIX tenían una edad media ligeramente mayor (8,0 vs. 7,7 años) y un IMC inferior (16,3 vs. 17,0 kg/m²) en comparación con los niño/as de la muestra INMA.

Tabla 16. Características sociodemográficas y estilos de vida de las madres y niños/as pertenecientes a los proyectos HELIX e INMA (n= 1759).

	Total (n= 1759)	Participantes de HELIX ^a (n= 1086)	Participantes de INMA ^b (n= 673)	p- valor ^c
Características de las madres				
Edad (años), mediana (RI)	31,0 (28,0-34,0)	31,0 (27,2-34,0)	31,0 (29,0-34,0)	0,040
Nivel educativo, n (%)				<0,001
Bajo	275 (15,6)	153 (14,1)	122 (18,1)	
Medio	660 (37,5)	387 (35,6)	273 (40,6)	
Alto	824 (46,8)	546 (50,3)	278 (41,3)	
IMC preconcepcional (kg/m ²), mediana (RI)	23,4 (21,1-26,6)	23,9 (21,3-27,1)	22,6 (20,7-25,6)	<0,001
Fumadoras activas durante el embarazo, n (%)				<0,001
No	1396 (79,4)	923 (85,0)	473 (70,3)	
Yes	363 (20,6)	163 (15,0)	200 (29,7)	
Características de los/as niños/as				
Sexo, n (%)				0,169
Femenino	815 (46,3)	489 (45,0)	326 (48,4)	
Masculino	944 (53,7)	597 (55,0)	347 (51,6)	
Edad en el examen clínico (años), mediana (RI)	7,8 (7,0-8,4)	8,0 (6,0-9,0)	7,7 (7,6-8,1)	0,006
IMC (kg/m ²), mediana (RI)	16,5 (15,3-18,3)	16,3 (15,1-17,9)	17,0 (15,7-18,8)	<0,001
Estación de extracción de sangre, n (%)				0,215
Invierno	494 (28,1)	323 (29,7)	171 (25,4)	
Primavera	440 (25,0)	259 (23,8)	181 (26,9)	
Verano	381 (21,7)	233 (21,4)	148 (22,0)	
Otoño	444 (25,2)	271 (24,9)	173 (25,7)	

RI, Rango Intercuartílico; IMC, Índice de Masa Corporal.

a Cohortes de HELIX: BiB (Reino Unido), EDEN (Francia), KANC (Lituania), MoBa (Noruega), Rhea (Grecia) and Sabadell (España).

b Cohortes de INMA: Asturias, Guipúzcoa y Valencia (España).

c Se utilizó la prueba Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas y la prueba U de Mann-Whitney para las variables continuas no paramétricas.

Descripción de las variables principales

La mediana de LTL a los 6 – 12 años fue de 1,0 (RI= 0,9 – 1,1) para el total de la muestra del estudio. Los/as niños/as incluidos en el estudio presentaban una puntuación mediana para el índice de TDAH de 6,0 (RI= 3,0 – 11,0). En el caso de las subescalas, los padres reportaron unas puntuaciones de 3,0 (RI= 1,0 – 5,0) para las conductas de oposición y de 2,0 (0,0 – 5,0) para los problemas cognitivos/inatención y los síntomas de hiperactividad (*Tabla 17*).

Tabla 17. Descripción de la longitud del telómero de los leucocitos y los síntomas de TDAH.

Variables principales	Mediana (Rango Intercuartílico)
LTL (T/S Ratio) a los 6 – 12 años	1,0 (0,9 – 1,1)
Puntuaciones del cuestionario Conners	
Conductas de oposición (0 a 18)	3,0 (1,0 – 5,0)
Problemas cognitivos/Inatención (0 a 18)	2,0 (0,0 – 5,0)
Hiperactividad (0 a 18)	2,0 (0,0 – 5,0)
Índice TDAH (0 a 36)	6,0 (3,0 – 11,0)

Asociación entre LTL y síntomas de TDAH

La *Tabla 18* muestra los resultados sobre la asociación entre las puntuaciones Z de LTL y los síntomas de TDAH en niños/as de 6 a 12 años. Las estimaciones generales (n= 1759) no mostraron asociaciones estadísticamente significativas. Sin embargo, al analizar los resultados por separado las cohortes del proyecto HELIX y cohortes de INMA (Asturias, Guipúzcoa y Valencia), se identificaron diferencias en las estimaciones.

En concreto, los resultados de los modelos principales mostraron una asociación significativa entre una mayor LTL y un menor riesgo de sintomatología de hiperactividad (IRR = 0,93; IC95% = 0,87; 0,99; p = 0,022) en los/as niños/as de las cohortes del proyecto HELIX (n = 1086). En cambio, no se observaron asociaciones significativas en la muestra del proyecto INMA (n = 673).

Tabla 18. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y síntomas de trastorno de déficit de atención e hiperactividad en niños/as a los 6-12 años pertenecientes a los proyectos HELIX e INMA (n= 1759).

	Todos los participantes (n= 1759)			Participantes de HELIX ^a (n= 1086)			Participantes de INMA ^b (n= 673)		
	IRR (IC 95%) ^c	p-valor	I ² (%)	IRR (CI 95%)	p-valor	I ² (%)	IRR (CI 95%)	p-valor	I ² (%)
Conners									
Oposición									
Modelo básico	0,99 (0,96; 1,04)	0,839	0,6	0,97 (0,93; 1,02)	0,293	0,0	1,04 (0,97; 1,12)	0,241	0,0
Modelo completo	1,00 (0,96; 1,04)	0,847	1,8	0,98 (0,93; 1,03)	0,490	0,0	1,05 (0,97; 1,13)	0,177	0,0
Problemas cognitivos/inatención									
Modelo básico	0,99 (0,94; 1,04)	0,710	10,3	0,98 (0,92; 1,04)	0,521	21,3	1,00 (0,93; 1,10)	0,820	10,8
Modelo completo	1,00 (0,95; 1,05)	0,939	6,8	0,99 (0,93; 1,06)	0,867	17,0	1,01 (0,92; 1,11)	0,774	17,2
Hiperactividad									
Modelo básico	0,97 (0,90; 1,06)	0,540	60,6	0,91 (0,85; 0,97)	0,005	0,0	1,08 (0,95; 1,22)	0,247	58,0
Modelo completo	0,98 (0,91; 1,06)	0,667	55,3	0,93 (0,87; 0,99)	0,022	0,0	1,07 (0,93; 1,22)	0,332	61,9
Índice TDAH									
Modelo básico	0,99 (0,93; 1,06)	0,826	55,2	0,96 (0,89; 1,04)	0,355	54,8	1,05 (0,98; 1,12)	0,137	0,0
Modelo completo	1,00 (0,95; 1,07)	0,749	50,7	0,98 (0,91; 1,06)	0,695	51,4	1,06 (0,98; 1,14)	0,144	19,3

LTL, Longitud del Telómero de los Leucocitos; TDAH, Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad; IRR, Incidence Rate Ratio o Tasas de Incidencia; IC, Intervalo de Confianza.

^a Cohortes de HELIX: BiB Reino Unido), EDEN (Francia), KANC (Lituania), MoBa (Noruega), Rhea (Grecia) y Sabadell (España).

^b Cohortes INMA: Asturias, Guipúzcoa y Valencia (España).

^cLa razón de incidencia (RI) se expresa por cada incremento de una unidad en la puntuación z de la longitud telomérica (LTL).

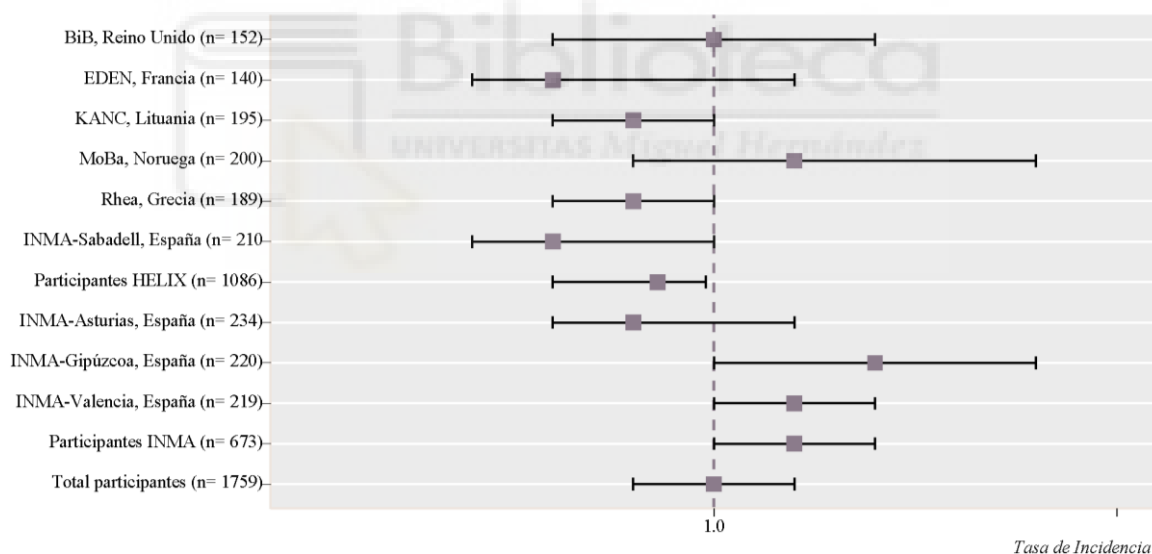
Los modelos básicos fueron ajustados por la edad del niño/a en el momento del examen (en años) y el sexo (masculino o femenino).

Los modelos completos fueron ajustados por la edad materna (en años), el nivel educativo de la madre (bajo, medio o alto), el tabaquismo activo materno durante el embarazo (sí o no), el índice de masa corporal (IMC) materno previo al embarazo (continuo), la edad del niño/a en el momento del examen (en años), el sexo (masculino o femenino) y el IMC del niño/a (continuo).

Los resultados de la asociación entre LTL y los síntomas de hiperactividad para cada cohorte se representan gráficamente en la *Figura 12*. Con la excepción de la cohorte MoBa, las cohortes del proyecto HELIX mostraron una asociación consistente entre una mayor LTL y un menor riesgo de síntomas de hiperactividad. Esta asociación fue más pronunciada, aunque no estadísticamente significativa, en las cohortes KANC-Lituania (IRR = 0,58; IC95% = 0,29; 1,14; p = 0,117), Rhea-Grecia (IRR = 0,57; IC95% = 0,28; 1,17; p = 0,129) e INMA Sabadell-España (IRR = 0,47; IC95% = 0,18; 1,18; p = 0,109), donde las estimaciones fueron más precisas.

En contraste, los resultados de INMA-Guipúzcoa y Valencia, así como los de la muestra INMA en conjunto, mostraron una asociación inversa, es decir, una mayor LTL se asoció con un mayor riesgo de hiperactividad, aunque estas asociaciones no alcanzaron significación estadística. En conjunto, las estimaciones globales de todas las cohortes no evidenciaron una asociación concluyente.

Figura 12. Asociación entre la longitud del telómero de los leucocitos y los síntomas de hiperactividad para cada cohorte.



DISCUSIÓN

La presente tesis doctoral explora la asociación entre un biomarcador de envejecimiento celular, como es la LTL y diferentes resultados de desarrollo neuropsicológico infantil, incluyendo las áreas cognitiva, psicomotora, socioemocional y síntomas de TDAH, en el contexto del Proyecto INMA, una cohorte de nacimiento española. Además, para uno de los objetivos planteados se utilizaron datos complementarios del estudio europeo de cohortes HELIX.

En relación con el primer objetivo de la tesis, centrado en explorar la asociación entre la LTL y el desarrollo cognitivo y psicomotor, los resultados sugieren que una mayor LTL en la infancia podría estar asociada con un mejor desempeño en la memoria de trabajo, así como con mayores puntuaciones en el índice cuantitativo de las escalas MCSA. Este hallazgo representa, hasta donde se conoce, la primera evidencia de una relación positiva entre la LTL y el rendimiento neurocognitivo en niños de 4 a 5 años. No obstante, estos resultados deben interpretarse con cautela y considerarse como una base para futuras investigaciones.

Respecto al segundo objetivo, que consistía en explorar la posible relación entre la LTL y los síntomas psicoemocionales a lo largo de la infancia, no encontramos asociaciones significativas entre la LTL y los problemas internalizantes ni externalizantes en los/as niños/as ni a los 4 ni a los 8 años.

En cuanto al tercer objetivo, centrado en analizar la asociación entre la LTL y los síntomas de TDAH con niños/as europeos de entre 6 y 12 años, no se hallaron asociaciones significativas en el análisis global. Sin embargo, el análisis estratificado por cohorte reveló una posible relación entre una mayor LTL y una menor sintomatología de hiperactividad en los participantes del proyecto HELIX, una asociación impulsada principalmente por las cohortes KANC (Lituania), Rhea (Grecia) e INMA-Sabadell (España).

Asociación entre la LTL y el área cognitiva y psicomotora

En nuestro estudio, observamos que una mayor LTL se asoció con una puntuación media más alta en memoria de trabajo ($\beta = 4,55$; IC95% = 0,39; 8,71). Asimismo, se identificó una asociación marginalmente significativa entre una mayor LTL y una puntuación cuantitativa global más elevada ($\beta = 3,85$; IC95% = -0,19; 7,89). No se hallaron asociaciones significativas para otras áreas del desarrollo.

Estos resultados no son directamente comparables con los de estudios previos. Por ejemplo, en una cohorte de nacimiento de Seychelles que incluía niños/as de 5 años sin patologías (99), se utilizó un diseño epidemiológico similar, pero con pruebas distintas para la evaluación neuropsicológica. A diferencia de nuestro estudio, Feiler et al. (2018) no incluyeron la evaluación

de la función de la memoria de trabajo ni de las habilidades cuantitativas, las cuales mostraron un efecto positivo de una mayor LTL en nuestra investigación. En contraposición, obtuvimos asociaciones no significativas para las funciones motoras, el lenguaje y la resolución de problemas matemáticos. Otro aspecto que debe considerarse es que la longitud media de los telómeros de los/as niños/as difería entre los estudios, aunque la LTL fue estimada mediante el mismo método (qPCR) y a edades casi idénticas. Los/as niños/as de nuestro estudio presentaron una LTL promedio ligeramente superiores que los/as niños/as del Seychelles Child Development Study (99) (1,0 frente a 0,71, respectivamente). De manera similar, el estudio de Croons (2024) tampoco evaluó de forma específica la memoria de trabajo y, al igual que el estudio de Seychelles, encontró asociaciones entre LT y el desarrollo motor, pero no para las pruebas de desarrollo cognitivo (100).

Hasta donde sabemos, los mecanismos subyacentes que podrían explicar una posible relación entre una mayor LT y un mejor desempeño en la memoria de trabajo o en tareas numéricas a la edad de 4–5 años no están del todo esclarecidos, lo que requiere una investigación más profunda. No obstante, algunos estudios realizados en adultos ofrecen hallazgos en la misma dirección. Por ejemplo, un estudio con 382 mujeres sanas (120) mostró una correlación positiva entre la LTL y el rendimiento en una prueba funcional de memoria, aunque no se alcanzó significación estadística. Otro estudio más reciente, realizado en una muestra de 325 adultos afroamericanos y blancos, encontró una asociación entre una LTL más corta y un peor rendimiento en una prueba de memoria de trabajo. Sin embargo, esta asociación sólo fue estadísticamente significativa en los participantes blancos (121).

Ante la falta de evidencia concluyente, nuestros hallazgos podrían interpretarse en el marco del papel potencial de la LTL en el mantenimiento de la estabilidad celular, incluyendo la estabilidad celular del cerebro al proteger a las neuronas de la apoptosis celular (1,43). En esta línea, un metaanálisis reciente de 27 estudios sobre el impacto de la LT en el envejecimiento cerebral (43) sugiere que los telómeros pueden tener una influencia positiva en la morfología cerebral y la cognición, lo que podría traducirse en un mayor volumen cerebral y una mejor conectividad funcional.

Aunque no se alcanzó significación estadística en niñas ni en niños, probablemente debido a una limitada potencia estadística, nuestros hallazgos sobre diferencias según el sexo son coherentes con estudios previos que sugieren que una mayor longitud telomérica podría tener un efecto beneficioso más marcado en mujeres que en hombres (122). Perspectivas recientes sobre las posibles bases mecanicistas de las diferencias sexuales en la neurobiología han sugerido que las hormonas, particularmente el estradiol, podrían ser en parte responsables de los cambios en las funciones cerebrales, la salud del cerebro y el funcionamiento molecular de las células cerebrales

(123). Aunque estas hipótesis derivan principalmente de estudios experimentales con modelos animales, proponen que el estradiol podría desempeñar una función neuroprotectora crucial en el cerebro, especialmente en la memoria, sugiriendo que este estrógeno puede activar distintas vías de señalización celular en hombres y mujeres.

Paralelamente, una explicación complementaria para la asociación positiva entre la LT y la memoria de trabajo podría deberse a que las funciones cognitivas básicas, como la memoria de trabajo o la atención, parecen ser más vulnerables al proceso de envejecimiento y/o al daño molecular y celular que las funciones cognitivas más complejas como la memoria a largo plazo, la función ejecutiva o la cognición global (124,125). Por tanto, es plausible que el efecto protector de una LTL más larga sea más evidente precisamente en aquellas funciones más sensibles a alteraciones celulares precoces.

Un aspecto interesante que podría contribuir a explicar nuestros resultados es la hipótesis de que los déficits en memoria de trabajo reflejan un deterioro en la integridad estructural del cerebro, por lo que esta función cognitiva podría constituir un marcador precoz del deterioro cognitivo asociado a la edad (126). En este sentido, la asociación observada entre la LTL y el área numérica global, aunque no alcanzó niveles convencionales de significación estadística, aporta un respaldo valioso a la asociación encontrada en la memoria de trabajo. Esta conexión es especialmente pertinente porque las habilidades numéricas evaluadas por la escala cuantitativa del MSCA exigen considerablemente recursos de memoria de trabajo. Investigaciones previas han señalado que los niños con dificultades en operaciones matemáticas a menudo presentan déficits en esta función cognitiva (126).

Por otro lado, nuestros hallazgos también sugieren que el nivel de inflamación podría influir en el efecto de la LTL sobre la memoria de trabajo a los 4–5 años. Este resultado es coherente con investigaciones anteriores que mostraron que un nivel elevado de citocinas proinflamatorias, como la proteína C reactiva, se asoció con un peor rendimiento en la memoria de trabajo en niños y jóvenes (127,128). Desde un enfoque neurobiológico, esta asociación se apoya en el hecho de que los procesos inflamatorios causan cambios en los circuitos neuronales, la actividad de los neurotransmisores, el sistema neuroendocrino y la neurogénesis, afectando la función cerebral y, por ende, las funciones cognitivas (126,129–131). Además, debe señalarse que la pérdida de LT también se ha asociado con procesos inflamatorios, como un mayor índice de masa corporal o biomarcadores como la proteína C reactiva (127), lo que sugiere que los eventos inflamatorios podrían implicar una interacción entre la disfunción telomérica y un mal funcionamiento cognitivo. En conjunto, estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la LTL podría ser un biomarcador útil para comprender las trayectorias del desarrollo cognitivo temprano en relación con factores biológicos subyacentes.

Asociación entre la LTL y el área socioemocional

La ausencia de asociaciones significativas entre la LTL y el área socioemocional en los/as niños/as participantes en nuestro estudio contrasta con los resultados preliminares de otros estudios que sí han encontrado asociaciones significativas, aunque de forma generalizada inconsistente. La posible asociación entre una menor LTL y un mayor riesgo de dificultades emocionales y conductuales en la infancia ha sido examinada en otros estudios de cohorte, como el realizado por Robinson y colaboradores (2023) (103). Utilizando datos de la cohorte europea HELIX —que incluye a participantes de la cohorte INMA-Sabadell—, dicho estudio informó una asociación significativa entre una LTL más corta y un mayor grado de comportamientos externalizantes entre 6 y 11 años.

Las discrepancias entre los hallazgos de nuestro estudio y los del estudio HELIX pueden explicarse parcialmente por diferencias metodológicas. En primer lugar, HELIX incluyó una muestra de mayor tamaño (1159 niños/as frente a 673 en nuestro estudio), lo que probablemente proporcionó mayor poder estadístico para detectar asociaciones entre la LTL y los problemas psicoemocionales. En segundo lugar, los dos estudios utilizaron herramientas distintas para medir los problemas psicoemocionales: el estudio HELIX utilizó el CBCL, mientras que el presente estudio utilizó el SDQ. Estas herramientas evalúan diferentes dimensiones del comportamiento psicoemocional, lo que podría explicar en parte las discrepancias en los resultados. Adicionalmente, mientras que el estudio HELIX examinó la asociación entre LT y problemas psicoemocionales de forma transversal en un único momento (6–11 años), el presente estudio adoptó un enfoque longitudinal, incluyendo evaluaciones en múltiples momentos (4 y 8 años) y analizando los cambios en la LT a lo largo del tiempo. Aunque este enfoque ofrece una perspectiva más amplia, también introduce mayor complejidad analítica, lo que podría dificultar la detección de asociaciones significativas.

De forma similar, un estudio longitudinal realizado con una cohorte de Bucarest (n=195) informó asociaciones significativas entre una LT más corta y puntuaciones más altas en problemas internalizantes a los 8–10 años, así como entre una LT más corta y una mayor puntuación en psicopatología general a los 10–12 años (102). Este estudio utilizó métodos distintos para recolectar las variables clave: la LT fue medida a partir de ADN bucal, en contraste con el ADN sanguíneo utilizado en el presente estudio, y el riesgo de psicopatología en los/as niños/as fue informado por profesores a los 8–10 años y tanto por profesores como cuidadores a los 10–12 años, utilizando el Cuestionario de Salud y Comportamiento de MacArthur. Además, este estudio empleó un análisis longitudinal de trayectoria para examinar la direccionalidad de la asociación entre la LTL y el riesgo de psicopatología infantil, encontrando evidencia de una relación bidireccional. Específicamente, una LT más corta se asoció con una mayor notificación de

síntomas psicológicos, mientras que los problemas internalizantes a los 8–10 años predijeron una LTL más corta a los 12–14 años. En contraste, esta investigación se enfocó exclusivamente en la LTL como variable de exposición, examinando su posible impacto sobre los problemas psicoemocionales a lo largo del tiempo, sin evaluar la relación inversa. Estos hallazgos sugieren que, si bien una LT más corta podría actuar como biomarcador de síntomas psicopatológicos, dichos síntomas también podrían contribuir al acortamiento acelerado de la LT a lo largo del tiempo, reflejando potencialmente el estrés o la adversidad acumulada durante la infancia.

Ampliando esta perspectiva bidireccional, dos estudios adicionales respaldan el posible impacto de la psicopatología en el acortamiento de la LT en la infancia. Kroenke y colaboradores encontraron una asociación inversa entre los problemas internalizantes y la LT bucal en niños/as de la población general de 6–7 años, en una cohorte de San Francisco (101). A diferencia del presente estudio, esta investigación examinó la asociación de forma inversa y contó con una muestra de menor tamaño (n=78). También se utilizó una herramienta diferente (el Cuestionario HBQ) para evaluar los síntomas psicopatológicos. De forma similar, otro estudio mostró que los/as niños/as con trastorno negativista desafiante a las edades de 3, 4 y 5 años tenían telómeros más cortos a los 4 y 5 años en comparación con niños sin esta condición (104). En conjunto, estos hallazgos sugieren una relación entre la psicopatología y el acortamiento de la LT. Una hipótesis propuesta es que los procesos biológicos asociados con la psicopatología, como la inflamación, el estrés oxidativo y la disfunción neuroendocrina, pueden contribuir a la erosión telomérica (132).

La evidencia en poblaciones adultas ha mostrado de forma consistente una asociación entre la psicopatología y una LT más corta en estudios transversales, especialmente con trastornos internalizantes como la depresión (45,133). No obstante, la direccionalidad de esta asociación sigue siendo incierta. Existe evidencia mixta, con algunas investigaciones prospectivas que muestran que los trastornos psiquiátricos pueden predecir el acortamiento telomérico, mientras que otros estudios indican que telómeros cortos podrían predisponer a la psicopatología en adultos (133,134). En el presente estudio no fue posible investigar la asociación inversa, ya que no se disponía de datos sobre psicopatología previos a las mediciones de LT.

Otra posible explicación para la falta de asociaciones significativas observadas en nuestro estudio podría estar relacionada con las características de la muestra y limitaciones en el poder estadístico. En particular, la baja prevalencia de problemas internalizantes y externalizantes a los 8 años limitó el número de casos disponibles para el análisis, reduciendo así la capacidad de detectar asociaciones significativas. Además, las mediciones de LT a los 4 y 8 años mostraron una variabilidad mínima, lo que podría haber restringido aún más la posibilidad de detectar asociaciones significativas, incluso si estas existieran.

Asociación entre la LTL y síntomas de TDAH

La evidencia existente sobre la asociación entre la LT y los síntomas de TDAH en la infancia ha mostrado resultados inconsistentes. En el caso de presente tesis doctoral, el análisis combinado de los datos de los proyectos INMA y HELIX no evidenció una asociación significativa. Dos estudios previos informaron asociaciones significativas entre telómeros más cortos y una mayor presencia de síntomas de TDAH, en línea con nuestra hipótesis inicial. Sin embargo, no es posible realizar comparaciones directas entre estos estudios y el nuestro debido a diferencias metodológicas. Por ejemplo, el estudio de Costa et al. (2015) se centró en niños/as diagnosticados con TDAH, mientras que nuestra muestra procede de la población general. Además, su análisis se basó en correlaciones simples entre la dimensión hiperactiva-impulsiva del TDAH con la LT ($r = -0,339$; $p = 0,008$) en niños brasileños de entre 6 y 16 años, sin utilizar modelos múltiples ajustados por posibles variables de confusión (105). Por su parte, un estudio de cohorte de nacimiento en Australia ($n = 676$) observó que la LT a los 12 meses se asociaba inversamente con problemas de atención ($\beta = -0,56$; $p = 0,050$) y problemas de déficit de atención/hiperactividad ($\beta = -0,66$; $p = 0,004$) a los 2 años (94). Sin embargo, ese estudio examinó la asociación entre la LT en lactantes de 1 año y el desarrollo posterior de síntomas de TDAH a los 2 años, mientras que en nuestro estudio ambas variables se midieron simultáneamente.

Otros estudios han reportado resultados opuestos, mostrando una asociación entre telómeros más largos y síntomas de TDAH en niños/as pequeños (95) y adultos jóvenes (106). Sin embargo, estos estudios difieren significativamente del nuestro, ya que la LT fue medida en muestras de saliva bucal en lugar de sangre.

Una posible explicación para la ausencia de una asociación significativa global en nuestro estudio podría estar relacionada con las características de la muestra, compuesta principalmente por niños/as sanos, con una variabilidad reducida en los síntomas de TDAH. De hecho, sólo aproximadamente el 10,0% de los/as niños/as en nuestra muestra presentaron puntuaciones problemáticas indicativas de síntomas compatibles con TDAH (por encima del percentil 80). Observamos los porcentajes más altos de sintomatología problemática de TDAH en los/as niños/as de las cohortes KANC (15,4%) e INMA-Sabadell (13,8%), lo que coincide con las asociaciones estadísticamente significativas observadas en los análisis estratificados. Esta limitada variabilidad en la presentación de síntomas de TDAH en toda la muestra podría haber reducido la potencia estadística para detectar asociaciones significativas.

La mayoría de los estudios que exploran resultados neurocognitivos y LT se han centrado en población adulta, donde se ha documentado diferencias en el envejecimiento cerebral entre individuos sanos de la misma edad. Algunos individuos pueden experimentar un deterioro más pronunciado de las funciones cognitivas y el volumen cerebral con la edad (135). Por ello, las

asociaciones entre telómeros más cortos y este deterioro de las funciones y estructuras cerebrales son más probables en adultos, dado que existe mayor variabilidad interindividual a edades avanzadas (43,44). Esta línea de investigación resalta la variabilidad en el deterioro cognitivo y el volumen cerebral entre adultos sanos, lo que subraya la importancia de comprender cómo la dinámica de los telómeros podría contribuir a las diferencias individuales en el envejecimiento neurocognitivo.

Por su parte, diversos estudios de neuroimagen han identificado alteraciones estructurales, como una reducción global del volumen cerebral del 2,5%, además de diferencias funcionales y neuroquímicas en individuos diagnosticados con TDAH (81,119,136). Estos cambios estructurales y funcionales podrían reflejar procesos neurobiológicos subyacentes influenciados por la neuroinflamación, una característica clave de varios trastornos del neurodesarrollo. La neuroinflamación desempeña un papel importante en el desarrollo de trastornos como el TDAH, implicando distintos mecanismos como la activación de células gliales, aumento del estrés oxidativo, pérdida de función neuronal y cambios en el neurodesarrollo (137,138).

Teniendo en cuenta estos factores, nuestra hipótesis inicial se formuló sobre la base de la idea de que la activación de procesos neuroinflamatorios podría desencadenar la proliferación activa de leucocitos y causar un acortamiento de los telómeros (9,139). Sin embargo, como se ha discutido anteriormente, no encontramos evidencia consistente de esta asociación en nuestra muestra de niños/as, en la que la mayoría de los padres no reportaron síntomas de inatención e hiperactividad. Además, es importante señalar que la LT mostró muy poca variabilidad en nuestro estudio, y solo se contó con una medición, lo cual restringe la capacidad de detectar asociaciones longitudinales. Sería por tanto recomendable, en futuros estudios, contar con mediciones repetidas de LT y síntomas de TDAH a lo largo del tiempo para explorar posibles trayectorias de cambio.

Al analizar las asociaciones por separado para cada proyecto, encontramos una asociación significativa entre la LT y los síntomas de hiperactividad en los/as niños/as del proyecto HELIX. Sin embargo, esta asociación no se observó en los/as niños/as del proyecto INMA. Esta diferencia entre cohortes podría explicarse por factores específicos o características del estilo de vida dentro del contexto socioeconómico y cultural en el que se desarrollan los/as niños/as (140). A pesar de haber tenido en cuenta múltiples variables como factores de confusión, nuestros resultados mostraron una alta heterogeneidad en las asociaciones observadas entre cohortes. Es posible que otros aspectos no detectados estén influyendo en dicha asociación.

La literatura científica actual apoya una etiología multifactorial del TDAH, que incluye la interacción entre condicionantes genéticos y ambientales. Se han identificado genes candidatos asociados con el TDAH, como los genes dopaminérgicos, así como eventos peri-, pre- y

postnatales implicados en el desarrollo del TDAH, incluyendo el estrés materno durante el embarazo, la ingesta de vitamina D, la exposición a contaminantes ambientales, el tabaquismo, entre otros (119).

Además, por último, aunque en nuestro estudio la LT se midió mediante el mismo protocolo de PCR en ambas cohortes, se utilizaron normalizaciones diferentes para las cohortes HELIX e INMA. No obstante, para reducir el impacto de esta diferencia, las asociaciones se estimaron empleando puntuaciones Z específicas por cohorte, lo que permitió su comparación estandarizada en los modelos conjuntos.

Limitaciones y fortalezas del estudio

La investigación desarrollada en esta tesis doctoral presenta tanto limitaciones como fortalezas que deben tenerse en cuenta para la correcta interpretación de los resultados obtenidos.

Entre las principales limitaciones, destaca el método empleado para la medición de la longitud telomérica. El proceso de determinación de la TL, mediante un protocolo de qPCR en muestras sanguíneas, a pesar de ser el método más ampliamente utilizado en estudios epidemiológicos debido a su rentabilidad y rapidez, esta técnica ofrece una estimación promedio de la LT en todas las células nucleadas presentes en sangre periférica, sin discriminar tipos celulares específicos. Además, puede estar sujeta a variabilidad inter-ensayo y errores sistemáticos de medición, incluso cuando se aplican protocolos estandarizados.

Por otro lado, tanto los problemas emocionales y conductuales (evaluados mediante SDQ) como los síntomas de TDAH (evaluados mediante el cuestionario de Connors) fueron reportados por los progenitores. Aunque estos instrumentos están validados y ampliamente utilizados, su uso conlleva el riesgo de sesgos de información, especialmente en síntomas menos observables como la inatención. No obstante, es probable que tales inexactitudes sean no diferenciales respecto a la LT, lo que implicaría un sesgo hacia la nulidad. Sumado a ello, pese a que los modelos de regresión se ajustaron por variables potencialmente confusoras, es posible que existan factores de no identificados o confusión residual, especialmente en un contexto multifactorial como el desarrollo neuropsicológico. Asimismo, algunas asociaciones fueron evaluadas en contextos transversales, lo que limita la posibilidad de establecer relaciones de causalidad o direccionalidad. Aunque se incluyó un enfoque longitudinal para uno de los objetivos, los datos disponibles no permitieron evaluar asociaciones bidireccionales de manera completa.

Respecto a las fortalezas del estudio, cabe destacar el uso de datos procedentes de estudios de cohorte de nacimiento longitudinales (proyectos INMA y HELIX) que recogieron información detallada desde el periodo prenatal hasta la infancia. Esta amplia caracterización de la muestra, que incluye factores sociodemográficos, ambientales, conductuales y clínicos, permite un ajuste

riguroso por potenciales factores de confusión y reduce la probabilidad de sesgos de recuerdo o selección, lo que refuerza la solidez de nuestros hallazgos.

En cuanto a la evaluación neuropsicológica, se utilizaron instrumentos estandarizados y validados para la población de estudio, administrados por profesionales entrenados, lo que garantiza la validez de las pruebas y la calidad de la información.

Además, en el caso del segundo objetivo (LT y área socioemocional), otra fortaleza destacable es la disponibilidad de mediciones de LT en dos momentos (a los 4 y 8 años), lo que permitió establecer un enfoque longitudinal, ofreciendo una comprensión más realista de la posible relación entre la LT y los síntomas psicoemocionales en niños/as, aportando una perspectiva más matizada sobre posibles procesos acumulativos o dinámicos.

Asimismo, para responder al tercer objetivo de la tesis (LT y TDAH), se amplió considerablemente el tamaño muestral mediante la inclusión de datos del estudio HELIX, integrando participantes de varias cohortes europeas. Esta estrategia aumentó la potencia estadística y permitió explorar la asociación en un contexto multicéntrico, con mayor variabilidad geográfica y sociocultural. No obstante, cabe destacar que la diversidad de la muestra se limitó principalmente al ámbito geográfico, ya que no se recogieron datos específicos sobre etnicidad o raza. Dado el origen europeo de las cohortes participantes, es probable que la población del estudio sea predominantemente de ascendencia europea/caucásica, lo que limita la generalización de los hallazgos a poblaciones con otros antecedentes étnicos o raciales. En este sentido, futuras investigaciones deberían replicar estos hallazgos en cohortes más diversas étnicamente para asegurar una aplicabilidad más amplia.

Por último, esta tesis representa uno de los estudios con mayor tamaño muestral en el campo de la investigación sobre LT y desarrollo neuropsicológico infantil, lo que le confiere mayor precisión estadística respecto a estudios previos, generalmente limitados por muestras reducidas.

CONCLUSIONES

En relación con los objetivos planteados en la presente tesis doctoral, los resultados obtenidos permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. Una mayor LTL se asocia significativamente con una puntuación más alta en la memoria de trabajo en niños/as de 4 años.
2. Una mayor LTL se asocia marginalmente con una mayor puntuación en el índice cuantitativo en niños/as de 4 años.
3. No se observaron otras asociaciones significativas entre una mayor LTL y el resto de los dominios cognitivos y psicomotores en niños/as de 4 años.
4. No se observaron asociaciones significativas entre una mayor LTL y los problemas socioemocionales a los 4 y 8 años, ni en los cambios entre ambos momentos.
5. No se observaron asociaciones significativas entre una mayor LTL y los síntomas de TDAH en niños/as europeos de entre 6 y 12 años.
6. En el estudio europeo HELIX se observó una asociación significativa entre una mayor LTL y un menor riesgo de síntomas de hiperactividad, asociación que no se corroboró en los datos de la cohorte INMA ni en el análisis conjunto.

CONCLUSIONS

In relation to the objectives proposed in this doctoral thesis, the results obtained lead to the following conclusions:

1. A higher LTL is significantly associated with higher working memory scores in 4-year-old children.
2. A higher LTL is marginally associated with higher scores in the quantitative index in 4-year-old children.
3. No other significant associations were observed between higher LTL and the remaining cognitive and psychomotor domains in 4-year-olds.
4. No significant associations were observed between higher LTL and socioemotional problems at ages 4 or 8, nor with changes between these ages.
5. No significant associations were observed between higher LTL and ADHD symptoms in European children aged 6 to 12.
6. A significant association was observed in the European HELIX study between higher LTL and a lower risk of hyperactivity symptoms, although this was not corroborated in the INMA cohort data or in the overall analysis.

IMPLICACIONES PARA LA SALUD PÚBLICA

Los hallazgos de la presente tesis doctoral se suman al creciente cuerpo de conocimiento que estudia la longitud telomérica como un posible biomarcador del estado de salud de la población, y específicamente del desarrollo neuropsicológico infantil. Esta investigación contribuye al avance en la investigación en salud pública al explorar una dimensión biológica que podría ofrecer nuevas vías para la vigilancia y la intervención en salud infantil.

Las investigaciones que componen esta tesis ponen el foco en la infancia, una etapa crítica para el desarrollo cerebral y emocional, así como para la consolidación de trayectorias de salud a lo largo de la vida. En este sentido, la infancia representa una ventana de oportunidad clave para la prevención y promoción de futuras enfermedades. Aunque nuestros resultados han identificado asociaciones limitadas —como el posible efecto beneficioso de una mayor LTL sobre el rendimiento en las tareas de memoria de trabajo—, estos hallazgos abren nuevas preguntas sobre los mecanismos psicobiológicos subyacentes que vinculan el envejecimiento celular temprano con el neurodesarrollo.

Para que la LTL pueda considerarse un psicobiomarcador válido y útil en salud pública, será necesario desarrollar estudios longitudinales con múltiples puntos de seguimiento durante la infancia y adolescencia, que evalúen no solo el nivel basal de LT, sino también su evolución a lo largo del tiempo. Esta aproximación permitiría detectar trayectorias atípicas de acortamiento telomérico que podrían reflejar procesos biológicos adversos como la exposición crónica al estrés, la inflamación o ambientes desfavorables, contribuyendo así a identificar precozmente poblaciones en riesgo.

Además, la posibilidad de utilizar la LTL como herramienta de cribado o monitorización en entornos clínicos o poblacionales debe valorarse cuidadosamente, considerando su viabilidad técnica, sensibilidad, especificidad y coste-beneficio. A largo plazo, la inclusión de biomarcadores como la LT en sistemas de vigilancia epidemiológica podría fortalecer las estrategias de medicina preventiva y personalizada, anticipando la aparición de alteraciones en el neurodesarrollo y facilitando una intervención más temprana y eficaz.

Desde una perspectiva de equidad, también es relevante seguir explorando cómo factores sociales, ambientales y conductuales —como la exposición a contaminantes, el nivel socioeconómico, el estrés psicosocial o los hábitos de vida durante el embarazo y la infancia— influyen en la dinámica telomérica. Comprender estas interacciones permitirá diseñar políticas públicas más integrales y sensibles al contexto, capaces de actuar sobre los determinantes sociales de la salud desde las etapas más tempranas del ciclo vital.

En resumen, esta tesis ofrece una contribución inicial al conocimiento sobre el papel potencial de la LTL como indicador temprano de salud infantil. Aunque los resultados son aún preliminares y deben interpretarse con cautela, abren nuevas líneas de investigación para el desarrollo de biomarcadores aplicables en salud pública y subrayan la necesidad de enfoques preventivos e intersectoriales centrados en los primeros años de vida como base para una salud colectiva más sostenible y equitativa.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Turner KJ, Vasu V, Griffin DK. Telomere Biology and Human Phenotype. *Cells*. 2019;8(1):73.
2. Chalikian TV, Liu L, Macgregor RB Jr. Duplex-tetraplex equilibria in guanine- and cytosine-rich DNA. *Biophys Chem*. 2020;267:106473.
3. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev*. 2008;88(2):557-79.
4. Blackburn EH, Epel ES, Lin J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*. 2015;350(6265):1193-8.
5. Caporaso GL, Chao MV. Telomerase and oligodendrocyte differentiation. *J Neurobiol*. 2001;49(3):224-34.
6. Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nat Rev Genet*. 2019;20(5):299-309.
7. Gladych M, Wojtyła A, Rubis B. Human telomerase expression regulation. *Biochem Cell Biol*. 2011;89(4):359-76.
8. de Lange T. Shelterin-Mediated Telomere Protection. *Annu Rev Genet*. 2018;52:223-47.
9. Zhang J, Rane G, Dai X, Shanmugam MK, Arfuso F, Samy RP, et al. Ageing and the telomere connection: An intimate relationship with inflammation. *Ageing Res Rev*. 2016;25:55-69.
10. Njajou OT, Hsueh WC, Blackburn EH, Newman AB, Wu SH, Li R, et al. Association Between Telomere Length, Specific Causes of Death, and Years of Healthy Life in Health, Aging, and Body Composition, a Population-Based Cohort Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64A(8):860-4.
11. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The Hallmarks of Aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-217.
12. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet*. 2021;11:630186.
13. Lu WH. Effect of Modifiable Lifestyle Factors on Biological Aging. *JAR Life*. 2024;13:88-92.

14. Codd V, Mangino M, van der Harst P, Braund PS, Kaiser M, Beveridge AJ, et al. Common variants near TERC are associated with mean telomere length. *Nat Genet.* 2010;42(3):197-9.
15. Bountziouka V, Musicha C, Allara E, Kaptoge S, Wang Q, Angelantonio ED, et al. Modifiable traits, healthy behaviours, and leukocyte telomere length: a population-based study in UK Biobank. *Lancet Healthy Longev.* 2022;3(5):e321-31.
16. Moix S, Sadler MC, Kutalik Z, Auwerx C. Breaking down causes, consequences, and mediating effects of telomere length variation on human health. *Genome Biol.* 2024;25(1):125.
17. Vyas CM, Ogata S, Reynolds CF, Mischoulon D, Chang G, Cook NR, et al. Telomere length and its relationships with lifestyle and behavioural factors: variations by sex and race/ethnicity. *Age Ageing.* 2021;50(3):838-46.
18. Correia-Melo C, Hewitt G, Passos JF. Telomeres, oxidative stress and inflammatory factors: partners in cellular senescence? *Longev Healthspan.* 2014;3:1.
19. Barragán R, Ortega-Azorín C, Sorlí JV, Asensio EM, Coltell O, St-Onge MP, et al. Effect of Physical Activity, Smoking, and Sleep on Telomere Length: A Systematic Review of Observational and Intervention Studies. *J Clin Med.* 2021;11(1):76.
20. Schellnegger M, Lin AC, Hammer N, Kamolz LP. Physical Activity on Telomere Length as a Biomarker for Aging: A Systematic Review. *Sports Med Open.* 2022;8(1):111.
21. Canudas S, Becerra-Tomás N, Hernández-Alonso P, Galié S, Leung C, Crous-Bou M, et al. Mediterranean Diet and Telomere Length: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr.* 2020;11(6):1544-54.
22. Fan J, Yu C, Pang Y, Guo Y, Pei P, Sun Z, et al. Adherence to Healthy Lifestyle and Attenuation of Biological Aging in Middle-Aged and Older Chinese Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2021;76(12):2232-41.
23. Zhang R, Wu M, Zhang W, Liu X, Pu J, Wei T, et al. Association between life's essential 8 and biological ageing among US adults. *J Transl Med.* 2023;21(1):622.
24. Ye Q, Apsley AT, Etzel L, Hastings WJ, Kozlosky JT, Walker C, et al. Telomere length and chronological age across the human lifespan: A systematic review and meta-analysis of 414 study samples including 743,019 individuals. *Ageing Res Rev.* 2023;90:102031.

25. Aubert G, Baerlocher GM, Vulto I, Poon SS, Lansdorp PM. Collapse of Telomere Homeostasis in Hematopoietic Cells Caused by Heterozygous Mutations in Telomerase Genes. *PLoS Genet.* 2012;8(5):e1002696.
26. Aubert G. Telomere dynamics and aging. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2014;125:89-111.
27. Chen L, Tan KML, Gong M, Chong MFF, Tan KH, Chong YS, et al. Variability in newborn telomere length is explained by inheritance and intrauterine environment. *BMC Medicine.* 2022;20(1):20.
28. Osorio-Yáñez C, Clemente DBP, Maitre L, Vives-Usano M, Bustamante M, Martinez D, et al. Early life tobacco exposure and children's telomere length: The HELIX project. *Sci Total Environ.* 2020;711:135028.
29. Martens DS, Van Der Stukken C, Derom C, Thiery E, Bijmens EM, Nawrot TS. Newborn telomere length predicts later life telomere length: Tracking telomere length from birth to child- and adulthood. *EBioMedicine.* 2021;63:103164.
30. Clemente DBP, Maitre L, Bustamante M, Chatzi L, Roumeliotaki T, Fossati S, et al. Obesity is associated with shorter telomeres in 8 year-old children. *Sci Rep.* 2019;9(1):18739.
31. Wang Q, Zhan Y, Pedersen NL, Fang F, Hägg S. Telomere Length and All-Cause Mortality: A Meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2018;48:11-20.
32. Smith L, Luchini C, Demurtas J, Soysal P, Stubbs B, Hamer M, et al. Telomere length and health outcomes: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *Ageing Res Rev.* 2019;51:1-10.
33. De Meyer T, Nawrot T, Bekaert S, De Buyzere ML, Rietzschel ER, Andrés V. Telomere Length as Cardiovascular Aging Biomarker: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(7):805-13.
34. Zeng Z, Zhang W, Qian Y, Huang H, Wu DJH, He Z, et al. Association of telomere length with risk of rheumatoid arthritis: a meta-analysis and Mendelian randomization. *Rheumatology (Oxford).* 2020;59(5):940-7.
35. He X, Cao L, Fu X, Wu Y, Wen H, Gao Y, et al. The Association Between Telomere Length and Diabetes Mellitus: Accumulated Evidence From Observational Studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2024;110(1):e177-85.
36. Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, Savage SA. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(6):1238-50.

37. Zhan Y, Song C, Karlsson R, Tillander A, Reynolds CA, Pedersen NL, et al. Telomere Length Shortening and Alzheimer Disease—A Mendelian Randomization Study. *JAMA Neurol.* 2015;72(10):1202-3.
38. Darrow SM, Verhoeven JE, Révész D, Lindqvist D, Penninx BWJH, Delucchi KL, et al. The Association between Psychiatric Disorders and Telomere Length: A Meta-Analysis Involving 14,827 Persons. *Psychosom Med.* 2016;78(7):776-87.
39. Powell TR, De Jong S, Breen G, Lewis CM, Dima D. Telomere length as a predictor of emotional processing in the brain. *Hum Brain Mapp.* 2019;40(6):1750-9.
40. Epel ES. Telomeres in a Life-Span Perspective: A New “Psychobiomarker”? *Curr Dir Psychol Sci.* 2009;18(1):6-10.
41. Epel ES, Prather AA. Stress, Telomeres, and Psychopathology: Toward a Deeper Understanding of a Triad of Early Aging. *Annu Rev Clin Psychol.* 2018;14:371-97.
42. Sahin E, Colla S, Liesa M, Moslehi J, Müller FL, Guo M, et al. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature.* 2011;470(7334):359-65.
43. Gampawar P, Schmidt R, Schmidt H. Telomere length and brain aging: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2022;80:101679.
44. Cao Z, Hou Y, Xu C. Leucocyte telomere length, brain volume and risk of dementia: a prospective cohort study. *Gen Psych.* 2023;36(4):e101120.
45. Malouff JM, Schutte NS. A meta-analysis of the relationship between anxiety and telomere length. *Anxiety Stress Coping.* 2017;30(3):264-72.
46. Ridout KK, Ridout SJ, Price LH, Sen S, Tyrka AR. Depression and telomere length: A meta-analysis. *J Affect Disord.* 2016;191:237-47.
47. Zhang H, Zhou J, Cao Y, Zhang X, Chang H, Zhao Y, et al. Association between telomere length and psychiatric disorders: a bidirectional Mendelian randomization study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2025.
48. Cao Z, Hou Y, Xu C. Leucocyte telomere length, brain volume and risk of dementia: a prospective cohort study. *Gen Psychiatr.* 2023;36(4):e101120.
49. Levstek T, Kozjek E, Dolžan V, Trebušak Podkrajšek K. Telomere Attrition in Neurodegenerative Disorders. *Front Cell Neurosci.* 2020;14:219.
50. Kordinas V, Ioannidis A, Chatzipanagiotou S. The Telomere/Telomerase System in Chronic Inflammatory Diseases. Cause or Effect? *Genes (Basel).* 2016;7(9):60.

51. Demanelis K, Jasmine F, Chen LS, Chernoff M, Tong L, Delgado D, et al. Determinants of telomere length across human tissues. *Science*. 2020;369(6509):eaaz6876.
52. Lai TP, Wright WE, Shay JW. Comparison of telomere length measurement methods. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2018;373(1741):20160451.
53. Montpetit AJ, Alhareeri AA, Montpetit M, Starkweather AR, Elmore LW, Filler K, et al. Telomere Length: A Review of Methods for Measurement. *Nurs Res*. 2014;63(4):289-99.
54. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990;345(6274):458-60.
55. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res*. 2009;37(3):e21.
56. Baerlocher GM, Vulto I, de Jong G, Lansdorp PM. Flow cytometry and FISH to measure the average length of telomeres (flow FISH). *Nat Protoc*. 2006;1(5):2365-76.
57. Rufer N, Dragowska W, Thornbury G, Roosnek E, Lansdorp PM. Telomere length dynamics in human lymphocyte subpopulations measured by flow cytometry. *Nat Biotechnol*. 1998;16(8):743-7.
58. Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D, Kipling D. Extensive allelic variation and ultrashort telomeres in senescent human cells. *Nat Genet*. 2003;33(2):203-7.
59. Stiles J. *The Fundamentals of Brain Development: Integrating Nature and Nurture*. Harvard University Press; 2008. 452 p.
60. Stiles J, Jernigan TL. The Basics of Brain Development. *Neuropsychol Rev*. 2010;20(4):327-48.
61. Stiles J. Principles of brain development. *Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci*. 2017;8(1-2).
62. Rosselli M, Matute E, Ardila A. *Neuropsicología del desarrollo infantil*. Editorial El Manual Moderno; 2010. 407 p.
63. Barr WB. Historical Trends in Neuropsychological Assessment. En: *Textbook of Clinical Neuropsychology*. 2.^a ed. Taylor & Francis; 2017.
64. Likhar A, Baghel P, Patil M. Early Childhood Development and Social Determinants. *Cureus*. 14(9):e29500.
65. Black MM, Walker SP, Fernald LCH, Andersen CT, DiGirolamo AM, Lu C, et al. Early childhood development coming of age: science through the life course. *The Lancet*. 2017;389(10064):77-90.

66. Hair NL, Hanson JL, Wolfe BL, Pollak SD. Association of Child Poverty, Brain Development, and Academic Achievement. *JAMA Pediatr.* 2015;169(9):822-9.
67. Forns J, Aranbarri A, Grelhier J, Julvez J, Vrijheid M, Sunyer J. A conceptual framework in the study of neuropsychological development in epidemiological studies. *Neuroepidemiology.* 2012;38(4):203-8.
68. Valla L, Wentzel-Larsen T, Hofoss D, Slinning K. Prevalence of suspected developmental delays in early infancy: results from a regional population-based longitudinal study. *BMC Pediatr.* 2015;15(1):215.
69. Lakshmi NRA, Deshmukh PR, Tripathy JP, Dahake U. Prevalence and Determinants of Developmental Delay in Children of 12–36 Months in the Area of Primary Health Centre, Bela, Nagpur. *Indian J Public Health.* 2024;68(3):355.
70. Petersen MC, Kube DA, Palmer FB. Classification of developmental delays. *Semin Pediatr Neurol.* 1998;5(1):2-14.
71. Mithyantha R, Kneen R, McCann E, Gladstone M. Current evidence-based recommendations on investigating children with global developmental delay. *Arch Dis Child.* 2017;102(11):1071-6.
72. Riou EM, Ghosh S, Francoeur E, Shevell MI. Global developmental delay and its relationship to cognitive skills. *Dev Med Child Neurol.* 2009;51(8):600-6.
73. Shevell M, Majnemer A, Platt RW, Webster R, Birnbaum R. Developmental and Functional Outcomes at School Age of Preschool Children With Global Developmental Delay. *J Child Neurol.* 2005;20(8):648-54.
74. Achenbach TM, Ivanova MY, Rescorla LA, Turner LV, Althoff RR. Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2016;55(8):647-56.
75. Aymerich C, Pedruzo B, Pacho M, Herrero J, Laborda M, Bordenave M, et al. Relationship between elimination disorders and internalizing-externalizing problems in children: A systematic review and meta-analysis. *JCPP Adv.* 2023;3(3):e12185.
76. Vasileva M, Graf RK, Reinelt T, Petermann U, Petermann F. Research review: A meta-analysis of the international prevalence and comorbidity of mental disorders in children between 1 and 7 years. *J Child Psychol Psychiatry.* 2021;62(4):372-81.

77. Polanczyk GV, Salum GA, Sugaya LS, Caye A, Rohde LA. Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *J Child Psychol Psychiatry*. 2015;56(3):345-65.
78. Francés L, Quintero J, Fernández A, Ruiz A, Caules J, Fillon G, et al. Current state of knowledge on the prevalence of neurodevelopmental disorders in childhood according to the DSM-5: a systematic review in accordance with the PRISMA criteria. *Child Adolesc Psychiatry Ment Health*. 2022;16(1):27.
79. Bishop DVM. Which Neurodevelopmental Disorders Get Researched and Why? *PLoS One*. 2010;5(11):e15112.
80. Salari N, Ghasemi H, Abdoli N, Rahmani A, Shiri MH, Hashemian AH, et al. The global prevalence of ADHD in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Ital J Pediatr*. 2023;49(1):48.
81. Doernberg E, Hollander E. Neurodevelopmental Disorders (ASD and ADHD): DSM-5, ICD-10, and ICD-11. *CNS Spectrums*. 2016;21(4):295-9.
82. Wann Arachchige Dona S, Badloe N, Sciberras E, Gold L, Coghill D, Le HND. The Impact of Childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) on Children's Health-Related Quality of Life: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Atten Disord*. 2023;10870547231155438.
83. Klein RG, Mannuzza S, Olazagasti MAR, Roizen E, Hutchison JA, Lashua EC, et al. Clinical and functional outcome of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder 33 years later. *Arch Gen Psychiatry*. 2012;69(12):1295-303.
84. Baron IS, Baron IS. *Neuropsychological Evaluation of the Child: Domains, Methods, and Case Studies*. Second Edition, Second Edition. Oxford, New York: Oxford University Press; 2018. 1064 p.
85. Balasundaram P, Avulakunta ID. Bayley Scales Of Infant and Toddler Development. 2022 Nov 21. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.
86. Roid GH, Sampers JL. Merrill-Palmer-Revised Scales of Development [Internet]. 2012 [citado 15 de abril de 2025]. Disponible en: <https://doi.apa.org/doi/10.1037/t06030-000>
87. Santana AC, Rojas M, Pacheco JS. Prueba: Escalas McCarthy de Aptitudes y Psicomotricidad para niños. *Avances en medición*. 2006;4(1):148-9.
88. Brooks BL, Sherman EMS, Strauss E. *NEPSY-II: A Developmental Neuropsychological Assessment, Second Edition*. *Child Neuropsychol*. 2009;16(1):80-101.

89. Fray PJ, Robbins TW, Sahakian BJ. Neuropsychiatric applications of CANTAB. *Int. J. Geriatr. Psychiatry.* 1996;11(4):329-36.
90. Proger BB. Test Review No. 17: California Preschool Social Competency Scale. *J Spec Educ.* 1974;8(4):391-5.
91. Goodman R. The Strengths and Difficulties Questionnaire: a research note. *J Child Psychol Psychiatry.* 1997;38(5):581-6.
92. Hudziak JJ, Wadsworth ME, Heath AC, Achenbach TM. Latent class analysis of Child Behavior Checklist attention problems. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1999;38(8):985-91.
93. Essex MJ, Boyce WT, Goldstein LH, Armstrong JM, Kraemer HC, Kupfer DJ. The Confluence of Mental, Physical, Social, and Academic Difficulties in Middle Childhood. II: Developing the MacArthur Health and Behavior Questionnaire. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2002;41(5):588-603.
94. Pham C, Vryer R, O'Hely M, Mansell T, Burgner D, Collier F, et al. Shortened Infant Telomere Length Is Associated with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms in Children at Age Two Years: A Birth Cohort Study. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):4601.
95. Howell MP, Jones CW, Herman CA, Mayne CV, Fernandez C, Theall KP, et al. Impact of prenatal tobacco smoking on infant telomere length trajectory and ADHD symptoms at 18 months: a longitudinal cohort study. *BMC Med.* 2022;20(1):153.
96. Amador-Campos J, Alecha MÁI, García JS, Espadaler J, Santacana M. Utility of Conners Rating Scales to differentiate between subjects with and without Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Psicothema.* 2002;14:350-6.
97. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(49):17312-5.
98. Kılıçoğlu AG, Zadehgan Afshord T, Derin S, Ertas E, Coskun P, Aktas S, et al. Comparison of Possible Changes in Oxidative Stress, DNA Damage, and Inflammatory Markers in Children/Adolescents Diagnosed with Sluggish Cognitive Tempo and Children/Adolescents Diagnosed with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2023.
99. Feiler MO, Patel D, Li H, Meacham PJ, Watson GE, Shamlaye C, et al. The Association between Early-life Relative Telomere Length and Childhood Neurodevelopment. *Neurotoxicology.* 2018;65:22-7.

100. Croons H, Martens DS, Vanderstukken C, Sleurs H, Rasking L, Peusens M, et al. Telomere length in early childhood and its association with attention: a study in 4-6 year old children. *Front Pediatr.* 2024;12:1358272.
101. Kroenke CH, Epel E, Adler N, Bush NR, Obradovic J, Lin J, et al. Autonomic and adrenocortical reactivity and buccal cell telomere length in kindergarten children. *Psychosom Med.* 2011;73(7):533-40.
102. Wade M, Fox NA, Zeanah CH, Nelson CA, Drury SS. Telomere Length and Psychopathology: Specificity and Direction of Effects Within the Bucharest Early Intervention Project. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2020;59(1):140-148.e3.
103. Robinson O, Lau CE, Joo S, Andrusaityte S, Borrás E, de Prado-Bert P, et al. Associations of four biological age markers with child development: A multi-omic analysis in the European HELIX cohort. *Elife.* 2023;12:e85104.
104. Wojcicki JM, Heyman MB, Elwan D, Shiboski S, Lin J, Blackburn E, et al. Telomere length is associated with oppositional defiant behavior and maternal clinical depression in Latino preschool children. *Transl Psychiatry.* 2015;5(6):e581.
105. Costa D de S, Rosa DVF, Barros AGA, Romano-Silva MA, Malloy-Diniz LF, Mattos P, et al. Telomere length is highly inherited and associated with hyperactivity-impulsivity in children with attention deficit/hyperactivity disorder. *Front Mol Neurosci.* 2015;8:28.
106. Momany AM, Lussier S, Nikolas MA, Stevens H. Telomere Length and ADHD Symptoms in Young Adults. *J Atten Disord.* 2021;25(7):906-19.
107. Guxens M, Ballester F, Espada M, Fernández MF, Grimalt JO, Ibarluzea J, et al. Cohort Profile: the INMA--Infancia y Medio Ambiente--(Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol.* 2012;41(4):930-40.
108. Vrijheid M, Slama R, Robinson O, Chatzi L, Coen M, van den HP, et al. The Human Early-Life Exposome (HELIX): Project Rationale and Design. *Environ Health Perspect.* 2014;122(6):535-44.
109. Martens DS, Janssen BG, Bijmens EM, Clemente DBP, Vineis P, Plusquin M, et al. Association of Parental Socioeconomic Status and Newborn Telomere Length. *JAMA Netw Open.* 2020;3(5):e204057.
110. Telomere Research Network [Internet]. [citado 3 de junio de 2024]. Study Design & Analysis. Disponible en: <https://trn.tulane.edu/resources/study-design-analysis/>

111. Verhulst S. Improving comparability between qPCR-based telomere studies. *Mol Ecol Resour.* 2020;20(1):11-3.
112. Andiarena A, Balluerka N, Gorostiaga A, Ibarluzea J. Neuropsychological Assessment at Preschool Age: Adaptation and Validation of the McCarthy Scales of Children's Abilities to 4 Year-old Basque-speaking Children. *Span J Psychol.* 2017;20:E49.
113. Julvez J, Forns M, Ribas-Fitó N, Torrent M, Sunyer J. Attention behavior and hyperactivity and concurrent neurocognitive and social competence functioning in 4-year-olds from two population-based birth cohorts. *Eur Psychiatry.* 2011;26(6):381-9.
114. Becker G. Creating Comparability among Reliability Coefficients: The Case of Cronbach Alpha and Cohen Kappa. *Psychol Rep.* 2000;87(3_suppl):1171-1182E.
115. Rodríguez Hernández PJ, Betancort Montesinos M, Ramírez Santana GM, García R, Sanz Álvarez EJ, Cuevas Castresana C de las. Psychometric properties of the parent and teacher versions of the Strength and Difficulties Questionnaire (SDQ) in a Spanish sample. *International journal of clinical and health psychology.* 2012;12(2):265-79.
116. Morales-Hidalgo P, Hernández-Martínez C, Vera M, Voltas N, Canals J. Psychometric properties of the Conners-3 and Conners Early Childhood Indexes in a Spanish school population. *Int J Clin Health Psychol.* 2017;17(1):85-96.
117. Gorenjak V, Petrelis AM, Stathopoulou MG, Visvikis-Siest S. Telomere length determinants in childhood. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(2):162-77.
118. O'Connor G, Julvez J, Fernandez-Barrés S, Navarrete-Muñoz EM, Murcia M, Tardón A, et al. Association of Lifestyle Factors and Neuropsychological Development of 4-Year-Old Children. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(16):5668.
119. Vázquez-González D, Carreón-Trujillo S, Alvarez-Arellano L, Abarca-Merlin DM, Domínguez-López P, Salazar-García M, et al. A Potential Role for Neuroinflammation in ADHD. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1411:327-56.
120. Valdes AM, Deary IJ, Gardner J, Kimura M, Lu X, Spector TD, et al. Leukocyte telomere length is associated with cognitive performance in healthy women. *Neurobiol Aging.* 2010;31(6):986-92.
121. Leibel DK, Shaked D, Beatty Moody DL, Liu HB, Weng NP, Evans MK, et al. Telomere length and cognitive function: Differential patterns across sociodemographic groups. *Neuropsychology.* 2020;34(2):186-98.

122. Tucker-Drob EM. Global and Domain-Specific Changes in Cognition throughout Adulthood. *Dev Psychol.* 2011;47(2):331-43.
123. Kokosi T, Flouri E, Midouhas E. The role of inflammation in the association between poverty and working memory in childhood. *Psychoneuroendocrinology.* 2021;123:105040.
124. Salthouse TA. Contributions of the Individual Differences Approach to Cognitive Aging. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.* 2017;72(1):7-15.
125. Chai WJ, Abd Hamid AI, Abdullah JM. Working Memory From the Psychological and Neurosciences Perspectives: A Review. *Front Psychol.* 2018;9:401.
126. Kim HJ, Kim HR, Jin JC, Han DH, Kim SM. Body Mass Index and Somatic Symptom Severity in Patients with Somatic Symptom Disorder: The Mediating Role of Working Memory. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2021;19(2):361-6.
127. Prasad KN, Wu M, Bondy SC. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mech Ageing Dev.* 2017;164:61-6.
128. Petermann-Rocha F, Valera-Gran D, Fernández-Pires P, Martens DS, Júlvez J, Rodríguez-Dehli C, et al. Children who sleep more may have longer telomeres: evidence from a longitudinal population study in Spain. *Pediatr Res.* 2023;93(5):1419-24.
129. van der Burg JW, Sen S, Chomitz VR, Seidell JC, Leviton A, Dammann O. The role of systemic inflammation linking maternal BMI to neurodevelopment in children. *Pediatr Res.* 2016;79(1-1):3-12.
130. Cullen AE, Tappin BM, Zunszain PA, Dickson H, Roberts RE, Nikkheslat N, et al. The relationship between salivary C-reactive protein and cognitive function in children aged 11-14years: Does psychopathology have a moderating effect? *Brain Behav Immun.* 2017;66:221-9.
131. Alarcón G, Ray S, Nagel BJ. Lower Working Memory Performance in Overweight and Obese Adolescents Is Mediated by White Matter Microstructure. *J Int Neuropsychol Soc.* 2016;22(3):281-92.
132. Wolkowitz OM, Mellon SH, Epel ES, Lin J, Dhabhar FS, Su Y, et al. Leukocyte Telomere Length in Major Depression: Correlations with Chronicity, Inflammation and Oxidative Stress - Preliminary Findings. *PLoS One.* 2011;6(3):e17837.
133. Shalev I, Moffitt TE, Braithwaite AW, Danese A, Fleming NI, Goldman-Mellor S, et al. Internalizing disorders and leukocyte telomere erosion: a prospective study of depression,

generalized anxiety disorder and post-traumatic stress disorder. *Mol Psychiatry*. 2014;19(11):1163-70.

134. Phillips AC, Robertson T, Carroll D, Der G, Shiels PG, McGlynn L, et al. Do symptoms of depression predict telomere length? Evidence from the west of Scotland twenty-07 study. *Psychosom Med*. 2013;75(3):288-96.
135. Cole JH, Marioni RE, Harris SE, Deary IJ. Brain age and other bodily 'ages': implications for neuropsychiatry. *Mol Psychiatry*. 2019;24(2):266-81.
136. Baroni A, Castellanos FX. Neuroanatomic and cognitive abnormalities in attention-deficit/hyperactivity disorder in the era of «high definition» neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol*. 2015;30:1-8.
137. Alvarez-Arellano L, González-García N, Salazar-García M, Corona JC. Antioxidants as a Potential Target against Inflammation and Oxidative Stress in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(2):176.
138. Corona JC. Role of Oxidative Stress and Neuroinflammation in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(11):1039.
139. Scarabino D, Peconi M, Broglio E, Gambina G, Maggi E, Armeli F, et al. Relationship between proinflammatory cytokines (Il-1beta, Il-18) and leukocyte telomere length in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*. 2020;136:110945.
140. Rentscher KE, Carroll JE, Mitchell C. Psychosocial Stressors and Telomere Length: A Current Review of the Science. *Annu Rev Public Health*. 2020;41:223-245.



ANEXO 1. Artículo correspondiente a la Publicación I.

European Child & Adolescent Psychiatry
<https://doi.org/10.1007/s00787-023-02361-y>

ORIGINAL CONTRIBUTION

Association between telomere length and neuropsychological function at 4–5 years in children from the INMA project: a cross-sectional study

European Child & Adolescent Psychiatry

PEDIATRICS Q1 (D1)

Factor de impacto: 6,0



Association between telomere length and neuropsychological function at 4–5 years in children from the INMA project: a cross-sectional study

Irene Campos-Sánchez¹ · Eva María Navarrete-Muñoz^{1,2,3} · Miriam Hurtado-Pomares^{1,2} · Jordi Júlvez^{4,5,6} · Nerea Lertxundi^{6,7,8} · Dries S. Martens⁹ · Ana Fernández-Somoano^{6,10,11} · Isolina Riaño-Galán^{6,11,12} · Mònica Guxens^{5,6,13,14} · Jesús María Ibarluzea^{6,7,8,15} · Tim Nawrot⁹ · Desirée Valera-Gran^{1,2}

Received: 22 December 2022 / Accepted: 17 December 2023
© The Author(s) 2024

Abstract

Shortened telomere length (TL) has been associated with lower cognitive performance, different neurological diseases in adults, and certain neurodevelopmental disorders in children. However, the evidence about the association between TL and neuropsychological developmental outcomes in children from the general population is scarce. Therefore, this study aimed to explore the association between TL and neuropsychological function in children 4–5 years of age. We included 686 children from the INMA Project, a population-based birth cohort in Spain. Leucocyte TL was determined by quantitative PCR method, and neuropsychological outcomes were measured using the McCarthy Scales of Children's Abilities (MCSA). Multiple linear regression models were used to estimate associations adjusted for potential confounding variables. Main findings showed that a longer TL was associated with a higher mean working memory score ($\beta = 4.55$; 95% CI = 0.39, 8.71). In addition, longer TL was associated with a higher mean global quantitative score ($\beta = 3.85$; 95% CI = -0.19, 7.89), although the association was marginally significant. To our knowledge, this is the first study that shows a positive association between TL and better neuropsychological outcomes in children. Although further research is required to confirm these results, this study supports the hypothesis that TL is essential in protecting and maintaining a child's health, including cognitive functions such as working memory.

Keywords Telomere length · Neuropsychological function · Working memory · Children

✉ Eva María Navarrete-Muñoz
enavarrete@umh.es

¹ Department of Surgery and Pathology, Miguel Hernandez University, Alicante, Spain

² Grupo de Investigación en Terapia Ocupacional (InTeO), Miguel Hernandez University, Alicante, Spain

³ Alicante Institute for Health and Biomedical Research, Alicante, Spain

⁴ Clinical and Epidemiological Neuroscience (NeuroÈpia), Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Spain

⁵ ISGlobal, Barcelona, Spain

⁶ Spanish Consortium for Research on Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

⁷ Environmental Epidemiology and Child Development Group, Biodonostia Health Research Institute, San Sebastian, Spain

⁸ School of Psychology, University of the Basque Country, UPV/EHU, San Sebastián, Spain

⁹ Centre for Environmental Sciences, Hasselt University, Hasselt, Belgium

¹⁰ Instituto Universitario de Oncología Del Principado de Asturias (IUOPA) – Departamento de Medicina, Universidad de Oviedo, Oviedo, Asturias, Spain

¹¹ Instituto de Investigación Sanitaria Del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, Spain

¹² Servicio de Pediatría, Endocrinología Pediátrica, HUCA, Oviedo, Asturias, Spain

¹³ Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

¹⁴ Department of Child and Adolescent Psychiatry/Psychology, Erasmus MC, University Medical Centre, Rotterdam, The Netherlands

¹⁵ Sub-Directorate for Public Health and Addictions of Gipuzkoa, Ministry of Health of the Basque Government, Donostia-San Sebastian, Spain

Background

The telomere is a protective non-coding DNA–protein complex at the ends of chromosomes. The primary function of the telomere is to protect and preserve the information in our genome [1, 2]. The telomere length (TL) naturally decreases with age due to cell division processes. However, if the TL becomes critically short, telomeres are recognised as damaged DNA, leading to cell senescence and, consequently, loss of tissue function [3]. Because of this, TL shortening is avowed as one of the key factors of cellular ageing [4]. Although telomeres shorten over the years, there is variability among individuals. Several studies suggest that this could be explained by exposure to different environmental factors that increase oxidative stress and inflammatory processes that accelerate telomere shortening [5–7]. Recent research has observed that the rate of TL attrition is more pronounced during the first years of life [8, 9]. In addition, the intrauterine environment during pregnancy and maternal exposure factors and lifestyles play an important role in the length and maintenance of the telomere of newborns and, therefore, in the potential health outcomes of the child [10–13].

There is scant research exploring the relationship between TL and health problems in childhood, although it has become an area of increasing interest in the last decade [14]. Since TL is considered a promising ageing biomarker, most of the available research has focused on exploring the association between TL and the development of pathologies in adulthood. Some studies showed an association between shorter telomeres and neurological pathologies, such as Alzheimer’s disease [15, 16], and psychiatric pathologies like schizophrenia, bipolar disorder, major depression, anxiety, or post-traumatic stress [17–20]. In the same way, some research observed that longer TL is associated with better performance on general cognitive tests and some cognitive functions, such as attention, processing speed or working memory [21–24]. Some studies have also shown the association between TL and certain neurodevelopmental disorders in the paediatric population, including autism spectrum disorder [25–27] or attention deficit hyperactivity disorder [28–30]. To our knowledge, only one study has explored the association between TL and neuropsychological developmental outcomes at 9 and 30 months, and 5 years of age in children enrolled in the Seychelles Cohort [31]. This study found a slight positive association between cord blood TL and psychomotor outcomes at 30 months, as well as letter-word recognition assessed by the Woodcock-Johnson Achievement Test at the age of five. However, when examining the association with TL at five years, no clear association was observed

with various neurodevelopmental functions, including motor skills, language, memory and problem-solving. [31]. It is noteworthy that the limited sample size of 209 children in this previous study might have constrained its ability to detect subtle associations.

Considering the research mentioned above, we hypothesised that children with longer TL would have better neuropsychological functioning. However, it is essential to acknowledge the multifaceted nature of neuropsychological functions, influenced by various factors. Potential effects of TL on these functions might be relatively modest and necessitate a robust statistical power, achievable with larger sample sizes. Consequently, our present study was conceived to address this limitation by examining a substantially larger and more diverse sample of children aged 4–5 years. We acknowledge the intricate nature of the relationship between TL and neuropsychological function, which may exhibit variations across different populations. As such, our research endeavoured to provide a more comprehensive and robust analysis, considering a broader spectrum of influencing factors, to better elucidate these associations. Therefore, the present study aimed to explore the association between TL and neuropsychological functions in children at 4–5 years of age.

Methods

Study design and population

This study analysed data from the Infancia y Medio Ambiente (INMA) Project (<https://www.proyectoinma.org/>). The INMA project is a multicentre and population-based Spanish birth cohort. Its objective is to assess how environmental factors and lifestyles during pregnancy and infancy affect the health and development of children and adolescents. The study population of the INMA project consists of pregnant women from different geographical areas of Spain (Ribera d’Ebre, Menorca, Granada, Valencia, Asturias, Gipuzkoa and Sabadell). Participants were recruited during the first prenatal visit (between 10 and 13 weeks of gestation) at the reference public hospital or the region’s health centre from 2004 to 2008 [32]. The present study included 686 mother–child pairs from Asturias, Gipuzkoa and Sabadell sub-cohorts, who had complete information on the main study variables (TL and neuropsychological development) and potential confounding variables. In addition, parents provided the corresponding informed consent at the beginning of the INMA study. The ethics committee of the Miguel Hernández University of Elche (DPC.ENM.01.20) approved the present study.

Measures

Telomere length

Telomere data at 4–5 years was available in Asturias, Gipuzkoa and Sabadell (mean age: 4.4 years, standard deviation (SD) 0.2 years; interquartile range (IR), 4.4–4.5 years). TL was determined using the leukocyte fraction from blood samples collected at the 4-year follow-up visit. DNA was extracted from the buffy coat using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) in Asturias, the Flexigen AGKT-WB-640 kit (Qiagen) in Gipuzkoa, and the Chemagen kit (Perkin Elmer) in Sabadell. TL was determined using a modified fluorochrome-based quantitative polymerase chain reaction (qPCR) protocol [33]. Measurements were performed in triplicate on a 7900HT real-time PCR system (Applied Biosystems) in 384-well format. In each cycle, a 6-point serial dilution of a pooled DNA ($n = 12$ DNA samples) was performed to assess qPCR efficiency for telomere (T) and single copy gene (S) runs. The efficiency was 107% for T runs (R^2 ranged from 0.994 to 0.999) and 97% for S runs (R^2 ranged from 0.995 to 0.999). TL was analysed using qBase software (Biogazelle, Zwijnarde, Belgium) and expressed as the ratio of telomere copy number to the number of single-copy genes (T/S) relative to the average T/S of the set of all samples. In qBase, TL is calculated as a calibrated normalized relative quantity (CNRQ) [34], which is achieved by first calculating the RQ based on the delta-Cq method for T and S obtained Cq values, using target-specific amplification efficiencies. As the error on the final relative quantities (as a result of the measurement error on the calibrator sample) is very sensitive to the choice of a calibrator sample (sample to which subsequent normalization is applied), normalization was performed to the arithmetic mean quantification values for all analysed samples per cohort, resulting in the NRQ. Moreover, as samples per cohort were measured over multiple qPCR plates, 8 inter-run calibrators (IRC's) were used to calculate an additional correction factor to eliminate run-to-run differences, obtaining the final T/S ratio (CNRQ). Mathematical formulas to calculate RQ, NRQ and CNRQs are provided by Hellemans et al. [34]. To check the reliability/accuracy of the applied protocol, the intraclass correlation coefficients (ICC) of triplicate measures for T values (0.957; 95%CI: 0.954 to 0.96; $P < 0.0001$), S values (0.968; 95%CI: 0.965 to 0.97; $P < 0.0001$) and T/S ratio's (0.925; 95%CI: 0.918 to 0.93; $P < 0.0001$) were estimated, using the ICC R-code provided by the Telomere Research Network [35]. In addition, based on the 8 IRC's ran over all the qPCR plates, an inter-assay ICC was calculated (0.898; 95%CI: 0.77 to 0.948; $P < 0.0001$). Based on the standard curves qPCR

efficiency for T runs was 107 on average. Further details on the TL determination process are available in the Supplementary material.

Neuropsychological functions

Neuropsychological functions were assessed using the standardised version adapted to the Spanish population of the McCarthy Scales of Children's Abilities (MSCA), which evaluates children's cognitive and motor development [36]. Children from the Gipuzkoa region were assessed using the Basque version of the instrument (MSCA-E) [37]. Trained psychologists administered the neuropsychological scales to the children at the follow-up visit at 4–5 years of age. The MSCA consists of 6 scales: general cognitive, verbal, perceptive-performance, quantitative, memory, and motor functions. In the present study, we also used 11 scales created by Julvez and colleagues [38], which were derived from the original MSCA items. These new scales evaluate the following neuropsychological functions: executive functions, including visual and verbal processes; visual and verbal span; working memory; verbal memory; gross and fine motor functions; and cognitive functions of the posterior cerebral cortex, including verbal (left cortex) and visual (right cortex) functions. To ensure the reliability of the tests, we estimated the interrater reliability by applying intraclass correlation. MSCA global scales, including general cognitive, verbal, perceptive-performance, quantitative, memory, and motor functions, obtained coefficients of 0.97, 0.98, 0.78, 0.98, 0.96, and 0.92, respectively. In addition, the internal consistency of the global scales, measured by the Cronbach's alpha coefficient, was 0.90, 0.79, 0.81, 0.77, 0.74, and 0.64 for general cognitive, verbal, perceptive-performance, quantitative, memory, and motor functions, respectively. New MSCA subscales displayed a moderately good alpha coefficient (i.e., ≥ 0.70) overall [39]. To homogenise test scores, we standardised the MSCA raw scores to a mean of 100 and a standard deviation of 15. Higher scores on the different scales of the test indicate better neuropsychological functioning in children.

Potential confounders

We selected potential confounders based on existing literature, encompassing sociodemographic characteristics, environmental exposures, and lifestyles variables that could plausibly influence both TL and the neuropsychological functions in children [40–43]. Main regression models were adjusted for the following covariates: variables measured during pregnancy, such as maternal educational level (categorised as primary, secondary or university), parity (0 or ≥ 1 deliveries), and environmental NO_2 concentrations (expressed in $\mu\text{g}/\text{m}^3$); and variables collected at the

4–5-year follow-up visit, including child's age at the time of the neuropsychological assessment (in years), the relative Mediterranean diet score (continuous) [44], daily energy intake (in kilocalories), and the date of the blood sample extraction for telomere determination categorised into the seasons of the year (spring, summer, autumn, or winter). In addition, we accounted for the geographical study area (i.e., Asturias, Gipuzkoa or Sabadell).

Data analysis

All statistical analyses were performed with R software version 4.1.2 (R Foundation for Statistical Computing). A statistical significance level was established at 0.05, and all contrasts were bilateral. Normal distribution of continuous variables was checked by using the Kolmogorov–Smirnov test with Lilliefors correction.

A descriptive analysis of the maternal and child characteristics by cohort was performed using frequencies and percentages (%) for categorical variables and median and interquartile range (IR) for continuous variables since they were not normally distributed. We explored differences between participant characteristics and cohorts using the chi-square test (categorical variables) and Kruskal–Wallis test (continuous variables).

Multiple linear regression models were used to estimate associations between TL and neuropsychological function outcomes. To control potential confounding, separate models were built for each neuropsychological function, including covariates in the descriptive analysis with $p < 0.2$ and/or if they changed the magnitude of the main effect by $\geq 10\%$. Heterogeneity between cohorts was quantified using the I^2 statistic. We applied meta-analytic techniques to obtain pooled estimates under the fixed-effects hypothesis ($I^2 < 50\%$) or random-effects models when detecting heterogeneity ($I^2 > 50\%$) [45]. No multiple testing corrections were made due to the exploratory nature of the present study.

Finally, a sensitivity analysis was conducted to assess the significant findings' robustness making a set of assumptions by using variables that could likely be related to either TL or child neuropsychological function [46–52]. First, we examined the effect of the mother's verbal reasoning (measured by the similarities test of the Wechsler Adult Intelligence Scale III) and different child's lifestyles, such as oily fish consumption (grams), television watching (hours per week), and sleep duration (hours per day) separately as a further adjustment to the main model. Second, we ran the main model excluding children with low scores on the MCSA ($n = 35$). And third, we checked if there were changes in the main association stratifying models by sex (boys or girls) and by comparing values below or above the median of the level of inflammation as determined by C-reactive protein

(quantiles), abdominal circumference (centimetres), and body mass index (kg/m^2) of the children at 4–5 years of age.

Results

Table 1 shows the sociodemographic characteristics, environmental exposure factors, and lifestyles of the mothers and their children. Of the 686 participating women, 41.5% were from the Asturias region, 39.1% and 19.4% resided in Sabadell and Gipuzkoa, respectively. In general, we observed that mothers in the Gipuzkoa region had a higher educational level than women in the other study cohorts. In addition, they had on average lower exposure to the ambient pollutant NO_2 during their pregnancy (median = $15.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, IR = 13.9–16.9) compared to mothers from Asturias (median = 27.6, IR = 16.8–37.6) and Sabadell (median = 39.0, IR = 30.3–44.0), who had higher exposure.

Regarding children, those from Gipuzkoa had a lower energy intake per day (median = 1464.5 kcal/day, IR = 1277.6–1695.5) and a longer TL on average (median = 1.2, IR = 1.0–1.4) than those from Asturias and Sabadell. In addition, the relative Mediterranean diet score was higher in children from Asturias (median = 9, IR = 8–11) than those from Gipuzkoa and Sabadell (median = 8, IR = 6–10). Differences were also observed in the date of blood sample extraction for telomere determination. In Gipuzkoa, the blood extraction was primarily performed in summer (62.4%); in Asturias, it was carried out roughly in the same proportion in spring, autumn, and winter, and, to a lesser extent, in summer. In Sabadell, the blood samples were roughly equal in numbers across the four seasons.

Table 2 presents the results of multiple linear regression models exploring the association between TL and children's neuropsychological functions at 4–5 years of age, adjusted for potential confounding variables. In the MCSA areas, we observed that longer TL was associated with a higher mean global quantitative score, although the association was marginally significant ($\beta = 3.85$; 95% CI = $-0.19, 7.89$; $p = 0.062$; $I^2 = 0.0\%$). Regarding MCSA functions, longer TL was positively and statistically significantly associated with a higher mean working memory score ($\beta = 4.55$; 95% CI = 0.39, 8.71; $p = 0.032$; $I^2 = 0.0\%$). However, no associations were obtained between TL and the rest of the neuropsychological functions of children at this age.

The results of the sensitivity analysis of the association between TL and working memory function are presented in Fig. 1. After adjusting the main model by mother's verbal reasoning ($\beta = 4.83$; 95% CI = 0.50, 9.15; $p = 0.028$) and children's lifestyles, including fish consumption ($\beta = 4.46$; 95% CI = 0.28, 8.64; $p = 0.036$), television watching ($\beta = 4.76$; 95% CI = 0.58, 8.94; $p = 0.026$) and sleep duration ($\beta = 4.64$; 95% CI = 0.43, 8.85; $p = 0.031$),

Table 1 Socio-demographic characteristics and lifestyles in mothers and children at 4–5 years of the INMA project, Spain ($n=686$)

	All cohorts ($n=686$)	Asturias ($n=285$)	Gipuzkoa ($n=133$)	Sabadell ($n=268$)	P ^a
<i>Characteristics of mother's</i>					
Educational level, n (%)					
Primary or less	134 (19.5)	46 (16.1)	21 (15.8)	67 (25.0)	0.001
Secondary	285 (41.6)	128 (44.9)	44 (33.1)	113 (42.2)	
University	267 (38.9)	111 (39.0)	68 (51.1)	88 (32.8)	
Parity ≥ 1 , n (%)	293 (42.7)	110 (38.6)	64 (48.1)	119 (44.4)	0.144
NO ₂ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ during pregnancy, median (IR)	28.7 (16.7–40.5)	27.6 (16.8–37.6)	15.1 (13.9–16.9)	39.0 (30.3–44.0)	<0.001
<i>Characteristics of children</i>					
Age in years at MCSA examination, median (IR)	4.4 (4.3–4.5)	4.4 (4.3–4.5)	4.4 (4.4–4.5)	4.4 (4.4–4.5)	0.102
Daily energy intake in kcals/day, median (IR)	1579.6 (1390.0–1822.6)	1618.5 (1428.5–1868.3)	1464.5 (1277.6–1695.5)	1598.5 (1430.7–1819.3)	<0.001
Relative Mediterranean diet score, median (IR)	9.0 (7.0–10.0)	9.0 (8.0–11.0)	8.0 (6.0–10.0)	8.0 (6.0–10.0)	<0.001
Telomere length, median (IR)	1.0 (0.9–1.2)	1.0 (0.9–1.1)	1.2 (1.0–1.4)	1.0 (0.9–1.1)	<0.001
Season of blood extraction, n (%)					
Spring	185 (27.0)	84 (29.5)	16 (12.0)	85 (31.7)	<0.001
Summer	174 (25.4)	31 (10.9)	83 (62.4)	60 (22.4)	
Autumn	154 (22.4)	74 (25.9)	18 (13.6)	62 (23.1)	
Winter	173 (25.2)	96 (33.7)	16 (12.0)	61 (22.8)	

IR interquartile range, MCSA McCarthy scales of children's abilities, INMA Infancia y Medio Ambiente

^aThe chi-square test was used for categorical variables and the Kruskal-Wallis test for continuous nonparametric variables

the positive significant association observed for working memory ($\beta = 4.55$; 95% CI = 0.39, 8.71; $P = 0.032$) remained almost the same. We also observed no changes when excluding children who scored low on the MCSA, although the association became marginally significant ($\beta = 4.12$; 95% CI = -0.10, 8.34; $p = 0.055$). However, when we redid the analysis stratifying the main model by sex, we observed the association for boys dropped by 2 points ($\beta = 2.16$; 95% CI = -4.34, 8.67; $p = 0.515$) compared to girls ($\beta = 4.81$; 95% CI = -0.85, 10.47; $p = 0.096$), although the association was not statistically significant. The association for children with values above the median of C-reactive protein ($\beta = 2.78$; 95% CI = -2.84, 8.41; $p = 0.334$), abdominal circumference ($\beta = 2.34$; 95% CI = -2.73, 7.41; $p = 0.368$), and body mass index ($\beta = 1.85$; 95% CI = -3.76, 7.46; $p = 0.518$) decreased considerably although the statistical significance was not reached. In contrast, we did not observe substantial changes for the effect of children with values below the median of C-reactive protein ($\beta = 4.68$; CI 95% = -2.75, 12.11; $p = 0.217$) and abdominal circumference ($\beta = 4.08$; 95% CI = -2.50, 10.67; $p = 0.224$). However, the estimate for children with body mass index below the median increased the effect considerably ($\beta = 8.37$; 95% CI = 1.32, 15.91; $p = 0.020$) and remained statistically significant.

Discussion

The results obtained in the present study suggest a potential association between longer TL in childhood and enhanced working memory performance. Additionally, our findings hint at a possible influence of TL on the mean score of the quantitative index assessed by the MCSA scales. To our knowledge, this is the first time TL is associated with better neurocognitive outcomes in children aged 4–5 years. However, while our findings provide initial insights, it is essential to approach these results with caution and consider them as a starting point for further research into the intricate interplay between TL and cognitive functions during early childhood.

Our results are not directly comparable with the findings obtained from a previous study conducted on 5-year-old children without pathology of a birth cohort from Seychelles [31]. Both studies share a similar epidemiological study design, but they differ in the tests used to assess neuropsychological outcomes. In contrast to our study, Feiler and colleagues (2018) [31] did not include the assessment of the working memory function and quantitative abilities, which showed a positive effect of longer TL in our research. However, they examined the association between TL and neurodevelopmental functions, such as motor function, language, and math problem-solving, broadly similar to

Table 2 Association between leukocyte telomere length and neuropsychological function of children at 4–5 years of age in the INMA project, Spain ($n=686$)

Neuropsychological function	LTL ($n=686$)		
	β (95% CI)	p	I^2 (%) ^b
<i>MCSA areas</i> ^a			
General cognitive index	-0.54 (-4.37, 3.30)	0.783	19.3
Global verbal	-2.79 (-6.70, 1.41)	0.193	0.0
Global perceptual-performance	1.98 (-1.92, 5.89)	0.319	49.8
Global quantitative index	3.85 (-0.19, 7.89)	0.062	0.0
Global memory	-0.44 (-4.63, 3.73)	0.833	38.1
Global motor skills	0.43 (-3.84, 4.71)	0.843	0.0
<i>MCSA functions</i> ^a			
Executive	0.56 (-3.36, 4.48)	0.779	0.0
Visual executive	0.05 (-4.10, 4.21)	0.979	27.2
Verbal executive	0.75 (-3.21, 4.17)	0.710	0.0
Visual and verbal span	-0.81 (-7.19, 5.56)	0.803	53.1
Working memory	4.55 (0.39, 8.71)	0.032	0.0
Verbal memory	-2.40 (-6.89, 2.08)	0.294	0.0
Gross motor	-2.35 (-6.67, 1.96)	0.285	0.0
Fine motor	3.03 (-1.28, 7.34)	0.168	0.0
CFPC	-0.01 (-4.00, 3.99)	0.997	40.0
CFLPC (verbal)	-2.59 (-6.92, 1.73)	0.240	0.0
CFRPC (visual)	2.91 (-1.27, 7.10)	0.173	27.7

LTL leukocyte telomere length, MCSA McCarthy scales of children's abilities, CFPC cognitive function of posterior cortex, CFLPC cognitive function of left posterior cortex, CFRPC cognitive function of right posterior cortex, CI confidence interval, INMA Infancia y Medio Ambiente

^aAll linear regression models were adjusted by mother's educational level (primary or less, secondary, or university), parity (0 or ≥ 1), NO₂ exposure in pregnancy ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), child's age at MCSA examination (in years), child's relative Mediterranean diet score (continuous), energy intake (in kilocalories/day) and season of blood extraction (spring, summer, autumn or winter) at 4–5 years

^bWe used the results from the fixed-effects meta-analysis model when $<50\%$ and from the random-effects meta-analysis model when $>50\%$

those we measured. In this respect, both studies obtained no conclusive associations for these functions. Another aspect that should be considered is that the average TL of the children differed among studies, although TL was determined using the same method (qPCR) at almost the same age. Children in our study presented a longer average TL than children from the Seychelles Child Development Study [31] (1.0 vs 0.71, respectively). Nevertheless, the underlying explanation by which longer TL may be potentially associated with better working memory or numerical tasks at the age of 4–5 remains unclear, requiring further investigation.

To the best of our knowledge, no previous studies have specifically examined the association between TL and

working memory in the paediatric population, and only limited data are available from studies conducted in adults. For example, a study of 382 healthy women [21] showed a positive correlation between TL and performance on a functional memory test, although statistical significance was not reached. In a more recent study involving 325 African-American and white adults, an association was observed between shorter TL and poorer performance on a working memory test. However, this association was only statistically significant in white participants [24].

In the absence of definitive evidence, our finding that longer TL may be associated with enhanced working memory in children could be attributed to the role of TL in maintaining cellular stability and, by extension, cellular stability of the brain by protecting neuronal cells from cell apoptosis [1, 2, 53]. Recent insights from a meta-analysis of 27 studies on the impact of TL in brain ageing [54] suggested that telomeres may have a positive influence on brain morphology and cognition, potentially leading to larger brain size and improved connectivity. Although statistical significance was not reached for both girls and boys because of limited statistical power, our findings of sex differences are in line with this study that suggests that longer telomeres may have a more pronounced beneficial effect on women compared to men [54]. Recent insights into the mechanistic basis of the potential sex differences in neurobiology have suggested that hormones, particularly oestradiol, may be partly responsible for changes in brain functions, brain health, and the molecular functioning of brain cells [46]. While these insights are primarily derived from experimental animal studies, they postulate that oestradiol may serve a crucial neuroprotective function in the brain, especially in memory, suggesting that this oestrogen may trigger different cell-signalling pathways in males and females. In parallel, another likely explanation for the positive association between TL and working memory could be attributed to the fact that basic cognitive functions such as working memory or attention appear to be more vulnerable to the ageing process and/or molecular and cellular damage than complex cognitive functions such as long-term memory, executive function, or global cognition [53, 55, 56]. As such, it is plausible to assume that the protective effect of a longer TL could presumably be more significant for these basic cognitive functions rather than complex ones. Interestingly, given that working memory deficits have been associated with a decline in brain structural integrity, working memory has been proposed as a valuable marker for identifying potential age-related cognitive decline [57]. In addition, the association between TL and the global numerical area, while not reaching conventional levels of statistical significance, provides valuable support for the observed association with working memory. This connection is particularly pertinent because numerical skills assessed by the MCSA quantitative scale place a notable

Association between Leucocyte Telomere Length and Working Memory in children aged 4-5

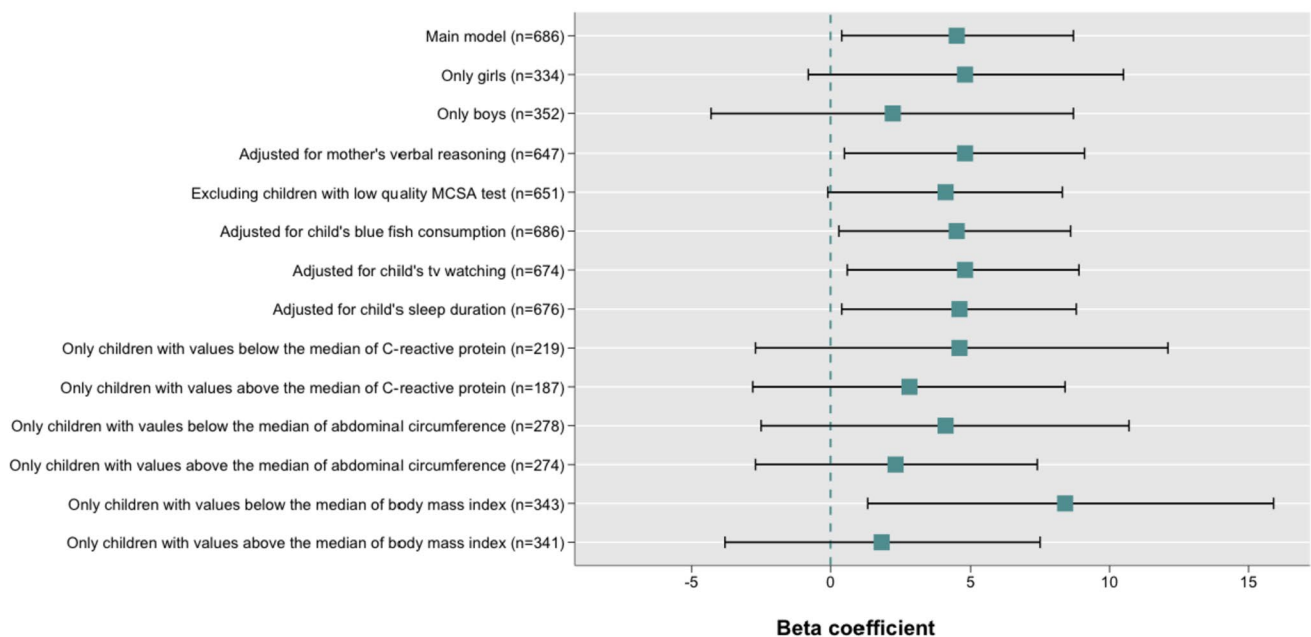


Fig. 1 Sensitivity analysis of the association between Leucocyte Telomere Length and Working Memory in children aged 4–5

demand on working memory resources. Notably, previous research indicated that children encountering challenges in mathematical operations often showed deficits in the working memory domain [57].

The present study's findings also showed that the level of inflammation might influence the effect of TL on working memory at 4–5 years of age. This result is consistent with previous research showing that an elevated level of pro-inflammatory cytokines, like C-reactive protein, was associated with poorer working memory in children and young individuals [48, 49]. At the neurobiological level, this association is supported by the fact that inflammation processes were found to cause changes in neural circuitry, neurotransmitter activity, the neuroendocrine system and neurogenesis, impacting brain function and, by extension, cognitive functions [47, 48, 58, 59]. Moreover, it should be noted that TL attrition has also been associated with inflammation events, including higher body mass index or biomarkers such as C-reactive protein [50], suggesting that inflammatory events might involve an interplay between telomeric dysfunction and poor cognitive functioning.

While our study offers valuable insights into the association between TL and cognitive function in young children, it is important to acknowledge both limitations and strengths of our research. The INMA project is a population-based follow-up study that collected extensive information (e.g., socio-demographics, lifestyles, environmental pollutants, etc.) during pregnancy and postnatal follow-up visits.

This extensive dataset minimises the possible occurrence of recall and sample selection biases, thus enhancing the robustness of our findings. The prospective nature of this study allowed us to account for a wide range of confounding factors and modifiers, although residual confounding, unknown factors or modifiers cannot be dismissed. Regarding neuropsychological assessment, we used the standardised Spanish and Basque versions of the MCSA applied by psychologists trained in administering the test, ensuring test validity and quality of the information. However, we should not disregard the multiple testing problem since numerous tests were applied in this study, the potential for Type I errors emerges as a significant concern and should be contemplated in interpreting the results. Moreover, TL was determined using quantitative PCR methods following a strict protocol. Researchers commonly use PCR because it is inexpensive and fast, although this methodology provides an average measurement of all samples, probably introducing measurement errors that warrant caution when analysing the data [60]. As an observational cross-sectional study, our findings offer valuable insights into the potential associations between TL and cognitive function in young children. However, the cross-sectional design inherently limits our capacity to establish causal relationships. Fortunately, the prospective design of the INMA project will allow us to establish a temporal sequence of events through follow-up assessments and confirm long-term effects. It is important to note that this study primarily focused on the influence

of environmental factors, including prenatal and postnatal exposures, on TL in young children aged 4–5. While genetic factors play a significant role in TL heritability and regulation, they were not the primary focus of our investigation. Our study primarily aimed to explore the potential impact of specific environmental factors on TL. Future research efforts with a more comprehensive examination of genetic determinants and their interaction with environmental exposures will be essential to provide a more holistic understanding of TL dynamics in children. Despite the shortcomings, this study may contribute to the relatively limited body of knowledge in this specific area of research, enriching the scientific understanding of TL's role in cognitive function in early childhood. These findings not only provide a foundation for future investigations but also underscore the necessity for further research involving larger and more diverse cohorts to confirm and extend our results.

In conclusion, the results of the present study offer valuable insights into the possible association between TL and working memory in 4–5-year-olds. While the results indicate a positive trend between TL and the quantitative index, this association did not reach conventional levels of statistical significance. No association was observed between TL and the rest of the MSCA scales. Further research is essential to confirm these findings and uncover the biological pathways by which the telomere length is associated with cognitive functions such as working memory during childhood. Nonetheless, we believe this study contributes to the body of evidence supporting that TL plays an important role in preserving health and, by extension, it may have a positive impact on children's neuropsychological development.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00787-023-02361-y>.

Author contributions IC-S, DV-G and EMN-M contributed to the conception and design of the study, advised on all statistical aspects, and interpreted the data. IC-S performed the literature search and the analyses. IC-S and DV-G wrote the main manuscript text. All authors critically reviewed this and previous drafts. All authors approved the final draft for submission, with final responsibility for publication.

Funding Open Access funding provided thanks to the CRUE-CSIC agreement with Springer Nature. The present study has been funded by the Instituto de Salud Carlos III/Agencia Estatal de Investigación (PI18/00825) about the Project: “Diet and physical activity in Pregnancy and after birth and telomere length in Children and adolescents: TeloDiPA Project” and by the Department of Innovation, Universities, Science and Digital Society of Valencian Community for the Project “Telomere length and neuropsychological development between 4 and 8 years: TeloNeuro Project (GVA/2021/191)”. IC is the recipient of the fellowship “Formación de Profesorado Universitario (FPU)” from the Ministry of Education in Spain (FPU21/01323). DMS holds a postdoctoral grant from the Research Foundation Flanders (FWO 12X9620N, 12X9623N). In INMA-Asturias this study was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176 and CB06/02/0041), FIS-PI042018 incl. FEDER

funds, FIS-PI09/02311 incl. FEDER funds, FIS-PI13/02429 incl. FEDER funds, FIS-PI18/00909 incl. FEDER funds, CIBERESP, Obra Social Cajastur/Fundación Liberbank and Universidad de Oviedo. In INMA-Gipuzkoa the study was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (FIS-PI09/00090 and FIS-PI18/01142 incl. FEDER funds), CIBERESP, Department of Health of the Basque Government (2013111089), and annual agreements with the municipalities of the study area (Zumarraga, Urretxu, Legazpi, Azkoitia y Azpeitia y Beasain). Finally, INMA-Sabadell holds a research Miguel Servet-II contract (grants CPII19/00015 and CPII18/00018, respectively) awarded by the Spanish Instituto de Salud Carlos III (cofunded by the European Social Fund “Investing in your future”) to fund this study. We acknowledge support from the Spanish Ministry of Science and Innovation and the State Research Agency through the “Centro de Excelencia Severo Ochoa 2019–2023” Program (CEX2018-000806-S), and support from the Generalitat de Catalunya through the CERCA Program.

Declarations

Conflict of Interests The authors declare that they have no conflicts of interest relevant to the content of this article.

Ethics approval This study was approved by the ethics committee of the Miguel Hernández University of Elche (DPC.ENM.01.20).

Consent to participate Informed consent was obtained from parents who agreed to participate in the INMA Project.

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

References

1. Blasco MA (2007) The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nat Rev Genet* 8(4):299–309. <https://doi.org/10.1038/nrg2047>
2. Turner KJ, Vasu V, Griffin DK (2019) Telomere biology and human phenotype *Cells* 8(1):73. <https://doi.org/10.3390/cells8010073>
3. d'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P et al (2003) A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 426(6963):194–198. <https://doi.org/10.1038/nature02118>
4. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G (2013) The hallmarks of aging. *Cell* 153(6):1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
5. von Zglinicki T (2002) Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27(7):339–344. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(02\)02110-2](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(02)02110-2)

6. Zhang J, Rane G, Dai X, Shanmugam MK, Arfuso F, Samy RP et al (2016) Ageing and the telomere connection: an intimate relationship with inflammation. *Ageing Res Rev* 25:55–69. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.11.006>
7. Crocco P, De Rango F, Dato S, Rose G, Passarino G (2021) Telomere length as a function of age at population level parallels human survival curves. *Aging (Albany NY)* 13(1):204–218. <https://doi.org/10.18632/aging.202498>
8. Aubert G, Baerlocher GM, Vulto I, Poon SS, Lansdorp PM (2012) Collapse of telomere homeostasis in hematopoietic cells caused by heterozygous mutations in telomerase genes. *PLoS Genet* 8(5):e1002696. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002696>
9. Aubert G (2014) Telomere dynamics and aging. *Prog Mol Biol Transl Sci* 125:89–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397898-1.00004-9>
10. Chen L, Ling KTM, Gong M, Chong MFF, Tan KH, Chong YS et al (2022) Variability in newborn telomere length is explained by inheritance and intrauterine environment. *BMC Med* 20(1):20. <https://doi.org/10.1186/s12916-021-02217-9>
11. Osorio-Yáñez C, Clemente DBP, Maitre L, Vives-Usano M, Bustamante M, Martínez D et al (2020) Early life tobacco exposure and children's telomere length: the HELIX project. *Sci Total Environ* 711:135028. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135028>
12. Clemente DBP, Maitre L, Bustamante M, Chatzi L, Roumeliotaki T, Fossati S et al (2019) Obesity is associated with shorter telomeres in 8 year-old children. *Sci Rep* 9(1):18739. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55283-8>
13. Martens DS, Van Der Stukken C, Derom C, Thiery E, Bijmens EM, Nawrot TS (2021) Newborn telomere length predicts later life telomere length: tracking telomere length from birth to child- and adulthood. *EBioMedicine* 63:103164. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103164>
14. Valera-Gran D, Prieto-Botella D, Peral-Gómez P, Hurtado-Pomares M, Sánchez-Pérez A, Navarrete-Muñoz EM (2020) Bibliometric analysis of research on telomere length in children: a review of scientific literature. *Int J Environ Res Public Health* 17(12):4593. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124593>
15. Fani L, Hilal S, Sedaghat S, Broer L, Licher S, Arp PP et al (2020) Telomere length and the risk of Alzheimer's disease: the Rotterdam study. *J Alzheimers Dis* 73(2):707–714. <https://doi.org/10.3233/JAD-190759>
16. Fu J, Ji X, Liu J, Chen X, Shang H (2022) Meta-analysis of the connection between Alzheimer disease and telomeres. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 36(1):73–79. <https://doi.org/10.1097/WAD.0000000000000468>
17. Powell TR, Dima D, Frangou S, Breen G (2018) Telomere length and bipolar disorder. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 43(2):445–453. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.125>
18. Lindqvist D, Epel ES, Mellon SH, Penninx BW, Révész D, Verhoeven JE et al (2015) Psychiatric disorders and leukocyte telomere length: underlying mechanisms linking mental illness with cellular aging. *Neurosci Biobehav Rev* 55:333–364. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.05.007>
19. Wolkowitz OM, Mellon SH, Epel ES, Lin J, Dhabhar FS, Su Y et al (2011) Leukocyte telomere length in major depression: correlations with chronicity, inflammation and oxidative stress – preliminary findings. *PLoS ONE* 6(3):e17837. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017837>
20. Shalev I, Moffitt TE, Braithwaite AW, Danese A, Fleming NI, Goldman-Mellor S et al (2014) Internalising disorders and leukocyte telomere erosion: a prospective study of depression, generalised anxiety disorder and post-traumatic stress disorder. *Mol Psychiatry* 19(11):1163–1170. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.183>
21. Valdes AM, Deary IJ, Gardner J, Kimura M, Lu X, Spector TD et al (2010) Leukocyte telomere length is associated with cognitive performance in healthy women. *Neurobiol Aging* 31(6):986–992. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.07.012>
22. Yaffe K, Lindquist K, Kluse M, Cawthon R, Harris T, Hsueh W-C et al (2011) Telomere length and cognitive function in community-dwelling elders: findings from the Health ABC Study. *Neurobiol Aging* 32(11):2055–2060. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.12.006>
23. Hägg S, Zhan Y, Karlsson R, Gerritsen L, Ploner A, van der Lee SJ et al (2017) Short telomere length is associated with impaired cognitive performance in European ancestry cohorts. *Transl Psychiatry* 7(4):e1100. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.73>
24. Leibel DK, Shaked D, Beatty Moody DL, Liu HB, Weng NP, Evans MK et al (2020) Telomere length and cognitive function: differential patterns across sociodemographic groups. *Neuropsychology* 34(2):186–198. <https://doi.org/10.1037/neu0000601>
25. Tang J, Li H, Chen S, He Y, Liao Y, Wei Z et al (2014) Shorter telomere length in peripheral blood leukocytes is associated with childhood autism. *Sci Rep* 4:7073. <https://doi.org/10.1038/srep07073>
26. Nelson CA, Varcin KJ, Coman NK, De Vivo I, Tager-Flusberg H (2015) Shortened telomeres in families with a propensity to autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 54(7):588–594. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2015.04.006>
27. Lewis CR, Taguinod F, Jepsen WM, Cohen J, Agrawal K, Huentelman MJ et al (2020) Telomere length and autism spectrum disorder within the family: relationships with cognition and sensory symptoms. *Autism Res Off J Int Soc Autism Res* 13(7):1094–1101. <https://doi.org/10.1002/aur.2307>
28. Costa D de S, Rosa DVF, Barros AGA, Romano-Silva MA, Malloy-Diniz LF, Mattos P et al (2015) Telomere length is highly inherited and associated with hyperactivity-impulsivity in children with attention deficit/hyperactivity disorder. *Front Mol Neurosci* 8:28. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00028>
29. Howell MP, Jones CW, Herman CA, Mayne CV, Fernandez C, Theall KP, Esteves KC, Drury SS (2022) Impact of prenatal tobacco smoking on infant telomere length trajectory and ADHD symptoms at 18 months: a longitudinal cohort study. *BMC Med* 20(1):153. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02340-1>
30. Pham C, Vryer R, O'Hely M, Mansell T, Burgner D, Collier F et al (2022) Shortened infant telomere length is associated with attention deficit/hyperactivity disorder symptoms in children at age two years: a Birth Cohort study. *Int J Mol Sci* 23:4601. <https://doi.org/10.3390/ijms23094601>
31. Feiler MO, Patel D, Li H, Meacham PJ, Watson GE, Shamlaye C et al (2018) The association between early-life relative telomere length and childhood neurodevelopment. *Neurotoxicology* 65:22–27. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.01.005>
32. Guxens M, Ballester F, Espada M, Fernández MF, Grimalt JO, Ibarluzea J et al (2012) Cohort profile: the INMA – Infancia y Medio Ambiente – (environment and childhood) project. *Int J Epidemiol* 41(4):930–940. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr054>
33. Cawthon RM (2009) Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res* 37(3):e21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn1027>
34. Hellemans J, Mortier G, De Paepe A, Speleman F, Vandesompele J (2007) QBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biol* 8(2):R19. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r19>
35. Telomere Research Network (TRN). Resources of study design & analysis. Available online: <https://trn.tulane.edu/resources/study-design-analysis/>. Accessed 21 Dec 2022

36. Santana AC, Rojas M, Pacheco JS (2006) Prueba: Escalas McCarthy de Aptitudes y Psicomotricidad para niños. *Av En Medicina* 4(1):148–149
37. Andiarena A, Balluerka N, Gorostiaga A, Ibarluzea J (2017) Neuropsychological assessment at preschool age: adaptation and validation of the McCarthy scales of children's abilities to 4 year-old Basque-speaking children. *Span J Psychol* 20:E49. <https://doi.org/10.1017/sjp.2017.49>
38. Julvez J, Fornis M, Ribas-Fitó N, Torrent M, Sunyer J (2011) Attention behavior and hyperactivity and concurrent neurocognitive and social competence functioning in 4-year-olds from two population-based birth cohorts. *Eur Psychiatry J Assoc Eur Psychiatr* 26(6):381–389. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2010.03.013>
39. Becker G (2000) Creating comparability among reliability coefficients: the case of Cronbach alpha and Cohen kappa. *Psychol Rep* 87:1171–1182
40. Gorenjak V, Petrelis AM, Stathopoulou MG, Visvikis-Siest S (2020) Telomere length determinants in childhood. *Clin Chem Lab Med* 58(2):162–177. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0235>
41. Gascon M, Guxens M, Vrijheid M, Torrent M, Ibarluzea J, Fano E et al (2017) The INMA-INfancia y Medio Ambiente-(environment and childhood) project: more than 10 years contributing to environmental and neuropsychological research. *Int J Hyg Environ Health* 220(4):647–658. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.02.008>
42. O'Connor G, Julvez J, Fernandez-Barrés S, Navarrete-Muñoz EM, Murcia M, Tardón A et al (2020) Association of lifestyle factors and neuropsychological development of 4-year-old children. *Int J Environ Res Public Health* 17(16):5668. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165668>
43. Julvez J, Guxens M, Carsin AE, Fornis J, Mendez M, Turner MC et al (2014) A cohort study on full breastfeeding and child neuropsychological development: the role of maternal social, psychological, and nutritional factors. *Dev Med Child Neurol* 56(2):148–156. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12282>
44. Notario-Barandiaran L, Valera-Gran D, Gonzalez-Palacios S, Garcia-de-la-Hera M, Fernández-Barrés S, Pereda-Pereda E et al (2020) High adherence to a mediterranean diet at age 4 reduces overweight, obesity and abdominal obesity incidence in children at the age of 8. *Int J Obes (Lond)* 44(9):1906–1917. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0557-z>
45. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG (2003) Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 327(7414):557–560. <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>
46. Choleris E, Galea LAM, Sohrabji F, Frick KM (2018) Sex differences in the brain: implications for behavioral and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev* 85:126–145. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.07.005>
47. van der Burg JW, Sen S, Chomitz VR, Seidell JC, Leviton A, Dammann O (2016) The role of systemic inflammation linking maternal BMI to neurodevelopment in children. *Pediatr Res* 79(1–1):3–12. <https://doi.org/10.1038/pr.2015.179>
48. Cullen AE, Tappin BM, Zunszain PA, Dickson H, Roberts RE, Ninkheslat N et al (2017) The relationship between salivary C-reactive protein and cognitive function in children aged 11–14 years: does psychopathology have a moderating effect? *Brain Behav Immun* 66:221–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.002>
49. Kokosi T, Flouri E, Midouhas E (2021) The role of inflammation in the association between poverty and working memory in childhood. *Psychoneuroendocrinology* 123:105040. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.105040>
50. Prasad KN, Wu M, Bondy SC (2017) Telomere shortening during aging: attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mech Ageing Dev* 164:61–66. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.04.004>
51. Petermann-Rocha F, Valera-Gran D, Fernández-Pires P, Martens DS, Júlvez J, Rodríguez-Dehli C et al (2022) Children who sleep more may have longer telomeres: evidence from a longitudinal population study in Spain. *Pediatr Res*. <https://doi.org/10.1038/s41390-022-02255-w>
52. Freire C, Ramos R, Lopez-Espinosa MJ, Díez S, Vioque J, Ballester F, Fernández MF (2010) Hair mercury levels, fish consumption, and cognitive development in preschool children from Granada, Spain *Environ Res* 110(1):96–104. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.10.005>
53. Cohen RA, Marsiske MM, Smith GE (2019) Neuropsychology of aging. *Handb Clin Neurol* 167:149–180. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804766-8.00010-8>
54. Gampawar P, Schmidt R, Schmidt H (2022) Telomere length and brain aging: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev* 80:101679. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101679>
55. Tucker-Drob EM (2011) Global and domain-specific changes in cognition throughout adulthood. *Dev Psychol* 47(2):331–343. <https://doi.org/10.1037/a0021361>
56. Salthouse TA (2017) Contributions of the individual differences approach to cognitive aging. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 72(1):7–15. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbw069>
57. Chai WJ, Abd Hamid AI, Abdullah JM (2018) Working memory from the psychological and neurosciences perspectives: a review. *Front Psychol* 9:401. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.00401>
58. Kim HJ, Kim HR, Jin JC, Han DH, Kim SM (2021) Body mass index and somatic symptom severity in patients with somatic symptom disorder: the mediating role of working memory. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 19(2):361–366. <https://doi.org/10.9758/cpn.2021.19.2.361>
59. Alarcón G, Ray S, Nagel BJ (2016) Lower working memory performance in overweight and obese adolescents is mediated by white matter microstructure. *J Int Neuropsychol Soc* 22(3):281–292. <https://doi.org/10.1017/S1355617715001265>
60. Nettle D, Seeker L, Nussey D, Froy H, Bateson M (2019) Consequences of measurement error in qPCR telomere data: a simulation study. *PLoS ONE* 14(5):e0216118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216111>

ANEXO 2. Artículo correspondiente a la Publicación II.



Biblioteca



Article

Telomere Length and Emotional and Behavioral Problems in Children from the Prospective Birth Cohort Infancia y Medio Ambiente (INMA) Study








Children

PEDIATRICS Q2

Factor de impacto: 2,1

Article

Telomere Length and Emotional and Behavioral Problems in Children from the Prospective Birth Cohort INfancia y Medio Ambiente (INMA) Study

Irene Campos-Sánchez¹, Eva María Navarrete-Muñoz^{1,2,3,*} , Josep Xavier Barber-Valles^{3,4}, Dries S. Martens⁵ , Isolina Riaño-Galán⁶ , Amaia Irizar^{7,8,9}, Sabrina Llop^{9,10}, Mónica Guxens^{9,11,12,13,14} , Cristina Rodríguez-Dehli¹⁵, Izaro Babarro^{7,8}, Manuel Lozano^{9,10,16} , Martine Vrijheid^{9,11,13} , Tim Nawrot⁵ and Desirée Valera-Gran^{1,2} 

- ¹ InTeO Research Group, Miguel Hernandez University, 03550 San Juan de Alicante, Spain; icampos@umh.es (I.C.-S.); dvalera@umh.es (D.V.-G.)
 - ² Institute for Health and Biomedical Research of Alicante (ISABIAL), 03010 Alicante, Spain
 - ³ Joint Research Unit, Statistical Methods in Health Sciences UMH-FISABIO, 03202 Elche, Spain; xbaber@umh.es
 - ⁴ Department of Statistics, Mathematics and Computer Science, Miguel Hernández University of Elche, 03202 Elche, Spain
 - ⁵ Centre of Environmental Sciences, Hasselt University, Agoralaan Gebouw D, BE-3590 Hasselt, Belgium; dries.martens@uhasselt.be (D.S.M.); tim.narrow@uhasselt.be (T.N.)
 - ⁶ Central University Hospital of Asturias, Oviedo University, 33011 Oviedo, Spain; isolinariano@gmail.com
 - ⁷ Group of Environmental Epidemiology and Child Development, Biogipuzkoa Health Research Institute, 20014 San Sebastian, Spain; a-irizarloibide@euskadi.eus (A.I.); izaro.babarro@ehu.eus (I.B.)
 - ⁸ Faculty of Medicine and Nursing, University of the Basque Country, 48940 Leioa, Spain
 - ⁹ CIBER Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Carlos III Health Institute, 28029 Madrid, Spain; sabrina.llop@fisabio.es (S.L.); monica.guxens@isglobal.org (M.G.); manuel.lozano@uv.es (M.L.); martine.vrijheid@isglobal.org (M.V.)
 - ¹⁰ Epidemiology and Environmental Health Joint Research Unit, FISABIO-Universitat Jaume I-Universitat de València, 46020 Valencia, Spain
 - ¹¹ ISGlobal, 08036 Barcelona, Spain
 - ¹² ICREA, 08010 Barcelona, Spain
 - ¹³ Pompeu Fabra University, 08002 Barcelona, Spain
 - ¹⁴ Department of Child and Adolescent Psychiatry / Psychology, Erasmus MC, University Medical Centre, 3015 GD Rotterdam, The Netherlands
 - ¹⁵ Pediatrics Service, Central University Hospital of Asturias, 33011 Oviedo, Spain; crdehli@yahoo.es
 - ¹⁶ Department of Preventative Medicine, Food Sciences, Toxicology and Forensic Medicine Department, Universitat de València, 46100 Valencia, Spain
- * Correspondence: enavarrete@umh.es



Academic Editor: Ming Lim

Received: 11 June 2025

Revised: 30 June 2025

Accepted: 1 July 2025

Published: 2 July 2025

Citation: Campos-Sánchez, I.; Navarrete-Muñoz, E.M.; Barber-Valles, J.X.; Martens, D.S.; Riaño-Galán, I.; Irizar, A.; Llop, S.; Guxens, M.; Rodríguez-Dehli, C.; Babarro, I.; et al. Telomere Length and Emotional and Behavioral Problems in Children from the Prospective Birth Cohort INfancia y Medio Ambiente (INMA) Study. *Children* **2025**, *12*, 875. <https://doi.org/10.3390/children12070875>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract

Background/Objectives: This study aimed to examine the association between leukocyte telomere length (TL) measured at ages 4 and 8 and emotional and behavioral problems at age 8. We also explored whether changes in leukocyte TL between ages 4 and 8 were associated with outcomes. **Methods:** Data were obtained from a population-based birth cohort and included 647 children with TL at age 4 and emotional and behavioral assessments at age 8, 673 with TL and outcomes at age 8, and 315 with TL measured at both ages. TL was determined using quantitative PCR on blood samples and converted into z-scores for analysis. Emotional and behavioral problems—including internalizing, externalizing, and total difficulties—were assessed using the Strengths and Difficulties Questionnaire. Regression models were conducted using zero-inflated and negative binomial, adjusting for sociodemographic and lifestyle covariates. **Results:** No statistically significant associations were observed between leukocyte TL at ages 4 or 8, or TL changes over this period, and emotional and behavioral outcomes at age 8. **Conclusions:** Although no significant associations were found, further longitudinal research is warranted to clarify the role of TL as a potential psychobiomarker of emotional and behavioral disorders in childhood.

Keywords: telomere length; emotional problems; behavioral problems; internalizing problems; externalizing problems; childhood

1. Introduction

Telomeres are nucleoprotein structures containing repeat sequences of DNA that cap the end of chromosomes and protect the cell's genomic stability. However, with each cell division cycle, their length gradually shortens, leading to mitochondrial and metabolic dysfunction and cell cycle arrest [1,2]. Shortened telomere length (TL) has been linked to an increased risk of age-related diseases and premature mortality [3,4]. As a result, TL has been proposed as a biomarker to assess cellular damage accumulated throughout life [5]. Research on TL suggests that certain mechanisms linked to telomere shortening, including elevated cortisol levels, mitochondrial dysfunction, immune-inflammatory responses, and oxidative stress, may impact brain health by compromising neuronal survival, disrupting synapse formation and action potential generation, and contributing to specific regional alterations in brain volume [6]. Given the involvement of these processes in stress-related mental health conditions, TL has been increasingly explored as a potential “psychobiomarker”—that is, a biological indicator of psychological functioning and vulnerability to emotional and behavioral problems [7].

Internalizing and externalizing psychological symptoms are used to categorize two types of behavioral, emotional, and social problems. Internalizing problems refer to symptoms that are directed inward that primarily cause distress to the child, such as anxiety, depression, somatic complaints, and withdrawal [8]. In contrast, externalizing problems encompass outward-directed symptoms that not only affect the child but also create discomfort for others [9], including aggressive and oppositional behaviors, inattention/hyperactivity, and emotion dysregulation [9]. A recent meta-analysis involving children aged 1–7 years from eight countries estimated an overall prevalence of mental disorders at 20.1%. Specifically, the prevalence rates for anxiety disorders, depressive disorders, oppositional defiant disorder, and attention-deficit hyperactivity disorder were 8.5%, 1.1%, 4.9%, and 4.3%, respectively [10].

Previous observational studies and meta-analyses conducted with adults and adolescents have established a connection between TL and internalizing psychological symptoms, including depression, anxiety, and post-traumatic stress disorder [11–13]. These investigations, conducted in both clinical and community samples, consistently reported that individuals with higher depressive and anxiety symptoms and disorders have shorter TL compared to individuals without such symptomatology [11–13]. In contrast, research on the association between TL and emotional and behavioral problems in the pediatric population remains limited. Only a few studies have explored this association, with two reporting preliminary evidence of shorter telomeres associated with higher internalizing problems in children aged 5–6 years [14] and 8–10 years [15]. Moreover, other studies have identified associations between shorter TL and poorer externalizing behaviors in children aged 5–12 years [16] and oppositional defiant behavior in children aged 3–5 years [17].

Both internalizing and externalizing problems during childhood have been identified as potential predictors of negative behavioral, emotional, cognitive, and physical health outcomes in adolescence and adulthood [18]. In addition, these problems can disrupt learning processes and are correlated with poor academic performance [19]. Given the high prevalence of internalizing and externalizing problems at early ages and their significant impact on global health across childhood, adolescence, and adulthood, it is crucial to investigate the potential role of TL as a psychobiomarker in children. More importantly,

research should also focus on changes in TL over time, as these dynamics may provide valuable insights into the cumulative effects of stress and adversity experienced during childhood. Understanding variations in TL could help elucidate the biological impact of psychosocial factors and highlight opportunities for early interventions to mitigate long-term health risks.

Based on previous studies showing that shorter telomere length is associated with a greater risk of internalizing and externalizing psychological symptoms, we hypothesized that shorter leukocyte TL at ages 4 and 8 would predict higher emotional and behavioral problems at age 8. Additionally, we hypothesized that greater reductions in TL between ages 4 and 8 would be associated with worse emotional and behavioral outcomes. Therefore, the objectives of this study were as follows: (1) to explore the association between leukocyte TL at 4 years and emotional and behavioral problems at 8 years; (2) to explore the association between leukocyte TL at 8 years and emotional and behavioral problems at 8 years; and (3) to explore the association between the change between leukocyte TL at 4–8 years and emotional and behavioral problems at 8 years.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Population

This study used data from the INfancia y Medio Ambiente (INMA) project (<https://www.proyectoinma.org/>), a multicenter population-based Spanish birth cohort study. The INMA project includes mother–child pairs recruited from seven regions across Spain: Ribera d’Ebre, Menorca, Granada, Valencia, Asturias, Gipuzkoa, and Sabadell. Enrollments occurred during the first prenatal visit, specifically between gestational weeks 10 and 13, at the primary public hospitals or health centers serving each area. To be included in this study, mothers had to meet several eligibility criteria: they needed to reside in one of the designated study regions, be aged 16 or older, be expecting a singleton pregnancy, not be undergoing assisted reproductive treatment, plan to give birth at the local reference hospital, and have no issues with communication [20].

For this analysis, we concentrated on data collected during the 4- and 8-year follow-up visits. These time points correspond to standardized follow-up assessments in the INMA cohort, during which extensive health, developmental, and emotional and behavioral data were systematically collected. Blood samples were obtained at both time points, allowing for TL determination under comparable conditions.

A total of 647 mother–child pairs from Asturias, Gipuzkoa, and Sabadell cohorts were included, with data on leukocyte TL at 4 years and emotional and behavioral problems at 8 years. Additionally, 673 maternal–child dyads from Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts were included, with data on leukocyte TL and emotional and behavioral problems at 8 years. Lastly, 315 paired data from Asturias and Gipuzkoa with leukocyte TL measures at both ages were also incorporated. A detailed overview of the sample composition and data availability across cohorts is provided in the study flowchart (Figure 1).

All participants gave their informed consent upon enrollment in the INMA study. The research study protocol received approval from the ethics committee of the Miguel Hernández University of Elche (DPC.ENM.01.20).

2.2. Study Variables

2.2.1. Telomere Length

Leukocyte TL data at 4 years were obtained for participants from the Asturias, Gipuzkoa, and Sabadell cohorts, while 8-year data were available for the Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts. TL was measured from the leukocyte fraction of blood samples collected at the corresponding follow-up visits, using a modified fluorochrome-based quantitative

polymerase chain reaction (qPCR) protocol [21]. Each sample was analyzed in triplicate using a 7900HT real-time PCR system (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA) with a 384-well plate format. To evaluate the efficiency of the qPCR reactions for both the telomeric (T) and single-copy gene (S) assays, a 6-point serial dilution was prepared from pooled DNA samples ($n = 12$) in every run. The resulting amplification efficiencies were 107% for the T assay ($R^2 = 0.994$ – 0.999) and 97% for the S assay ($R^2 = 0.995$ – 0.999). TL quantification was performed using qBase software [22] (Biogazelle, Zwijnarde, Belgium), and results were expressed as the ratio of telomere repeat copy number and single-copy gene quantity (T/S), standardized against the average T/S value of the complete dataset. To assess the precision of the measurement protocol, intraclass correlation coefficients (ICC) were computed for triplicate readings of telomeric (T) values (ICC = 0.957; 95% CI: 0.954–0.96; $p < 0.0001$), single-copy gene (S) values (ICC = 0.968; 95% CI: 0.965–0.97; $p < 0.0001$), and T/S ratios (ICC = 0.925; 95% CI: 0.918–0.93; $p < 0.0001$), using the ICC calculation code provided by the Telomere Research Network [23]. Further details on TL measurement procedures, quality control, and distribution by cohort are provided in the Supplementary Material.

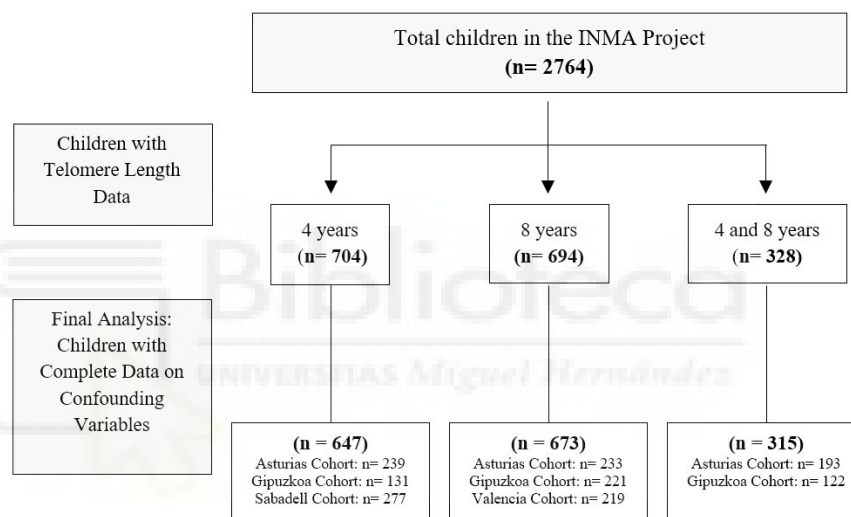


Figure 1. Flowchart of the study population from the INMA project.

For association analyses, leukocyte TL measurements were transformed into z-scores. This transformation involved converting the telomere measurements to a distribution with a mean equal to zero and a standard deviation of one [24].

2.2.2. Emotional and Behavioral Problems

Emotional and behavioral problems were assessed at age 8 using the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) [25]. In this study, emotional and behavioral problems were assessed using the Spanish parent-rated version of the SDQ, completed by the child's main caregiver. This version has been adapted and validated in Spain based on data collected from both parents and teachers in a large sample of Spanish children ($n = 595$) [26]. The SDQ is a validated instrument intended for use with children aged 4 to 16 years. It comprises 25 items rated on a 3-point Likert scale (0 = not true; 1 = somewhat true; 2 = certainly true). The tool evaluates five domains: emotional symptoms, peer relationship problems, conduct issues, hyperactivity, and prosocial behavior. Scores from emotional and peer problems subscales were combined to calculate the internalizing problems score (range: 0–20 points), whereas the conduct problems and hyperactivity subscales were combined to calculate the externalizing problems score (range: 0–20). A total difficulties score (range: 0–40) was also calculated by summing the scores of all subscales except the

prosocial behavior scale. Higher scores on the total and subscale scores indicate more severe emotional and behavioral problems. The parent-reported version of the SDQ has shown adequate psychometric properties, with a Cronbach's alpha of 0.76 for the total difficulties score and values ranging from 0.58 to 0.77 for individual subscales [26].

2.2.3. Covariates

To control for potential confounding factors, we also considered information on sociodemographic and lifestyle variables that could be associated with TL and the development of child emotional and behavioral problems, as previously described in the literature [27–29]. Maternal variables collected during pregnancy interviews included age (years), educational level (primary or lower and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), and preconception body mass index (BMI, kg/m²). Child-related variables included sex (male or female), age (years), and BMI (kg/m²), which were collected during follow-up visits at 4 and 8 years of age.

2.3. Statistical Analysis

All statistical analyses were conducted using R software (version 4.4.1; R Foundation for Statistical Computing). A two-sided significance threshold was set at 0.05. The distribution of continuous variables was assessed using the Kolmogorov–Smirnov test with Lilliefors correction.

Descriptive statistics were used to summarize maternal and child characteristics across different follow-up periods, including pregnancy and visits at 4 and 8 years. Categorical variables were summarized using absolute and relative frequencies (%), while continuous variables not normally distributed were described by median and interquartile range (IQR). To explore the association between leukocyte TL z-scores and emotional and behavioral problems at different time points, zero-inflated negative binomial (ZINB) regression models or negative binomial (NB) regression models were used, depending on the distribution of the outcome variable [30]. The internalizing problems score, being a count variable with an excess of zeros, was analyzed using a ZINB model to estimate adjusted odds ratios (ORs) and incidence rate ratios (IRRs). For the externalizing problems score and the total emotional and behavioral problems score, NB models were employed to calculate IRRs. These estimates represent the change in risk of emotional and behavioral problems associated with a one-unit increase in the TL z-score, expressed as either ORs or IRRs depending on the model used.

Covariates associated with telomere length and emotional and behavioral problems in bivariate analyses were selected and tested as potential confounders. Those that altered the main association by 10% or more were retained in the final models. Considering that biological aging may differ between boys and girls, we also tested for interaction between the child's sex and the main outcomes. Statistically significant interactions were found between sex and telomere length at age 4 in relation to total emotional and behavioral problems ($p = 0.011$), and between sex and TL ranking change from ages 4 to 8 in relation to internalizing problems ($p = 0.009$). Consequently, we conducted stratified analyses by sex. A full set of interaction p -values is presented in the Supplementary Material. Cohort heterogeneity was assessed using the I^2 statistic. To derive pooled estimates, we employed meta-analytic methods, applying fixed-effects models when heterogeneity was low ($I^2 < 50\%$) and switching to random-effects models in the presence of substantial heterogeneity ($I^2 > 50\%$).

3. Results

Table 1 summarizes the socio-demographic and lifestyle characteristics of the mothers and children across the three samples collected at various time points. Mother–child pairs were relatively equally distributed across cohorts, except for Gipuzkoa participants, who accounted for approximately two-thirds (61.3%) of the sample with complete data at both 4 and 8 years.

Table 1. Sociodemographic characteristics and lifestyles of mothers and children belonging to the INMA project (Spain).

Study Variables	Measures at 4 y (n = 647)	Measures at 8 y (n = 673)	Measures at Both 4 y and 8 y (n = 315)
Cohort, n (%)			
Asturias	240 (37.1)	234 (34.8)	193 (61.3)
Gipuzkoa	131 (20.2)	220 (32.7)	122 (38.7)
Sabadell	277 (42.7)	-	-
Valencia	-	219 (32.5)	-
Mother characteristics			
Age, median (IQR)	31.0 (29.0–34.0)	31.0 (29.0–34.0)	32.0 (30.0–35.0)
Educational Level, n (%)			
Primary or less	120 (18.5)	122 (18.1)	47 (14.9)
Secondary	274 (42.3)	273 (40.6)	125 (39.7)
University	254 (39.2)	278 (41.3)	143 (45.4)
Preconceptional BMI, median (IQR)	22.9 (20.8–25.6)	22.7 (20.7–25.6)	22.8 (20.6–25.3)
Smoking during pregnancy, n (%)			
Yes	166 (25.6)	200 (29.7)	81 (25.7)
No	482 (74.4)	473 (70.3)	234 (74.3)
Children characteristics			
Sex, n (%)			
Males	331 (51.1)	347 (51.6)	163 (51.7)
Females	317 (48.9)	326 (48.4)	152 (48.3)
BMI at 4 years, median (IQR)	15.9 (15.2–16.9)	-	16.1 (15.3–17.2)
BMI at 8 years, median (IQR)	16.7 (15.4–18.5)	17.0 (15.7–18.8)	17.0 (15.7–18.9)

BMI, body mass index; IQR, interquartile range; y, years.

The median maternal age was 31–32 years, with over 80.0% of the mothers having attained secondary or university education. The median preconceptional BMI ranged from 22.7 to 22.9 kg/m², and approximately three-quarters of the mothers abstained from smoking during pregnancy. Slightly more than half of the children were male across the three samples, with a median BMI of 16.7 kg/m² at 4 years and 17.0 kg/m² at 8 years.

Regarding the main variables, the median of leukocyte TL at 4 and 8 years (T/S ratio) was 1.0 (IQR = 0.9 to 1.2) and 1.0 (IQR = 0.8 to 1.1), respectively. The median difference in leukocyte TL between 4 and 8 years was 0.03 (IQR = −0.07 to 0.15). At 8 years, emotional and behavioral problems assessed using the SDQ showed a median internalizing problems score of 3.0 (IQR = 1.0 to 5.0) and a median externalizing problems score of 5.0 (IQR = 3.0 to 8.0). The total emotional and behavioral difficulties score had a median of 8.0 (IQR = 5.0 to 12.0), with a maximum possible score of 40.

The results of the association between leukocyte TL z-scores and emotional and behavioral problems (i.e., internalizing, externalizing, and total problems) in children from the INMA study are displayed in Table 2. Overall, no statistically significant associations were observed between leukocyte TL at 4 or 8 years, or TL ranking change from 4 to 8 years, and emotional and behavioral outcomes at age 8. Stratified models by sex (Tables 3 and 4) also showed no significant associations in either girls or boys, and no clear sex-specific trends were identified. These findings suggest no consistent association between TL and emotional and behavioral problems in childhood, regardless of the age of measurement or sex.

Table 2. Association between leukocyte telomere length and emotional and behavioral problems (internalizing, externalizing, and global problems) in children of the INMA Project (Spain).

Emotional and Behavioral Problems at 8 Years	Leukocyte Telomere Length								
	4 Years (n = 647) ^a			8 Years (n = 673) ^b			Change 4–8 Years (n = 315) ^c		
	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)
Internalizing problems ^a									
Count (OR)	0.92 (0.54; 1.55)	0.753	34.1	0.72 (0.29; 1.82)	0.418	0.0	0.34 (0.06; 2.10)	0.263	0.0
IRR	1.02 (0.95; 1.09)	0.635	30.3	1.01 (0.95; 1.08)	0.663	0.0	1.06 (0.94; 1.19)	0.315	38.6
Externalizing problems (IRR)	0.97 (0.92; 1.03)	0.317	37.4	1.03 (0.99; 1.09)	0.146	4.0	0.98 (0.87; 1.11)	0.784	49.1
Total score (IRR)	0.99 (0.94; 1.03)	0.582	48.2	1.03 (0.98; 1.08)	0.232	30.3	0.98 (0.87; 1.11)	0.818	48.2

OR, odds ratio; IRR, incidence rate ratio. ^a Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), and the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous). ^b Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child’s age (continuous), and body mass index at 8 years (continuous). ^c Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous), and telomere length at 4 years (basal z-score).

Table 3. Association between leukocyte telomere length and emotional and behavioral problems (internalizing, externalizing, and global problems) in girls of the INMA Project (Spain).

Emotional and Behavioral Problems at 8 Years	Leukocyte Telomere Length								
	4 Years (n = 317) ^a			8 Years (n = 326) ^b			Change 4–8 Years (n = 152) ^c		
	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)
Internalizing problems ^a									
Count (OR)	0.88 (0.47; 1.63)	0.679	45.8	1.64 (0.60; 4.45)	0.330	33.1	0.87 (0.25; 3.00)	0.826	0.0
IRR	0.90 (0.70; 1.16)	0.414	82.0	1.08 (0.98; 1.19)	0.113	32.6	0.98 (0.84; 1.16)	0.880	47.0
Externalizing problems (IRR)	0.93 (0.86; 1.01)	0.093	38.0	1.05 (0.94; 1.20)	0.324	63.5	0.96 (0.84; 1.10)	0.565	43.4
Total score (IRR)	0.91 (0.78; 1.07)	0.261	78.3	1.07 (0.95; 1.21)	0.289	67.5	0.97 (0.80; 1.16)	0.720	63.7

OR, odds ratio; IRR, incidence rate ratio. ^a Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), and the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous). ^b Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child’s age (continuous), and body mass index at 8 years (continuous). ^c Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous), and telomere length at 4 years (basal z-score).

Table 4. Association between leukocyte telomere length and emotional and behavioral problems (internalizing, externalizing, and global problems) in boys of the INMA Project (Spain).

Emotional and Behavioral Problems at 8 Years	Leukocyte Telomere Length								
	4 Years (n = 330) ^a			8 Years (n = 347) ^b			Change 4–8 Years (n = 163) ^c		
	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)	Estimate (95% CI)	p-Value	I ² (%)
Internalizing problems ^a									
Count (OR)	1.15 (0.73; 1.78)	0.541	0.0	0.85 (0.47; 1.52)	0.586	0.0	1.00 (0.48; 2.10)	0.999	0.0
IRR	1.01 (0.98; 1.20)	0.100	0.0	0.96 (0.88; 1.05)	0.416	0.0	1.10 (0.94; 1.31)	0.230	0.0
Externalizing problems (IRR)	1.04 (0.97; 1.11)	0.258	0.0	1.02 (0.96; 1.09)	0.444	0.0	1.01 (0.90; 1.14)	0.817	0.0
Total score (IRR)	1.06 (0.99; 1.13)	0.079	0.0	1.00 (0.94; 1.06)	0.936	0.0	1.05 (0.93; 1.17)	0.428	0.0

OR, odds ratio; IRR, incidence rate ratio. ^a Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), and the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous). ^b Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child’s age (continuous), and body mass index at 8 years (continuous). ^c Models adjusted by mother’s age (continuous), educational level (primary or less and secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), the change values in body mass index and age between 4 and 8 years (continuous), and telomere length at 4 years (basal z-score).



4. Discussion

The present study explored the potential influence of leukocyte TL on emotional and behavioral symptoms at different time points during childhood, using data from a Spanish population-based birth cohort. No significant associations were found between TL and internalizing or externalizing problems in children.

The potential association between TL and increased risk of emotional and behavioral difficulties in childhood has been examined in other cohort studies, such as the study by Robinson and colleagues (2023) [16]. Using data from the European population-based HELIX exposome cohort, which included children from the INMA-Sabadell cohort, this study reported a significant association between a shorter TL and poorer externalizing behaviors in children at 6–11 years. The discrepancies between the findings from our study and those from HELIX may be partially explained by methodological differences. Notably, HELIX included a larger sample size (1159 children versus 673 in our study), likely providing greater statistical power to detect associations between TL and emotional and behavioral problems. Moreover, the two studies used different tools to measure emotional and behavioral problems: the Helix study employed the Child Behavior Checklist (CBCL), whereas the present study used the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ). These tools assess different dimensions of emotional and behavioral functioning, which may partially explain discrepancies in results. Additionally, while the Helix study examined the association between TL and emotional and behavioral problems cross-sectionally at a single point (6–11 years), the present study adopted a longitudinal approach, including assessments at multiple time points (4 and 8 years) and analyzing changes in TL over time. This broader perspective offers unique insights but may also introduce complexities that could impact the detection of significant associations.

Similarly, a study conducted with a Bucharest cohort ($n = 195$) reported significant associations between shorter TL and higher scores of internalizing problems at 8–10 years, as well as shorter TL and greater scores in general psychopathology at 10–12 years [15]. This study used different methods to collect the key variables: TL was measured using buccal DNA, in contrast to blood DNA in this present study, and children's risk of psychopathology was reported by teachers at 8–10 years and by both teachers and caregivers at 10–12 years using the MacArthur Health and Behavior Questionnaire. Furthermore, this study employed a longitudinal path analysis to examine the directionality of the association between TL and childhood risk of psychopathology, finding evidence of a bidirectional relationship. Specifically, shorter TL was associated with increased reporting of psychological symptoms, while internalizing problems at 8–10 years predicted shorter TL at 12–14 years. In contrast, the present study focused exclusively on TL as an exposure variable, examining its potential impact on emotional and behavioral problems over time, without assessing the reverse relationship. These findings suggest that while shorter TL may act as a biomarker for psychopathological symptoms, such symptoms may also contribute to accelerated TL shortening over time, potentially reflecting accumulative stress or adversity experienced during childhood.

Building on this bidirectional perspective, two additional studies have supported the potential impact of psychopathology on TL shortening in childhood. Kroenke and colleagues found an inverse association between internalizing problems and buccal TL in general population children aged 6–7 years from a San Francisco cohort [14]. Unlike the present study, this investigation examined the association inversely and had a smaller sample size ($n = 78$). It also used a different tool (MacArthur Health and Behavior Questionnaire) to assess psychopathological symptoms. Similarly, another study showed that children with oppositional defiant disorder at ages 3, 4, and 5 had shorter telomeres at ages 4 and 5 compared to children without this condition [17]. Together, these findings suggest

a relationship between psychopathology and TL shortening. One proposed hypothesis is that biological processes associated with psychopathology, such as inflammation, oxidative stress, and dysregulated neuroendocrine functioning, may contribute to telomere erosion [31].

Evidence from adult populations consistently showed an association between psychopathology and shorter TL in cross-sectional studies, particularly with internalizing disorders such as depression [11,13]. However, the directionality of this association remains unclear. Mixed evidence exists, with some prospective research showing that psychiatric disorders may predict telomere shortening, while other studies indicate that short telomeres may predispose adults to psychopathology [12,32]. In the present study, we were unable to investigate the reverse association, as data on psychopathology prior to telomere measurements were not available.

Another plausible explanation for the lack of significant associations observed in our study could be related to the sample characteristics and limitations in statistical power. Specifically, the low prevalence of internalizing and externalizing problems at age 8 limited the number of cases available for analysis, thereby reducing the power to detect meaningful associations. In addition, TL measurements at both 4 and 8 years showed minimal variability. This restricted range may have further constrained our ability to detect significant associations, even if they exist. Moreover, it is important to consider that TL was measured at a relatively early developmental stage (age 4), for which limited comparative data exist. Telomere dynamics and their association with psychosocial exposures may manifest differently across developmental periods, and associations may be more evident later in life, when stress-related biological changes have accumulated. This may also contribute to the divergence between our findings and those of studies involving older populations.

Building on this consideration, the average scores reported on the SDQ scales suggest that the children included in our sample presented generally low levels of emotional and behavioral difficulties, consistent with a community-based cohort rather than a clinical population. This characteristic may have limited the variability in outcome measures and reduced the likelihood of detecting significant associations with TL. Nevertheless, this feature also strengthens the contribution of our findings to the existing literature, as most previous research linking telomere length and psychopathology has been conducted in clinical samples. By focusing on a non-clinical population, our study offers complementary evidence on the potential utility of TL as a biomarker across the spectrum of emotional and behavioral functioning in childhood.

This study presents several limitations that should be acknowledged. First, the measurement of TL was based on a qPCR protocol applied to blood samples. Although this method is widely used due to its cost-effectiveness and speed, it provides an average measurement across all samples and may be subject to measurement error. Second, while the regression models were adjusted for potential confounding variables, some degree of residual or unknown confounding may still be present. Third, the absence of significant associations in our study may also reflect limitations in measurement sensitivity or in the theoretical framework linking TL to child psychopathology. Although the SDQ is a widely used and validated screening tool, it may not capture subtle emotional and behavioral profiles that could be biologically linked to telomere dynamics. Likewise, the biological embedding of psychosocial stress through telomere attrition may be more complex and influenced by cumulative exposures, genetic susceptibility, or environmental buffering, which may not be detectable in mid-childhood alone. Future research should explore alternative explanatory pathways and consider combining telomere measures with other biomarkers and more specific assessments of child psychopathology.

Despite these limitations, this study also has notable strengths. It was conducted within the context of the INMA population-based cohort, which collected detailed and longitudinal information on numerous covariates from pregnancy through childhood, thereby reducing the risk of recall and selection bias. Moreover, the availability of TL measurements at two time points (ages 4 and 8) enabled a longitudinal approach to explore potential associations with emotional and behavioral symptoms. While these methodological features strengthen this study's design, they do not necessarily ensure the detection of significant associations. Therefore, the findings should be interpreted with caution and considered exploratory in nature.

5. Conclusions

No significant associations were found between leukocyte TL at ages 4 and 8, or changes in TL over this period, and emotional and behavioral outcomes at age 8. While TL has been proposed as a psychobiomarker of chronic stress and early adversity, our findings suggest that its association with emotional and behavioral problems during childhood may be limited or context dependent. Further longitudinal research is needed to better understand the role of TL in child development, ideally extending follow-up into adolescence or early adulthood, using more sensitive and dimensional assessments of psychopathology, and integrating additional biological and environmental indicators of chronic stress.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/children12070875/s1>. Method S1: Average relative telomere length measurement using qPCR.; Figure S1: Distribution of leukocyte telomere length (T/S) in children at 4 years; Figure S2: Distribution of leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 4 years; Figure S3: Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) in children at 4 years; Figure S4: Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 4 years; Figure S5: Distribution of leukocyte telomere length (T/S) in children at 8 years; Figure S6: Distribution of leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 8 years; Figure S7: Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) in children at 8 years; Figure S8: Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 8 years; Figure S9: Distribution of leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years; Figure S10: Distribution of leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years by cohort; Figure S11: Distribution of z-score leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years; Figure S12: Distribution of z-score leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years by cohort; Figure S13: Correlation between leukocyte telomere length at 4 and 8 years; Table S1: Interaction between telomere length and child's sex in relation to psychoemotional problems (internalizing, externalizing, and total score). Refs. [33,34].

Author Contributions: Conceptualization, E.M.N.-M. and D.V.-G.; methodology, E.M.N.-M. and D.V.-G.; formal analysis, I.C.-S., E.M.N.-M., J.X.B.-V., and D.V.-G.; data curation, I.C.-S., E.M.N.-M., and D.V.-G.; writing—original draft preparation, I.C.-S. and D.V.-G.; writing—review and editing, I.C.-S., E.M.N.-M., J.X.B.-V., D.S.M., I.R.-G., A.I., S.L., M.G., C.R.-D., I.B., M.L., M.V., T.N., and D.V.-G.; supervision, E.M.N.-M. and D.V.-G.; project administration, M.G.; funding acquisition, E.M.N.-M., A.I., S.L., M.G., M.L., M.V., and D.V.-G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Instituto de Salud Carlos III/Agencia Estatal de Investigación (PI18/00825) about the Project: "Diet and physical activity in pregnancy and after birth and telomere length in children and adolescents: TeloDiPA Project"; the Department of Innovation, Universities, Science and Digital Society of Valencian Community for the Project "Telomere length and neuropsychological development between 4 and 8 years: TeloNeuro Project (GVA/2021/191)"; and Irene Campos-Sánchez has a grant from the ministry of universities of Spain "Ayuda a la formación de profesorado Universitario (FPU21/01323)" and award for research by young research

personnel (Edition 2023, Manel Nebot) by the Spanish Society of Epidemiology. Dries Martens holds a postdoctoral grant from the Research Foundation Flanders (FWO grant 12X9623N). INMA Asturias was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176 and CB06/02/0041), FIS-PI042018 incl. FEDER funds, FIS-PI09/02311 incl. FEDER funds, FIS-PI13/02429 incl. FEDER funds, FIS-PI18/00909 incl. FEDER funds, CIBERESP, Obra Social Cajastur/Fundación Liberbank, and Universidad de Oviedo. INMA Gipuzkoa was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (FIS-PI06/0867, FIS-PI09/00090, FIS-PI13/02187, FIS-PI18/01142 including FEDER funds, and FIS-PI18/01237 incl. FEDER funds), CIBERESP, the Department of Health of the Basque Government (2005111093, 2009111069, 2013111089, 2015111065, and 2018111086), and the Provincial Government of Gipuzkoa (DFG06/002, DFG08/001, DFG15/221, and DFG 89/17) and annual agreements with the municipalities of the study area (Zumarraga, Urretxu, Legazpi, Azkoitia, Azpeitia, Beasain). INMA-Sabadell was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176; CB06/02/0041; PI041436; PI081151 incl. FEDER funds; PI12/01890 incl. FEDER funds; CP13/00054 incl. FEDER funds; PI15/00118 incl. FEDER funds), CIBERESP, Generalitat de Catalunya-CIRIT 1999SGR 00241, Generalitat de Catalunya-AGAUR (2009 SGR 501, 2014 SGR 822), Fundació La marató de TV3 (090430), Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2012-32991 incl. FEDER funds), Agence Nationale de Securite Sanitaire de l'Alimentation de l'Environnement et du Travail (1262C0010), and EU Commission (261357, 308333, 603794, and 634453). We acknowledge support from the grant CEX2018-000806-S funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and support from the Generalitat de Catalunya through the CERCA Program. INMA Valencia was supported by Grants from UE (FP7-ENV-2011 cod 282957, HEALTH.2010.2.4.5-1, code 874583, and code 101136566), Spain: ISCIII (G03/176; FIS-FEDER: PI11/01007, PI11/02591, PI11/02038, PI12/00610, PI13/1944, PI13/2032, PI14/00891, PI14/01687, PI16/1288, PI17/00663, PI19/1338; PI23/1578), Miguel Servet-FEDER CP11/00178, CP15/00025, MSII16/00051, MS20/0006), Spanish Ministry of Universities (Margarita Salas Grant MS21-133, grant CAS21/00008, NextGeneration EU), Generalitat Valenciana (CIAICO/2021/132, BEST/2020/059, AICO 2020/285, AICO/2021/182 and CIDEAGENT/2019/064), Consejo General de Enfermería (PNI22_CGE45), FISABIO (UGP 15-230, UGP-15-244, UGP-15-249), and Alicia Koplowitz Foundation 2017.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Miguel Hernández University of Elche (DPC.ENM.01.20; approved on 6 July 2020).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

Data Availability Statement: Access to the data is subject to ethical and legal restrictions established by the Ethics Committees of La Fe Hospital in Valencia and Miguel Hernández University. As stated in the informed consent provided to participants, we ensured the confidentiality of all personal information collected through questionnaires and related sources. Data access requests can be directed to the corresponding author, E.-M.N.-M., at enavarrete@umh.es.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

TL	telomere length
INMA	Infancia y Medio Ambiente (Childhood and Environment)
qPCR	quantitative polymerase chain reaction
T	telomere
S	single-copy gene
T/S	ratio of telomere copy number to the number of single-copy genes
ICC	intraclass correlation coefficients
SDQ	Strengths and Difficulties Questionnaire
BMI	body mass index

IQR	interquartile range
ZINB	zero-inflated negative binomial
NB	negative binomial
OR	odds ratio
IRR	incidence rate ratios
y	years
CBCL	Child Behavior Checklist
DNA	deoxyribonucleic acid

References

- Sahin, E.; Colla, S.; Liesa, M.; Moslehi, J.; Müller, F.L.; Guo, M.; Cooper, M.; Kotton, D.; Fabian, A.J.; Walkey, C.; et al. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature* **2011**, *470*, 359–365. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- O’Sullivan, R.J.; Karlseder, J. Telomeres: Protecting chromosomes against genome instability. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2010**, *11*, 171–181. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wang, Q.; Zhan, Y.; Pedersen, N.L.; Fang, F.; Hägg, S. Telomere Length and All-Cause Mortality: A Meta-analysis. *Ageing Res. Rev.* **2018**, *48*, 11–20. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Codd, V.; Wang, Q.; Allara, E.; Musicha, C.; Kaptoge, S.; Stoma, S.; Jiang, T.; Hamby, S.E.; Braund, P.S.; Bountziouka, V.; et al. Polygenic basis and biomedical consequences of telomere length variation. *Nat. Genet.* **2021**, *53*, 1425–1433. [\[CrossRef\]](#)
- López-Otín, C.; Blasco, M.A.; Partridge, L.; Serrano, M.; Kroemer, G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* **2023**, *186*, 243–278. [\[CrossRef\]](#)
- Powell, T.R.; De Jong, S.; Breen, G.; Lewis, C.M.; Dima, D. Telomere length as a predictor of emotional processing in the brain. *Hum. Brain Mapp.* **2019**, *40*, 1750–1759. [\[CrossRef\]](#)
- Epel, E.S. Telomeres in a Life-Span Perspective: A New “Psychobiomarker”? *Curr. Dir. Psychol. Sci.* **2009**, *18*, 6–10. [\[CrossRef\]](#)
- Achenbach, T.M.; Ivanova, M.Y.; Rescorla, L.A.; Turner, L.V.; Althoff, R.R. Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry* **2016**, *55*, 647–656. [\[CrossRef\]](#)
- Aymerich, C.; Pedruzo, B.; Pachó, M.; Herrero, J.; Laborda, M.; Bordenave, M.; de Pablo, G.S.; Sesma, E.; Fernández-Rivas, A.; Catalan, A.; et al. Relationship between elimination disorders and internalizing-externalizing problems in children: A systematic review and meta-analysis. *JCPP Adv.* **2023**, *3*, e12185. [\[CrossRef\]](#)
- Vasileva, M.; Graf, R.K.; Reinelt, T.; Petermann, U.; Petermann, F. Research review: A meta-analysis of the international prevalence and comorbidity of mental disorders in children between 1 and 7 years. *J. Child. Psychol. Psychiatry* **2021**, *62*, 372–381. [\[CrossRef\]](#)
- Malouff, J.M.; Schutte, N.S. A meta-analysis of the relationship between anxiety and telomere length. *Anxiety Stress Coping* **2017**, *30*, 264–272. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Shalev, I.; Moffitt, T.E.; Braithwaite, A.W.; Danese, A.; Fleming, N.I.; Goldman-Mellor, S.; Harrington, H.L.; Houts, R.M.; Israel, S.; Poulton, R.; et al. Internalizing disorders and leukocyte telomere erosion: A prospective study of depression, generalized anxiety disorder and post-traumatic stress disorder. *Mol. Psychiatry* **2014**, *19*, 1163–1170. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Ridout, K.K.; Ridout, S.J.; Price, L.H.; Sen, S.; Tyrka, A.R. Depression and telomere length: A meta-analysis. *J. Affect. Disord.* **2016**, *191*, 237–247. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Kroenke, C.H.; Epel, E.; Adler, N.; Bush, N.R.; Obradovic, J.; Lin, J.; Blackburn, E.; Stamperdahl, J.L.; Boyce, W.T. Autonomic and adrenocortical reactivity and buccal cell telomere length in kindergarten children. *Psychosom. Med.* **2011**, *73*, 533–540. [\[CrossRef\]](#)
- Wade, M.; Fox, N.A.; Zeanah, C.H.; Nelson, C.A.; Drury, S.S. Telomere Length and Psychopathology: Specificity and Direction of Effects Within the Bucharest Early Intervention Project. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry* **2020**, *59*, 140–148.e3. [\[CrossRef\]](#)
- Robinson, O.; Lau, C.E.; Joo, S.; Andrusaityte, S.; Borrás, E.; de Prado-Bert, P.; Chatzi, L.; Keun, H.C.; Grazuleviciene, R.; Gutzkow, K.B.; et al. Associations of four biological age markers with child development: A multi-omic analysis in the European HELIX cohort. *Elife* **2023**, *12*, e85104. [\[CrossRef\]](#)
- Wojcicki, J.M.; Heyman, M.B.; Elwan, D.; Shiboski, S.; Lin, J.; Blackburn, E.; Epel, E. Telomere length is associated with oppositional defiant behavior and maternal clinical depression in Latino preschool children. *Transl. Psychiatry* **2015**, *5*, e581. [\[CrossRef\]](#)
- Tien, J.; Lewis, G.D.; Liu, J. Prenatal risk factors for internalizing and externalizing problems in childhood. *World J. Pediatr.* **2020**, *16*, 341–355. [\[CrossRef\]](#)
- Kovess-Masfety, V.; Husky, M.M.; Keyes, K.; Hamilton, A.; Pez, O.; Bitfoi, A.; Carta, M.G.; Goelitz, D.; Kuijper, R.; Otten, R.; et al. Comparing the prevalence of mental health problems in children 6–11 across Europe. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* **2016**, *51*, 1093–1103. [\[CrossRef\]](#)
- Guxens, M.; Ballester, F.; Espada, M.; Fernández, M.F.; Grimalt, J.O.; Ibarluzea, J.; Olea, N.; Rebagliato, M.; Tardón, A.; Torrent, M.; et al. Cohort Profile: The INMA—Infancia y Medio Ambiente—(Environment and Childhood) Project. *Int. J. Epidemiol.* **2012**, *41*, 930–940. [\[CrossRef\]](#)

21. Cawthon, R.M. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic. Acids Res.* **2009**, *37*, e21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Hellemans, J.; Mortier, G.; De Paepe, A.; Speleman, F.; Vandesompele, J. QBase Relative Quantification Framework and Software for Management and Automated Analysis of Real-Time Quantitative PCR Data. *Genome Biol.* **2007**, *8*, R19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Telomere Research Network. Study Design & Analysis. Available online: <https://trn.tulane.edu/resources/study-design-analysis/> (accessed on 10 June 2025).
24. Verhulst, S. Improving comparability between qPCR-based telomere studies. *Mol. Ecol. Resour.* **2020**, *20*, 11–13. [[CrossRef](#)]
25. Goodman, R. The Strengths and Difficulties Questionnaire: A research note. *J. Child. Psychol. Psychiatry.* **1997**, *38*, 581–586. [[CrossRef](#)]
26. Rodríguez-Hernández, P.; Betancort, M.; de la Fuente, J.M.; Calpena, E.; Martín, A.; Rodríguez, R. Psychometric properties of the parent and teacher versions of the Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) in a Spanish sample. *Int. J. Clin. Health Psychol.* **2012**, *12*, 265–279.
27. Demanelis, K.; Jasmine, F.; Chen, L.S.; Chernoff, M.; Tong, L.; Delgado, D.; Zhang, C.; Shinkle, J.; Sabarinathan, M.; Lin, H.; et al. Determinants of telomere length across human tissues. *Science* **2020**, *369*, eaaz6876. [[CrossRef](#)]
28. Likhar, A.; Baghel, P.; Patil, M. Early Childhood Development and Social Determinants. *Cureus* **2022**, *14*, e29500. [[CrossRef](#)]
29. Ferschmann, L.; Bos, M.G.N.; Herting, M.M.; Mills, K.L.; Tamnes, C.K. Contextualizing adolescent structural brain development: Environmental determinants and mental health outcomes. *Curr. Opin. Psychol.* **2022**, *44*, 170–176. [[CrossRef](#)]
30. Zuur, A.F.; Saveliev, A.A.; Ieno, E.N. *Zero Inflated Models and Generalized Linear Mixed Models with R*; Highland Statistics Ltd.: Newburgh, UK, 2012; p. 324. (Highland Statistics Ltd. book series).
31. Wolkowitz, O.M.; Mellon, S.H.; Epel, E.S.; Lin, J.; Dhabhar, F.S.; Su, Y.; Reus, V.I.; Rosser, R.; Burke, H.M.; Kupferman, E.; et al. Leukocyte Telomere Length in Major Depression: Correlations with Chronicity, Inflammation and Oxidative Stress—Preliminary Findings. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e17837. [[CrossRef](#)]
32. Phillips, A.C.; Robertson, T.; Carroll, D.; Der, G.; Shiels, P.G.; McGlynn, L.; Benzeval, M. Do symptoms of depression predict telomere length? Evidence from the west of Scotland twenty-07 study. *Psychosom. Med.* **2013**, *75*, 288–296. [[CrossRef](#)]
33. Martens, D.S.; Van Der Stukken, C.; Derom, C.; Thiery, E.; Bijmens, E.M.; Nawrot, T.S. Newborn Telomere Length Predicts Later Life Telomere Length: Tracking Telomere Length from Birth to Child- and Adulthood. *EBioMedicine* **2021**, *63*, 103164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Martens, D.S.; Janssen, B.G.; Bijmens, E.M.; Clemente, D.B.P.; Vineis, P.; Plusquin, M.; Nawrot, T.S. Association of Parental Socioeconomic Status and Newborn Telomere Length. *JAMA Netw. Open* **2020**, *3*, e204057. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary Material

Section S1. Telomere Length Measurement

Methods S1. Average relative telomere length measurement using qPCR.

Average relative telomere length was measured using a modified qPCR protocol in accordance with Cawthon et al.¹ that was reported by Martens and colleagues². Firstly, DNA quantity and purity was assessed using a Nanodrop 1000 spectrophotometer (Isogen, Life Science, Belgium) considering the DNA pure when the A260/280 was greater than 1.80 and A260/230 greater than 2.0. DNA integrity was assessed by agarose gel-electrophoresis. To ensure a uniform DNA input of 5 ng for each qPCR reaction, samples were diluted and checked using the Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit (Life Technologies, Europe). The samples All samples were measured in triplicate using a 7900HT Fast RealTime PCR System (Applied Biosystems) in a 384-well format. The reaction mixture used to assess telomeres contained 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix (Qiagen, Inc., Venlo, the Netherlands), 2 mM dithiothreitol (DTT), 300 nM telg primer (ACACTAAGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGT TAGTGT) and 900 nM telc primer (TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA). The applied cycling conditions were: 1 cycle at 95°C for 10 min, 2 cycles at 94°C for 15 sec and 49°C for 2 min, and 30 cycles at 94°C for 15 sec, 62°C for 20 sec, and 74°C for 1 min and 40 sec. The single-copy gene (human β globin) qPCR mixture contained 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 400 nM HBG1 primer (GCTTCTGACACAACACTGTGTTCACTAGC) and 400 nM HBG2 primer (CACCAACTTCATCCACGTTCAACC). The single-copy gene used in Sabadell samples at 8 years was different and contained 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 300 nM 36B4u primer (CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC) and 500 nM 36B4d primer (CCCATTCTATCATCAACGG GTACAA)³. The same cycling conditions were used: 1 cycle at 95°C for 10 min, 40 cycles at 95°C for 15 sec, and 58°C for 1 min and 20 sec. After PCR cycling individual qPCR curves and melt curves were visually inspected and when a run error was observed the Cq value was removed from subsequent analysis. In addition, when triplicate measures showed a deviation of more than 0.3 in Cq value these were removed from subsequent analysis.

1. Cawthon, R.M. Telomere Length Measurement by a Novel Monochrome Multiplex Quantitative PCR Method. *Nucleic Acids Res* 2009, 37, e21, doi:10.1093/nar/gkn1027.

2. Martens, D.S.; Van Der Stukken, C.; Derom, C.; Thiery, E.; Bijmens, E.M.; Nawrot, T.S. Newborn Telomere Length Predicts Later Life Telomere Length: Tracking Telomere Length from Birth to Child- and Adulthood. *EBioMedicine* 2021, 63, 103164, doi:10.1016/j.ebiom.2020.103164.

3. Martens, D.S.; Janssen, B.G.; Bijmens, E.M.; Clemente, D.B.P.; Vineis, P.; Plusquin, M.; Nawrot, T.S. Association of Parental Socioeconomic Status and Newborn Telomere Length. *JAMA Netw. Open* 2020, 3, e204057, doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.4057.

Section S2. Telomere Length Distribution

Figure S1. Distribution of leukocyte telomere length (T/S) in children at 4 years.

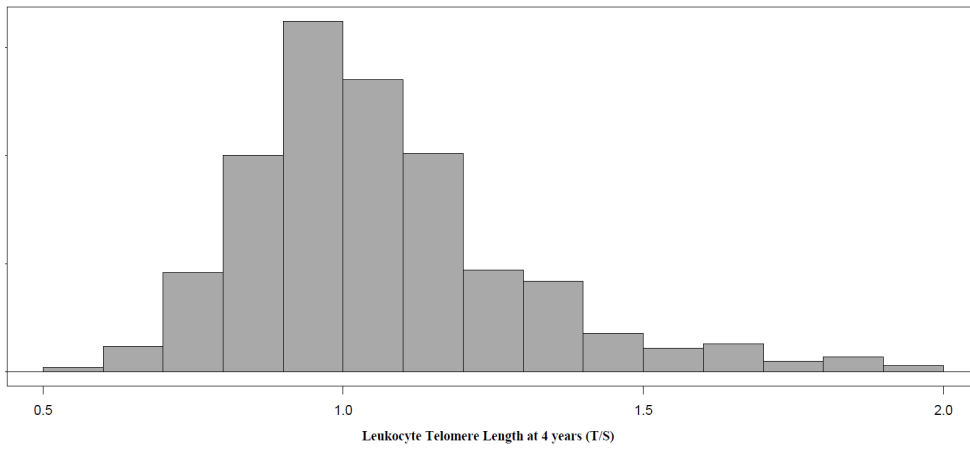


Figure S2. Distribution of leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 4 years.

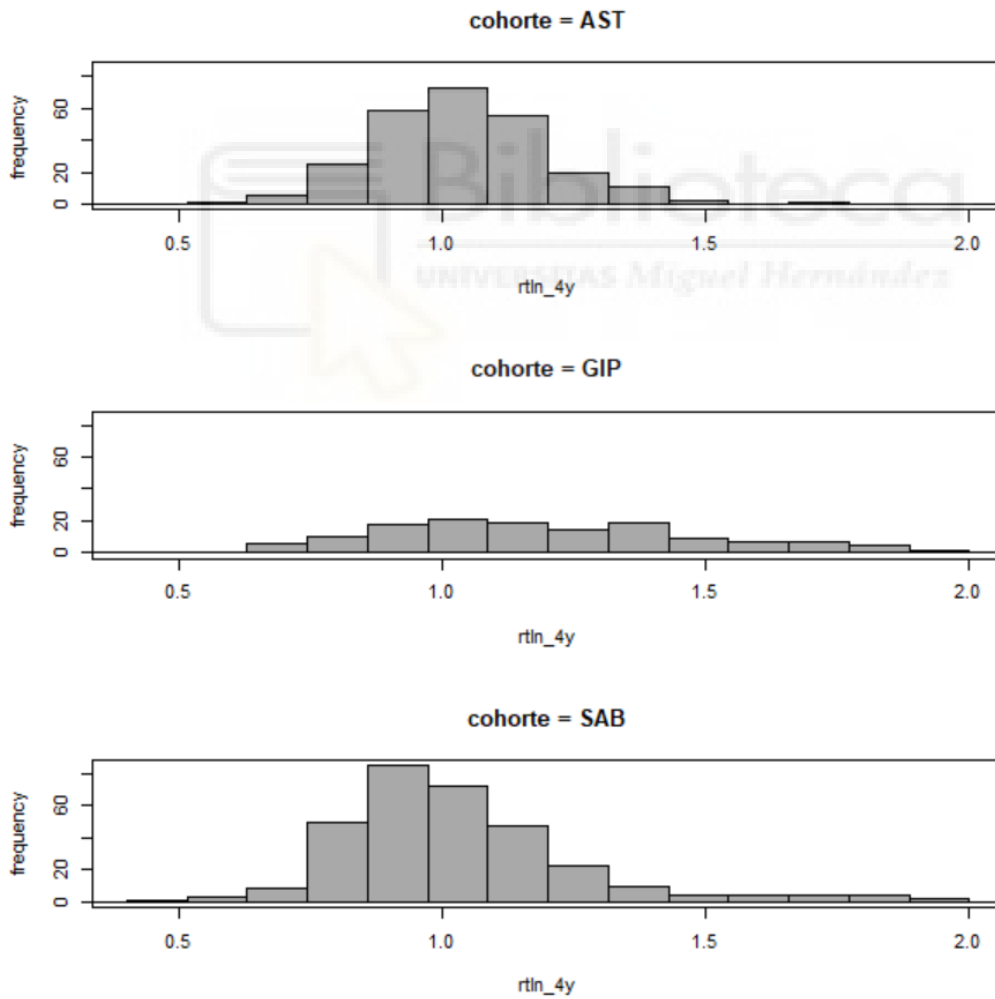


Figure S3. Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) in children at 4 years.

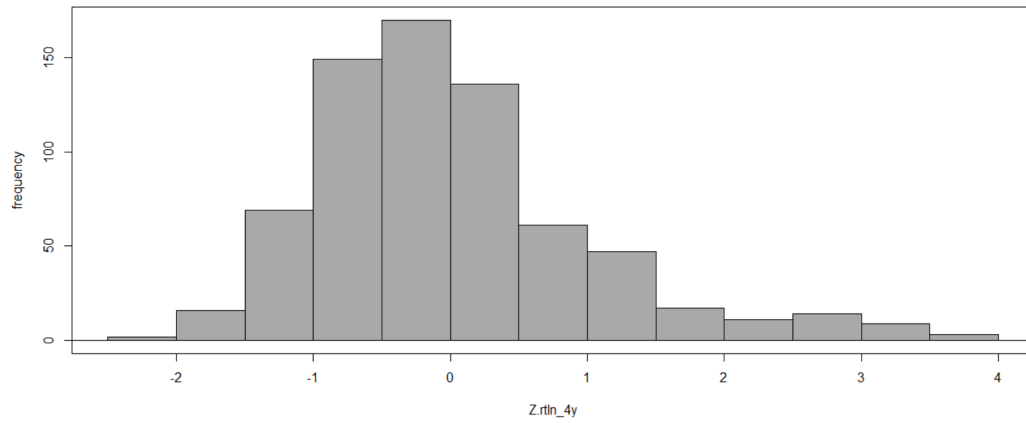


Figure S4. Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 4 years.

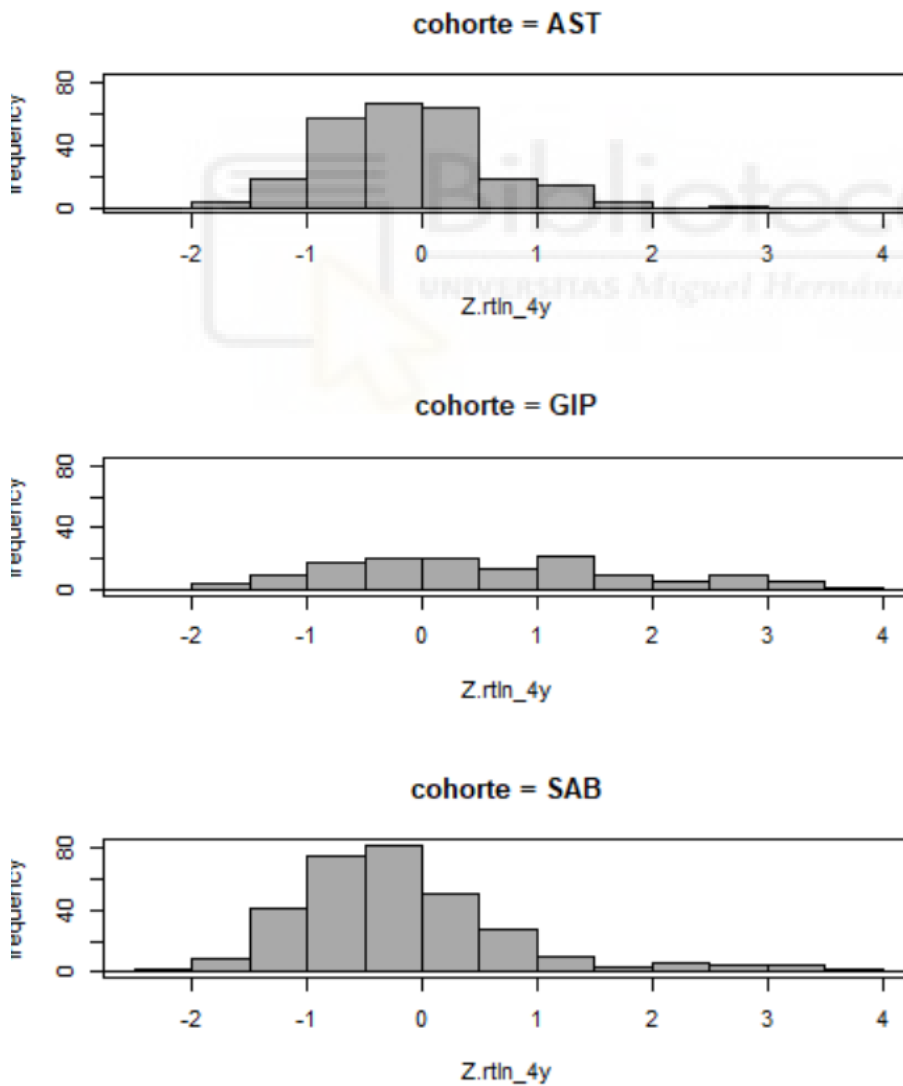


Figure S5. Distribution of leukocyte telomere length (T/S) in children at 8 years.

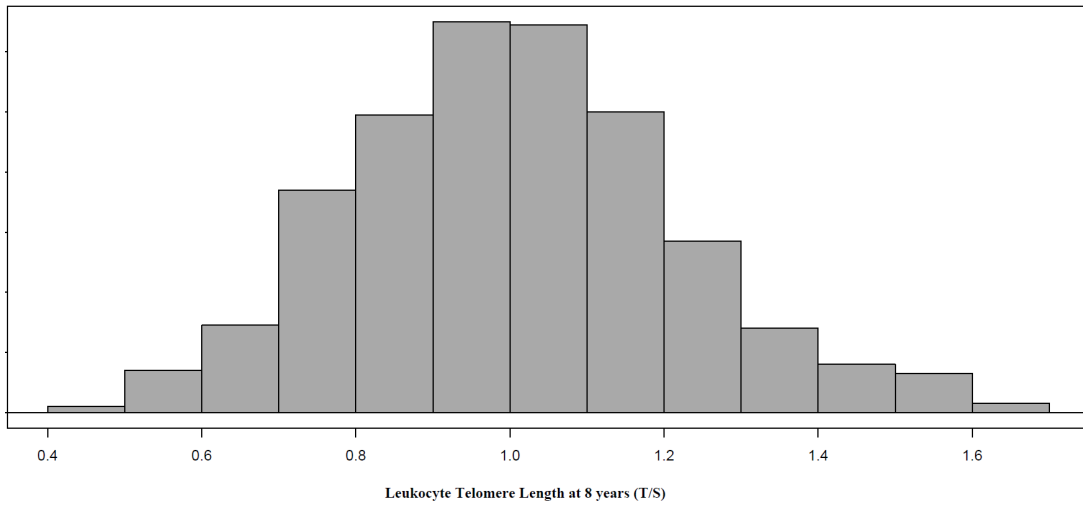


Figure S6. Distribution of leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 8 years.

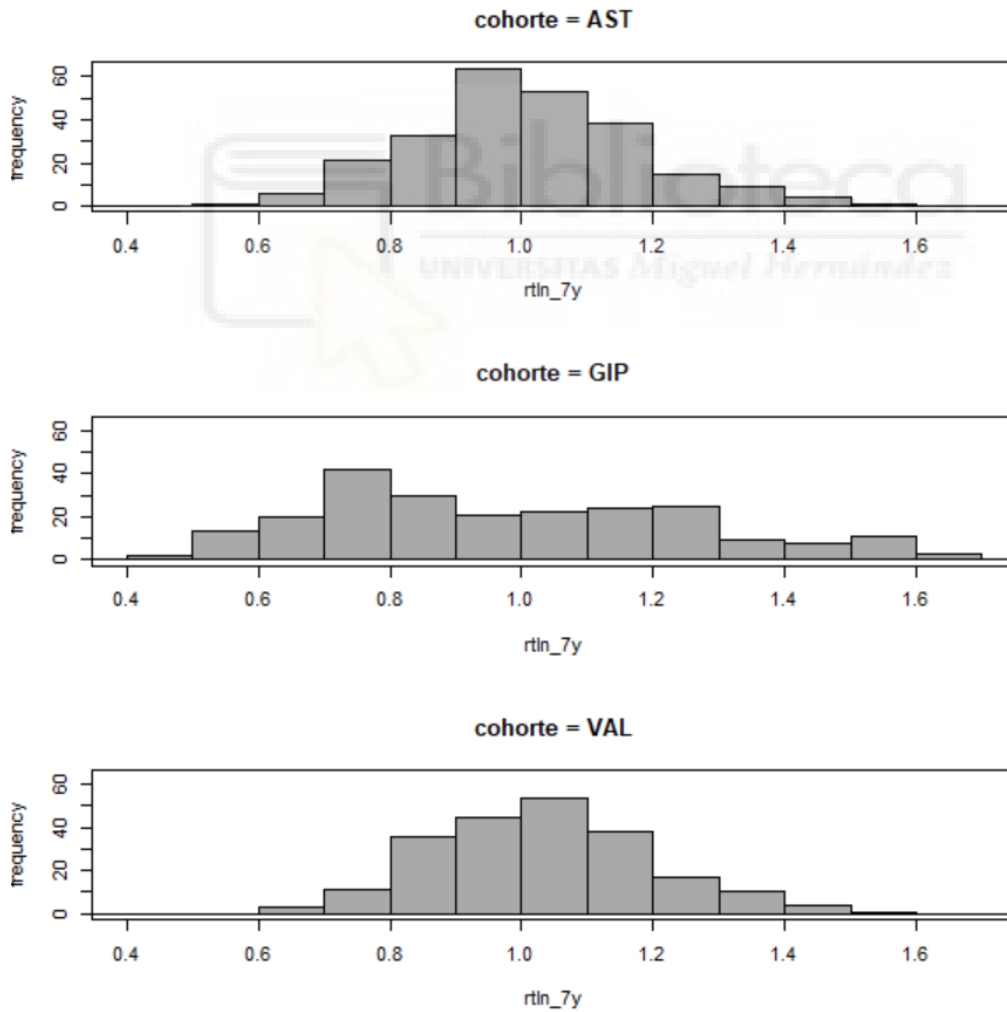


Figure S7. Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) in children at 8 years.

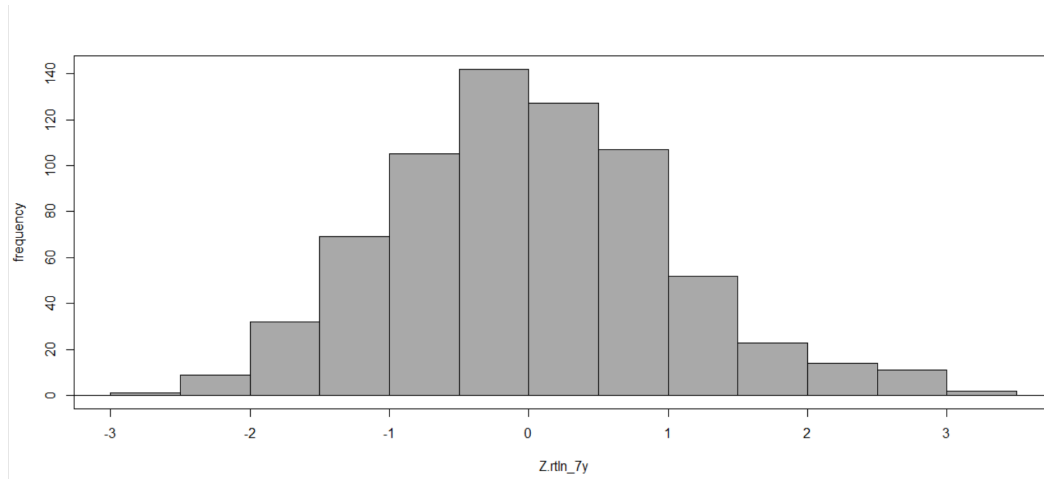


Figure S8. Distribution of z-score leukocyte telomere length (T/S) by cohort in children at 8 years.

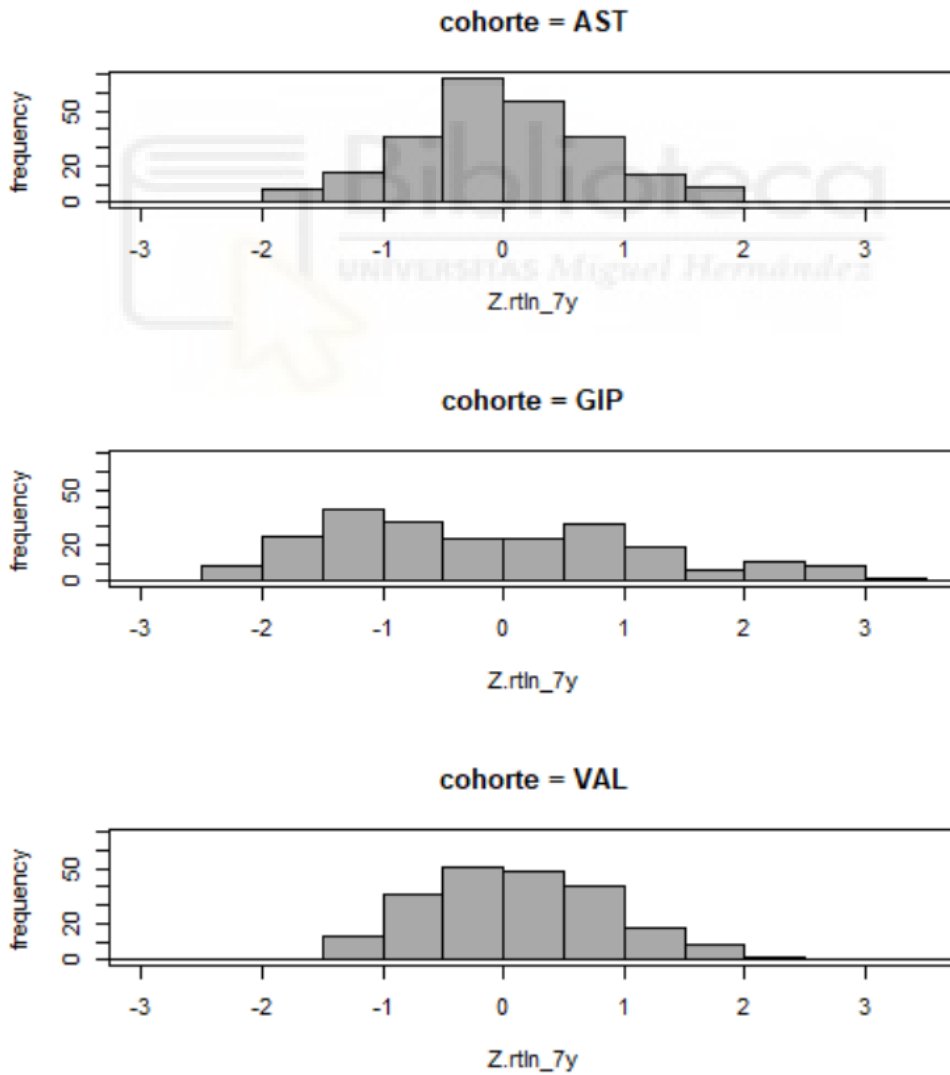


Figure S9. Distribution of leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years.

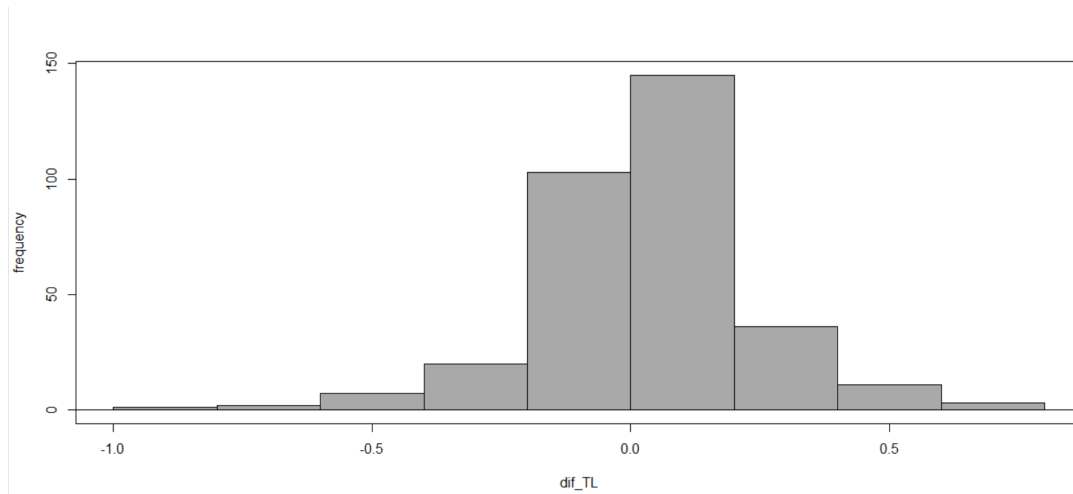


Figure S10. Distribution of leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years by cohort

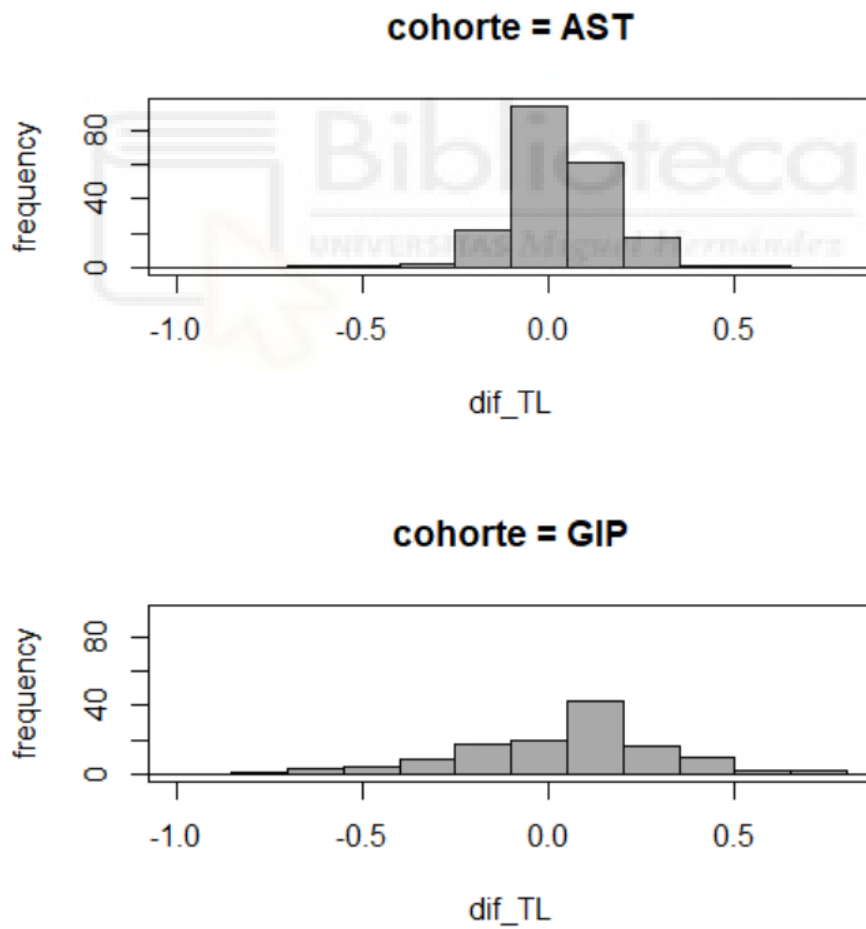


Figure S11. Distribution of z-score leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years.

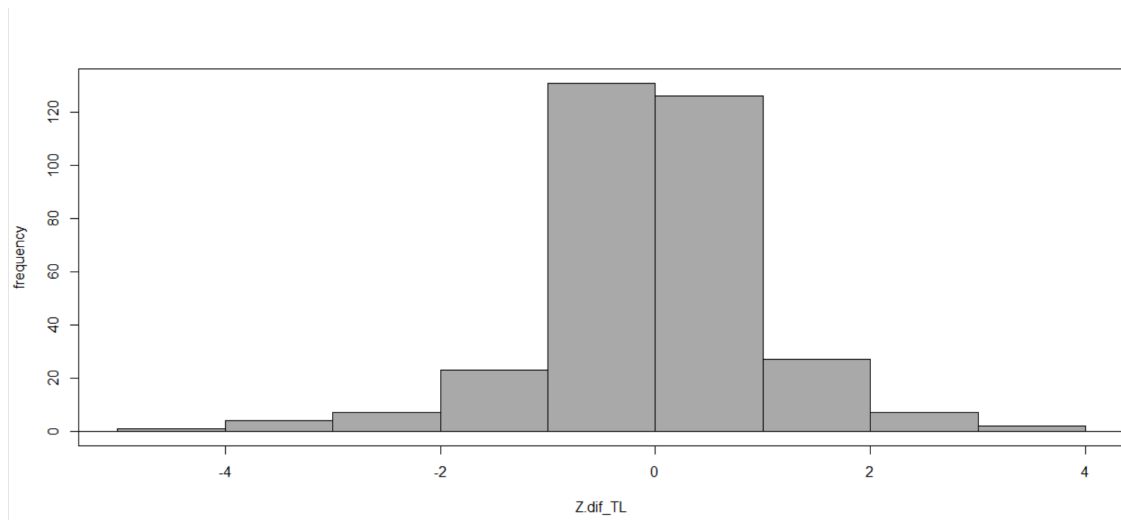
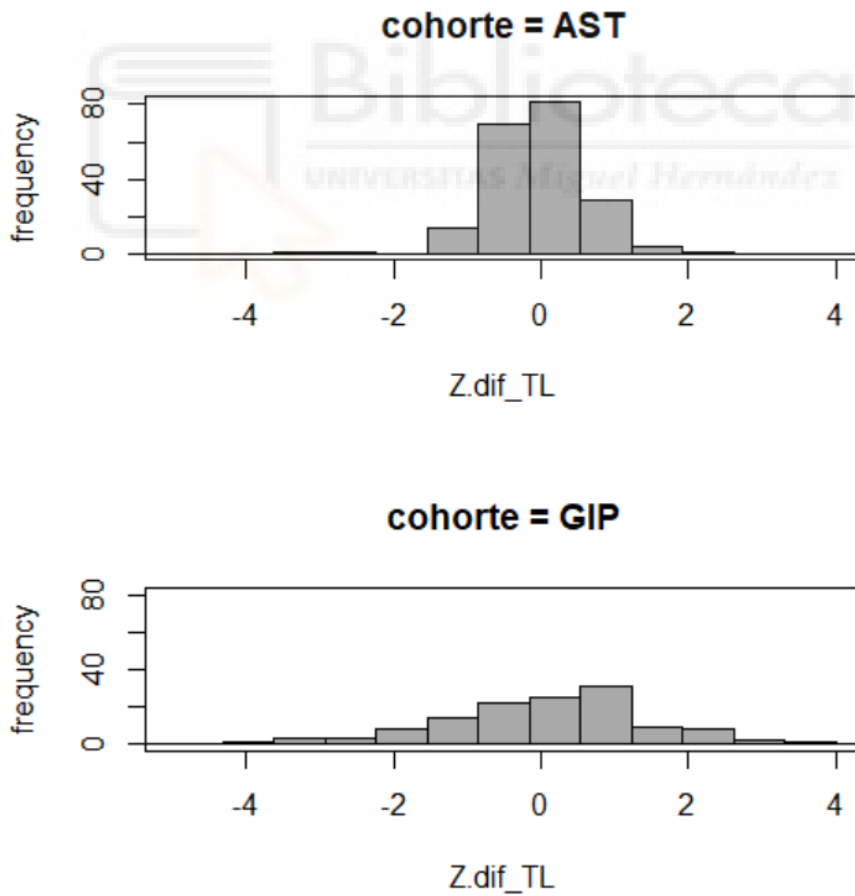
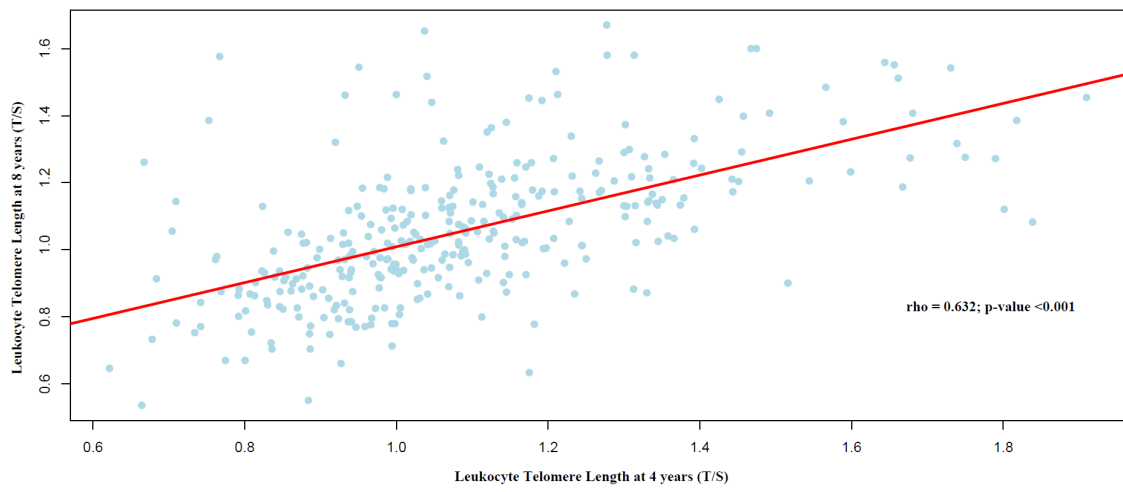


Figure S12. Distribution of z-score leukocyte telomere length ranking change between 4 and 8 years by cohort



Section S3. Correlation Between Telomere Length at 4 and 8 Years

Figure S13. Correlation between leukocyte telomere length at 4 and 8 years.



Section S4. Interaction with Child's Sex

P-values are shown for both count and rate components (OR and IRR) from ZINB/NB models. Models adjusted as detailed in footnotes.

Table S1. Interaction between telomere length and child's sex in relation to psychoemotional problems (internalizing, externalizing, and total score).

	Sex
TL at 4 years^a	
Internalizing problems	
Count (OR)	0.712
IRR	0.203
Externalizing problems	0.608
Total score	0.011
TL at 8 years^b	
Internalizing problems	
Count (OR)	0.266
IRR	0.080
Externalizing problems	0.180
Total score	0.061
TL ranking change from 4 to 8 years^c	
Internalizing problems	
Count (OR)	0.978
IRR	0.009
Externalizing problems	0.156
Total score	0.201

^a Models adjusted by mother's age (continuous), educational level (primary or less, secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child's sex (female or male) and the change values in body mass index and age between 4 to 8 years (continuous).

^b Models adjusted by mother's age (continuous), educational level (primary or less, secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child's sex (female or male), age (continuous) and body mass index at 8 years (continuous).

^c Models adjusted by mother's age (continuous), educational level (primary or less, secondary or university), smoking during pregnancy (yes or no), preconceptional body mass index (continuous), child's sex (female or male) and the change values in body mass index and age between 4 to 8 years (continuous) and telomere length at 4 years (basal z-score).

ANEXO 3. Artículo correspondiente a la Publicación III.

Article

**Telomere Length and Symptoms of
Attention Deficit and Hyperactivity
Disorder in Children at 6–12 Years**

Journal of Attention Disorders
2025, Vol. 29(6) 474–485
© The Author(s) 2025
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/10870547251314923
journals.sagepub.com/home/jad



Journal of Attention Disorders

PSYCHIATRY Q2

Factor de Impacto: 2,7

Telomere Length and Symptoms of Attention Deficit and Hyperactivity Disorder in Children at 6–12 Years

Journal of Attention Disorders
2025, Vol. 29(6) 474–485
© The Author(s) 2025
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/10870547251314923
journals.sagepub.com/home/jad



Irene Campos-Sánchez¹, Eva María Navarrete-Muñoz^{1,2} , Dries S. Martens³,
Isolina Riaño-Galán^{4,5}, Aitana Lertxundi^{5,6,7}, Sabrina Llop^{5,8,9},
Mónica Guxens^{5,10,11,12}, Cristina Rodríguez-Dehli¹³ , Nerea Lertxundi^{5,6,7},
Raquel Soler-Blasco^{5,8,9}, Martine Vrijheid^{5,10,11}, Tim S. Nawrot³, John Wright¹⁴,
Tiffany C. Yang¹⁴, Rosie McEachan¹⁴, Kristine Bjerve Gützkow¹⁵,
Vaia Lida Chatzi¹⁶, Marina Vafeiadi^{17,18}, Mariza Kampouri^{17,18},
Regina Grazuleviciene¹⁹, Sandra Andrusaityte¹⁹, Johanna Lepeule²⁰ ,
and Desirée Valera-Gran^{1,2} 

Abstract

Objective: To explore the association between telomere length (TL) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in children at 6–12 years. **Method:** Data from 1,759 children belonging to the HELIX project cohorts and the Asturias, Gipuzkoa and Valencia cohorts of INMA project were included. TL was determined by blood sample using a PCR protocol. ADHD symptoms were described by parents using the Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form. Multiple negative binomial regression models adjusted for potential confounders were used to estimate associations. **Results:** Overall estimates showed no associations between TL and ADHD symptoms. However, we observed that a longer TL was significantly associated with a lower risk of presenting hyperactivity symptoms in children belonging to the HELIX project (IRR=0.93, 95% CI [0.87, 0.99]; $p=.022$). **Conclusion:** While our study did not find a consistent association between TL and ADHD symptoms across all cohorts, the significant association found within the HELIX cohort suggests that longer TL may be linked to a lower risk of hyperactivity symptoms. Further research is needed to explore this association in more detail. (*J. of Att. Dis.* 2025; 29(6) 474-485)

Keywords

telomere length, attention deficit-hyperactivity disorder, neurodevelopment, children

Introduction

Telomeres are nucleoprotein structures containing TTAGGG sequences that protect the ends of chromosomes (Turner et al., 2019). During the cell division process, telomeres become shorter due to DNA polymerase's inability to complete chromosomal end replication (Blackburn et al., 2015). However, when telomeres become critically short, the cell stops dividing and renewing itself, entering a state known as cellular senescence. The accumulation of senescent cells promotes the ageing process of tissues and organisms. Consequently, TL attrition is recognized as a biomarker of cellular ageing (López-Otín et al., 2013). Although TL shortening occurs throughout an individual's lifetime, research has shown that this attrition is most pronounced during the first 20 years of life because of the high number of cell divisions (Aubert et al.,

2012). However, it is important to note that the rate of telomere loss is not solely determined by the rate of mitotic replication. It has been observed that other factors, such as exposure to oxidative and inflammatory stressors, can influence the rate at which TL shortens, varying between individuals of the same age. Thus, TL serves as a reflection of an individual's cumulative lifetime exposure to these stressors (Correia-Melo et al., 2014; Njajou et al., 2009).

Scientific literature on TL has focused more on research on ageing-related diseases, cell regeneration, or mortality (Wang et al., 2018). Studies in the adult population have shown that shorter telomeres are related to chronic pathologies such as cardiovascular diseases (De Meyer et al., 2018), cancer (Wentzensen et al., 2011), Alzheimer's disease (Zhan et al., 2015), and psychiatric

pathologies (Darrow et al., 2016). Besides assessing the impact of TL shortening on the development of several pathologies, some studies have evaluated the role of TL on brain structure and function in healthy adults. A meta-analysis showed that longer TL was beneficial for brain structure (i.e., global brain and hippocampal volume) and cognition (i.e., global cognition, attention/velocity and executive functions) during ageing (Gampawar et al., 2022). In addition, a recent longitudinal study supports the impact of TL on the brain, finding that shorter TL was associated with smaller total brain volume, white matter volume and subcortical brain structures (e.g., thalamus, hippocampus, accumbens, putamen, pallidum) (Cao et al., 2023).

Nevertheless, limited research exists regarding the potential link between TL and children's neuropsychological development and health. To our knowledge, only a few studies have shown associations between shorter telomeres with oppositional defiant behaviours (Wojcicki et al., 2015) and autism spectrum disorder (Lewis et al., 2020; Li et al., 2014). Several studies have examined the possible relationship between TL and symptoms of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), but the findings have been inconsistent. Specifically, Costa et al. (2015) found a negative correlation between symptoms of hyperactivity and impulsivity and TL in children aged 6 to 16 with diagnosis of ADHD (Costa et al., 2015). Additionally, another study showed a significant association between shorter telomeres at 12 months and increased

ADHD symptoms at 2 years (Pham et al., 2022). However, in contrast, a study conducted by Howell et al. (2022) reported different results, establishing an association between higher ADHD symptoms at 18 months and less telomere erosion in children aged 4 to 18 months. Similarly, a study involving young adults with ADHD diagnosis found a link between hyperactive-impulsive symptoms and longer telomeres (Momany et al., 2021).

ADHD is characterized by inattention, impulsivity, and hyperactivity symptoms that persist over time and negatively impact social, academic, and occupational functioning (Doernberg & Hollander, 2016). It is considered the most prevalent neurodevelopmental disorder, affecting approximately 7.6% of children worldwide (Salari et al., 2023). These symptoms contribute to a deterioration in the quality of life for both children and their families (Wanni Arachchige Dona et al., 2023).

Considering the potential role of TL in brain development, further research on the association between TL and neurodevelopment is clearly needed. TL has been suggested to have potential implications for neurodevelopmental disorders such as ADHD, particularly during childhood. Since TL highly decreases during this first stage of life, the variability in the rate of TL attrition could be associated with the development of ADHD and could potentially have long-term detrimental effects on later child health. Therefore, the main objective of this study was to examine the association between leukocyte TL and ADHD symptoms in children aged 6 to 12 years.

¹Occupational Therapy Research Group (InTeO, Investigación en Terapia Ocupacional), Department of Surgery and Pathology, Miguel Hernandez University, Alicante, Spain

²Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante, Universidad Miguel Hernández (ISABIAL-UMH), Alicante, Spain

³Center of Environmental Sciences, Hasselt University, Belgium

⁴Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias, Oviedo, Asturias, Endocrinología Pediátrica, Hospital Universitario Central de Asturias, Universidad de Oviedo, Spain

⁵Spanish Consortium for Research on Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

⁶University of the Basque Country (UPV/EHU), Spain

⁷Group of Environmental Epidemiology and Child Development, Biopuzkoa Health Research Institute, San Sebastián, Spain

⁸Epidemiology and Environmental Health Joint Research Unit, FISABIO–Universitat Jaume I–University of Valencia, Spain

⁹Faculty of Nursing and Chiropody, University of Valencia, Spain

¹⁰ISGlobal, Barcelona, Spain

¹¹Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

¹²Department of Child and Adolescent Psychiatry/Psychology, Erasmus MC, University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

¹³Servicio de Pediatría, Hospital San Agustín de Avilés, Spain

¹⁴Bradford Institute for Health Research, Bradford Teaching Hospitals NHS Foundation Trust, UK

¹⁵Division of Climate and Environmental Health, Department of Air Quality and Noise, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway

¹⁶Department of Preventive Medicine, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, USA

¹⁷Faculty of Medicine, Department of Social Medicine, University of Crete, Heraklion, Greece

¹⁸Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

¹⁹Department of Environmental Science, Vytautas Magnus University, Kaunas, Lithuania

²⁰Université Grenoble Alpes, Inserm, CNRS, Team of Environmental Epidemiology Applied to Development and Respiratory Health, IAB, Grenoble, France

Corresponding Author:

Eva María Navarrete-Muñoz, InTeO Research Group, Miguel Hernandez University, Ctra Alicante-Valencia, Sant Joan D'Alacant, Comunidad Valenciana, 03550, Spain.

Email: enavarrete@umh.es

Methods

Study Design and Population

This cross-sectional study used data from the Human Early-Life Exposome Project (HELIX Project, <http://www.projecthelix.eu/>), which included six European birth cohorts: BiB (Born in Bradford, United Kingdom); EDEN (Etude des Déterminants pré et postnataux du développement et de la santé de l'Enfant, France); KANC (Kaunas cohort, Lithuania); MoBa (The Norwegian Mother, Father, and Child Cohort study, Norway); Rhea (The Mother-Child Cohort in Crete, Greece) and INMA-Sabadell cohort (Infancia y Medio Ambiente Project, Spain). Participants from HELIX Project were selected from these larger cohorts, ensuring a representative sample of approximately 200 mother-child pairs from each of the six cohorts (Vrijheid et al., 2014). Additionally, we included data from the Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts of the INMA Project (<https://www.proyectoima.org/>) (Guxens et al., 2012). All birth cohorts collected information on different exposure factors and lifestyles during pregnancy and childhood to assess their impact on the health of children and adolescents.

The present study encompassed a final sample of 1,759 mother-child pair who provided complete information on the main study variables (leukocyte TL and ADHD symptoms) and potential confounders. The investigation had the approval of the institutional ethics committee involved in the study, and all families from the different cohorts gave their consent to participate.

Main Variables

Leukocyte telomere length: Leukocyte TL is widely used in epidemiological studies as an indicator of TL in other parts of the body. It generally correlates with TL in most tissues of the organism (Demanelis et al., 2020), making it a suitable proxy for TL measurement. Leukocyte TL was determined by collecting a blood sample from participants aged 6 to 12 years. The mean age of children across most cohorts ranged between 7 and 9 years. However, children from the KANC and RHEA cohorts were younger, with a mean age of 6 years, while those in the EDEN cohort were the oldest, averaging 11 years. A modified fluorochrome-based quantitative polymerase chain reaction (qPCR) protocol, as described by Cawthon (2009), was used for TL determination. Measurements were performed in triplicate on a 7900HT real-time PCR system (Applied Biosystems) in 384-well format. In each cycle, a serial dilution of six DNA spots was run to assess PCR efficiency, and eight system calibrations were performed to control for variability. TL was measured using qBase software (Biogazelle, Zwijnarde, Belgium) and expressed as the ratio of telomere copy

number to the number of single copy genes (T/S) relative to the average T/S of the set of all samples. In HELIX project cohorts (BiB, EDEN, KANC, MoBa, Rhea and INMA-Sabadell), a single-copy gene was used, which contained 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 300nM 36B4u primer (CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC), and 500nM 36B4d primer (CCCATTCTATCATCAACGGG-TACAA). However, in INMA-Asturias, INMA-Gipuzkoa and INMA-Valencia cohorts, a different single-copy gene was used, with a qPCR mixture containing 1x QuantiTect SYBR Green PCR master mix, 400nM HBG1 primer (GCTTCTGACACAACACTGTGTTCACTAGC), and 400nM HBG2 primer (CACCAACTTCATCCACGTTACC) (Martens et al., 2020).

For the association analyses, telomere measurements were transformed to *z*-scores. This transformation involved converting the telomere measurements to a distribution with a mean equal to zero and a standard deviation of one. The purpose of this transformation was to express regression coefficients in standard deviations (*SD*), enabling direct comparability with the results obtained from other studies (Verhulst, 2020).

ADHD symptoms: ADHD symptoms were assessed at the same visit when the blood sample was collected for TL determination. Parents completed the Conners' Parent Rating Scale-Revised: Short Form (CPRS-R:S, Conners, 1997). The questionnaire is specifically designed for children and adolescents aged 3 to 17 years and asks parents to rate the extent to which each of the 27 symptoms has been a problem for their child during the past month. Each item on scale can be rated on a 4-point scale, with the following ratings: 0=never or rarely, 1=sometimes, 2=frequently, and 3=very often. The CPRS-R aims to assess problem behavior in children by providing scores for three subscales: Oppositional behavior, Cognitive problems/Inattention, and Hyperactivity. Additionally, it includes an ADHD global index, which reflects the overall severity of ADHD symptoms. The scores obtained for the subscales range from 0 to 18, with higher scores indicating increased ADHD symptoms. The ADHD global index scores range from 0 to 36, providing an assessment of the overall severity of ADHD symptoms.

Covariates

We selected sociodemographic and lifestyle variables of mothers and children that previous studies have associated with TL shortening and ADHD symptoms (Gorenjak et al., 2020; Vázquez-González et al., 2023). Also, we considered confounding variables that were included in previous studies on TL and ADHD (Costa et al., 2015; Howell et al., 2022; Pham et al., 2022; Rentscher et al., 2020). Regarding the characteristics of the mothers, we collected information on their cohort of origin, age (years), educational level (low, medium, or high), pre-pregnancy body mass index (BMI, kg/m²) and

Table 1. Sociodemographic Characteristics and Lifestyles of Mothers and Children Belonging to the HELIX and INMA Projects ($n = 1,759$).

Study characteristics	All ($n = 1,759$)	HELIX's sample ^a ($n = 1,086$)	INMA's sample ^b ($n = 673$)	p -Value ^c
Mother's characteristics				
Age (years), median (IQR)	31.0 (28.0–34.0)	31.0 (27.2–34.0)	31.0 (29.0–34.0)	.040
Educational level, n (%)				
Low	275 (15.6)	153 (14.1)	122 (18.1)	<.001
Medium	660 (37.5)	387 (35.6)	273 (40.6)	
High	824 (46.8)	546 (50.3)	278 (41.3)	
Pre-pregnancy BMI (kg/m^2), median (IQR)	23.4 (21.1–26.6)	23.9 (21.3–27.1)	22.6 (20.7–25.6)	<.001
Active smoking during pregnancy, n (%)				
No	1396 (79.4)	923 (85.0)	473 (70.3)	<.001
Yes	363 (20.6)	163 (15.0)	200 (29.7)	
Child's characteristics				
Sex, n (%)				
Female	815 (46.3)	489 (45.0)	326 (48.4)	.169
Male	944 (53.7)	597 (55.0)	347 (51.6)	
Age at clinical assessment (years), median (IQR)	7.8 (7.0–8.4)	8.0 (6.0–9.0)	7.7 (7.6–8.1)	.006
BMI (kg/m^2), median (IQR)	16.5 (15.3–18.3)	16.3 (15.1–17.9)	17.0 (15.7–18.8)	<.001
Season blood drawn, n (%)				
Winter	494 (28.1)	323 (29.7)	171 (25.4)	.215
Spring	440 (25.0)	259 (23.8)	181 (26.9)	
Summer	381 (21.7)	233 (21.4)	148 (22.0)	
Autumn	444 (25.2)	271 (24.9)	173 (25.7)	

Note. IQR = interquartile range; BMI = body mass index.

^aHELIX cohorts: BiB (United Kingdom), EDEN (France), KANC (Lithuania), MoBa (Norway), Rhea (Greece), and Sabadell (Spain).

^bINMA cohorts: Asturias, Gipuzkoa and Valencia (Spain).

^cThe Chi-square test or Fisher's Exact test was used for categorical variables and Mann-Whitney U test for continuous nonparametric variables.

active smoking during pregnancy (yes or no). For children, we included data on their age at clinical examination (years), the date of the blood sample extraction for telomere determination (DD/MM/AA), which was subsequently recategorised in seasons (spring, summer, autumn, or winter), sex (male or female), and BMI (kg/m^2).

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using R software version 4.3.1 (R Foundation for Statistical Computing). A statistical significance level was established at 0.05 and all contrasts were bilateral. Normal distribution of continuous variables was checked by using the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors correction.

Socio-demographic characteristics and lifestyles of mothers and their children were described using frequencies and percentages for categorical variables, and median and interquartile range (IQR) for continuous variables. To compare the participants in each sample (HELIX project: BiB, EDEN, KANC, MoBa, Rhea, and INMA-Sabadell cohorts; Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts for the INMA project), we used the Chi-square test or Fisher Exact test for qualitative variables and Mann-Whitney U test for quantitative variables.

To explore the association between TL and ADHD symptoms, we performed multiple negative binomial regression models that provided incidence rate ratio (IRR) as an outcome measure. Initially, we conducted separate analyses for each cohort, including the HELIX and INMA Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts. Following these individual analyses, we combined the results using meta-analytic techniques. Models were adjusted for covariates with a p -value < 0.2 in the descriptive analysis and that changed the magnitude of the main effect by $\geq 10\%$. Heterogeneity between cohorts was quantified using the I^2 statistic, and pooled estimates were derived under the hypothesis of fixed-effect model ($I^2 < 50\%$) or random-effect model ($I^2 > 50\%$), depending on the detected heterogeneity. Finally, we conducted two models of analysis: (1) a basic model adjusted for children's age at examination and sex; and (2) a main model that included, in addition to the above, maternal adjustment variables such as age, educational level, active smoking during pregnancy, and pre-pregnancy BMI, and children's BMI.

Results

Sociodemographic and lifestyle characteristics of the included participants are presented in Table 1. Among the 1,759 participants, the mothers had a median age of

Table 2. Association Between TL (z-Score) and ADHD Symptoms in Children Aged 6 to 12 Years From the HELIX and INMA Projects (n = 1,759).

ADHD Symptoms	All participants (n = 1,759)			HELIX's participants ^a (n = 1,086)			INMA's participants ^b (n = 673)		
	IRR (95% CI) ^c	p-Value	I ² (%)	IRR (95% CI)	p-Value	I ² (%)	IRR (95% CI)	p-Value	I ² (%)
CRSR-27									
Oppositional									
Basic model	0.99 [0.96, 1.04]	.839	0.6	0.97 [0.93, 1.02]	.293	0.0	1.04 [0.97, 1.12]	.241	0.0
Main model	1.00 [0.96, 1.04]	.847	1.8	0.98 [0.93, 1.03]	.490	0.0	1.05 [0.97, 1.13]	.177	0.0
Cognitive problems/inattention									
Basic model	0.99 [0.94, 1.04]	.710	10.3	0.98 [0.92, 1.04]	.521	21.3	1.00 [0.93, 1.10]	.820	10.8
Main model	1.00 [0.95, 1.05]	.939	6.8	0.99 [0.93, 1.06]	.867	17.0	1.01 [0.92, 1.11]	.774	17.2
Hyperactivity									
Basic model	0.97 [0.90, 1.06]	.540	60.6	0.91 [0.85, 0.97]	.005	0.0	1.08 [0.95, 1.22]	.247	58.0
Main model	0.98 [0.91, 1.06]	.667	55.3	0.93 [0.87, 0.99]	.022	0.0	1.07 [0.93, 1.22]	.332	61.9
ADHD index									
Basic model	0.99 [0.93, 1.06]	.826	55.2	0.96 [0.89, 1.04]	.355	54.8	1.05 [0.98, 1.12]	.137	0.0
Main model	1.00 [0.95, 1.07]	.749	50.7	0.98 [0.91, 1.06]	.695	51.4	1.06 [0.98, 1.14]	.144	19.3

Note. Basic models were adjusted by children's age at examination (years) and sex (male or female). Main models were adjusted by mother's age (years), educational level (low, medium or high), active maternal smoking during pregnancy (yes or no), pre-pregnancy body mass index (continuous), children's age at examination (years), sex (male or female) and body mass index (continuous). TL = telomere length; ADHD = attention deficit/hyperactivity disorder; IRR = incidence rate ratio, CI = confidence interval; CRSR = Conner's rating scale-revised.

^aHELIX cohorts: BiB (United Kingdom), EDEN (France), KANC (Lithuania), MoBa (Norway), Rhea (Greece), and Sabadell (Spain).

^bINMA cohorts: Asturias, Gipuzkoa and Valencia (Spain).

^cIRR is expressed for a 1-unit increment in Z-Score TL.

31.0 years (IQR = 28.0–34.0). Over 80.0% of these mothers had a medium to high level of education. Their median pre-conception body mass index (BMI) was 23.4 kg/m² (IQR = 21.1–26.6), and 20.9% of them reported smoking during pregnancy. We observed differences in these characteristics between the participants from the HELIX project and the INMA-Asturias, Gipuzkoa, and Valencia cohorts. Specifically, a higher percentage of mothers from the HELIX project had a high level of education compared to those from the INMA sample (50.3% vs. 41.3%). Additionally, mothers from the HELIX project had a higher median pre-conception BMI (23.9 vs. 22.6 kg/m²). Conversely, a higher percentage of mothers from the INMA sample reported smoking during pregnancy (29.7% vs. 15.0%). Regarding the children, slightly more than half of them were boys, with a median age of 7.8 years (IQR = 7.0–8.4). Their median BMI was 16.5 kg/m² (IQR = 15.3–18.3), and approximately 53.2% of blood samples were collected during the autumn and winter months. Children from the HELIX sample had a modestly higher median age (8.0 vs. 7.7 years) and a lower BMI (16.3 vs. 17.0 kg/m²) when comparing to those from the INMA sample.

Table 2 displays the outcomes regarding the association between TL z-scores and ADHD symptoms among children aged 6 to 12 years. Overall estimates (n = 1,759) did not show significant associations. However, when analysing the results separately for both samples (HELIX project cohorts and INMA Asturias, Gipuzkoa and

Valencia cohorts), we observed differences in the estimates. The results of the main models showed a possible association between a longer TL and a lower risk of hyperactivity symptomatology (IRR = 0.93; 95% CI [0.87, 0.99]; *p* = .022) in the children of the HELIX project cohorts (n = 1,086). However, no associations were observed in the children of the INMA project (n = 673).

The results of the association between TL and hyperactivity symptoms for each cohort are graphically represented in Figure 1. With the exception of the MoBa cohort, the HELIX cohorts showed a positive association between longer TL and a lower risk of hyperactivity symptoms. This association was stronger and with more precise intervals for the KANC-Lithuania (IRR = 0.58; 95% CI [0.29, 1.14]; *p* = .117), Rhea-Greece (IRR = 0.57; 95% CI [0.28, 1.17]; *p* = .129) and INMA Sabadell-Spain (IRR = 0.47; 95% CI [0.18, 1.18]; *p* = .109) cohorts. However, the results of the INMA-Gipuzkoa and Valencia, as well as the overall INMA cohorts, showed an inverse association between longer TL and higher risk of hyperactivity, although these associations were not statistically significant. As displayed, overall estimates from all cohorts showed an inconclusive association.

Discussion

The present study explored the association between TL and ADHD symptoms in a multi-cohort study of European

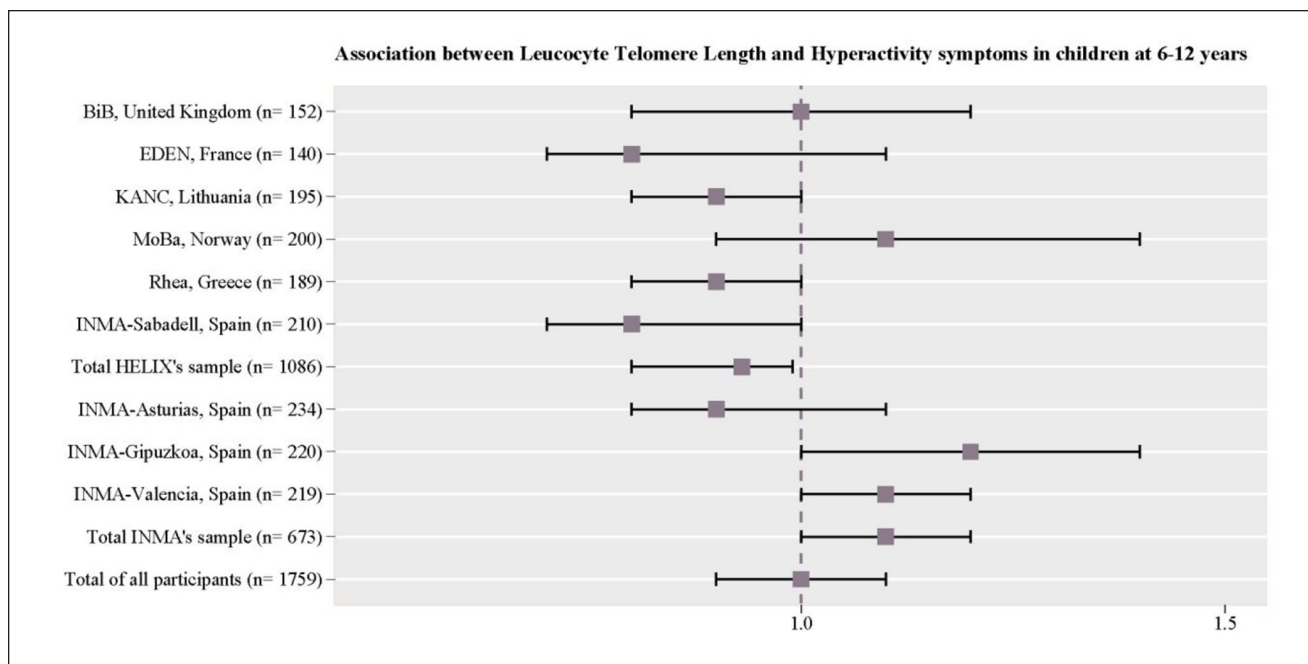


Figure 1. Cohort estimates (effects expressed with 95% confidence intervals and for a 1-unit increase in the Z-score TL) of the association between TL and subscale hyperactivity symptoms in children aged 6–12 years in the HELIX and INMA projects.

children aged 6 to 12 years. In the overall population, no significant association was observed. However, when conducting a stratified population analysis, an association between longer TL and fewer hyperactivity symptoms was observed among participants from the HELIX project, mainly driven by the KANC (Lithuania), Rhea (Greece) and INMA-Sabadell (Spain) cohorts.

The existing evidence on the association between TL and ADHD symptoms in childhood has yielded inconsistent findings. Two previous studies reported significant associations between shorter telomeres and ADHD symptoms, aligning with our initial hypothesis. However, direct comparisons between these studies and ours are not possible due to methodological differences. For instance, the study by Costa et al. (2015) focused on children diagnosed with ADHD rather than children from the general population sample, as in our case. Moreover, their analysis was based on correlating the hyperactive-impulsive dimension of ADHD with TL ($r = -0.339$, $p = .008$) in Brazilian children aged 6 to 16 years, rather than employing a multiple adjusted association analysis, which could account for potential confounding variables. An Australian birth cohort study ($n = 676$) observed that TL at 12 months was inversely associated with Attention Problems ($\beta = -0.56$; $p = .05$) and the Attention Deficit/Hyperactivity Problems ($\beta = -0.66$; $p = .004$) at 2 years (Pham et al., 2022). However, this study examined the association between TL at 1-year-old infants and later development of ADHD symptoms measured at 2 years old, while in our study,

both variables were measured concurrently. Other studies have reported contrasting results, showing an association between longer telomeres and ADHD symptoms in toddlers (Howell et al., 2022) and young adults (Momany et al., 2021). However, these studies differ significantly from ours, as TL was measured from a buccal saliva sample rather than a blood sample.

One possible explanation for the absence of global association between telomeres and ADHD symptoms in our study may be attributed to our dataset, which primarily consisted of healthy children with minimal variability in ADHD symptoms. In fact, only approximately 10.0% of the children in our sample exhibited problematic scores indicative of symptoms compatible with ADHD (scores above the 80th percentile). We observed the highest percentages of the presence of problematic ADHD symptomatology in the children of the KANC (15.4%) and INMA-Sabadell (13.8%) cohorts, which coincides with the statistically significant associations. This limited variability in ADHD symptom presentation across the sample may have influenced our ability to detect significant associations.

Most studies exploring neurocognitive outcomes and TL have focused on adults, where known differences in brain ageing among healthy individuals of the same age exist. Some individuals may experience a more pronounced decline in cognitive functions and brain volume as they age (Cole et al., 2019). Consequently, associations between shorter telomeres and this decline in brain functions and structures are more likely to be observed in adults, given the

greater inter-individual variability at older ages (Cao et al., 2023; Gampawar et al., 2022). This research highlights the variability in cognitive decline and brain volume among healthy adults, underscoring the importance of understanding how TL dynamics may contribute to individual differences in neurocognitive ageing.

For their part, several neuroimaging studies have revealed structural alterations, such as an overall brain volume reduction of 2.5%, alongside functional and neurochemical brain differences in individuals diagnosed with ADHD (Baroni & Castellanos, 2015; Doernberg & Hollander, 2016; Vázquez-González et al., 2023). These structural and functional changes may reflect underlying neurobiological processes influenced by neuroinflammation, a hallmark feature of several neurodevelopmental disorders. Neuroinflammation plays an important role in the development of disorders such as ADHD, involving different mechanisms such as glial cell activation, increased oxidative stress, loss of neuronal function and neurodevelopmental changes (Alvarez-Arellano et al., 2020; Corona, 2020).

Considering these factors, our initial hypothesis was formulated based on the idea that the activation of neuroinflammatory processes could trigger the active proliferation of leukocytes and cause telomere shortening (Scarabino et al., 2020; Zhang et al., 2016). However, as discussed above, we did not find consistent evidence of this association in our sample of children, where most parents did not report symptoms of inattention and hyperactivity. Additionally, it is essential to note that TL exhibited very little variability in our study, and we only had one measurement. Therefore, obtaining multiple measurements over time for both variables would be valuable to better observe any potential associations.

When analysing the associations separately for each project, we found a significant association between TL and hyperactivity symptoms in children from the HELIX project. However, this association was not observed in children from the INMA project. One possible explanation for the differences between the cohorts may be attributed to specific factors or lifestyle characteristics within the socio-economic and cultural context in which the children develop (Rentscher et al., 2020). Despite accounting for multiple variables as confounding factors, our results revealed a high heterogeneity in the observed associations across cohorts. It is plausible other undetected aspects could be influencing the association. Existing research underscores the multifactorial aetiology of ADHD, involving genetic and environmental factors. Candidate genes associated with ADHD, such as dopaminergic genes, have been identified, alongside peri-, pre- and postnatal events implicated in the development of ADHD, including maternal stress during pregnancy, vitamin D intake, exposure to environmental

pollutants, smoking, among others (Vázquez-González et al., 2023). Moreover, it is important to note that, in this study, telomere determinations were performed using different normalizations between the HELIX and INMA cohorts. However, the PCR methodology applied was the same in both cases and the z-score TL measurement for each cohort was used for the analyses.

A strength of the present study is its multi-country cohort, which includes participants from diverse geographical and socio-economic backgrounds. However, it is important to note that this diversity is primarily geographical, as specific data on ethnicity or racial background were not collected. Given the European origins of the included cohorts, the study population is likely predominantly of European/Caucasian descent, which limits the generalizability of the findings to populations with other ethnic or racial backgrounds. Future research should aim to replicate these findings in more ethnically diverse cohorts to ensure broader applicability. In addition, the study benefits from a larger sample size compared to previous studies on this topic ($n = 1,795$ vs. <700). Moreover, being a follow-up study population, we had access to information on covariates during pregnancy and postnatal follow-up visits, minimising the possible occurrence of recall and sample selection biases. However, there are some limitations to acknowledge in this investigation. First, ADHD symptoms were reported by the children's parents, which may introduce some inaccuracies, although any such inaccuracies are likely to be non-differential in nature. Second, while TL was measured using a standard and widely used method in epidemiological studies (Lindrose et al., 2021), it is important to consider that this methodology provides an average measurement across all samples, and potential measurement errors should be taken into account (Nettle et al., 2019). Third, despite adjusting regression models for possible confounders, the presence of unknown or residual confounders cannot be ruled out. In addition, because of the cross-sectional nature of the study, establishing causality in the observed association is not possible.

In conclusion, the overall results of our study do not show a consistent association between TL and ADHD symptoms in children aged 6 to 12 years. However, the significant association found within the HELIX cohorts suggests that longer TL may be linked to a lower risk of hyperactivity symptoms. This finding highlights the potential for TL as a biomarker for hyperactivity. We recommend that future research should examine this relationship longitudinally, considering multiple time points and including a higher percentage of children diagnosed with ADHD. Longitudinal studies would provide valuable insights into the potential role of TL as a biomarker of neurodevelopmental problems in children. Additionally, given that TL has been implicated as a potential

biomarker for various health issues in adulthood, further exploration of TL in the context of childhood neurodevelopment is necessary. Continued research in this area may contribute to our understanding of the underlying mechanisms and potential clinical implications of TL in child health.

Acknowledgments

The authors acknowledge that this study is only possible because of the enthusiasm and commitment of the children and parents in each of the participating cohorts. We thank all the participants, health professionals and investigators who have made this study possible. The authors thank the cohort participants and the EDEN mother-child study group, whose members are: I. Annesi-Maesano, J.Y. Bernard, J. Botton, M.A. Charles, P. Dargent-Molina, B. de Lauzon-Guillain, P. Ducimetière, M. de Agostini, B. Foliguet, A. Forhan, X. Fritel, A. Germa, V. Goua, R. Hankard, B. Heude, M. Kaminski, B. Larroque[†], N. Lelong, J. Lepeule, G. Magnin, L. Marchand, C. Nabet, F. Pierre, R. Slama, M. J. Saurel-Cubizolles, M. Schweitzer, O. Thiebaugeorges.

Author Contribution Statement

Conceptualization, D.V.-G. and E.M.N.-M.; Methodology, D.V.-G., D.S.M., and E.M.N.-M.; Formal analysis, I.C.-S., D.S.M., D.V.-G., and E.M.N.-M.; Data curation, I.C.-S., D.S.M., and E.M.N.-M.; Writing – original draft preparation, I.C.-S. and D.V.-G.; Writing – review and editing, I.C.-S., E.M.N.-M., D.S.M., I.R.-G., A.L., S.L., M.G., C.R.-D., N.L., R.S.-B., M.V., T.S.N., J.W., T.C.Y., R.M., K.B.G., V.L.C., M.V., M.K., R.G., S.A., J. L., and D.V.-G.; Supervision, D.S.M., D.V.-G., and E.M.N.-M.; Project administration, E.M.N.-M.; Funding acquisition, D.V.-G., I.R.-G., A.L., S.L., M.G., N.L., M.V., and T.S.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: The study has been funded by the Instituto de Salud Carlos III/Agencia Estatal de Investigación (PI18/00825) about the Project: “Diet and physical activity in pregnancy and after birth and telomere length in children and adolescents: TeloDiPA Project”; the Department of Innovation, Universities, Science and Digital Society of Valencian Community for the Project “Telomere length and neuropsychological development between 4 and 8 years: TeloNeuro Project (GVA/2021/191)”; and Irene Campos-Sánchez has a grant from the ministry of universities of Spain “Ayuda a la formación de profesorado Universitario (FPU21/01323)” and award for research by young research personnel (Edition 2023, Manel Nebot) by the Spanish Society of Epidemiology. Dries Martens holds a postdoctoral grant by the Research Foundations Flanders (FWO grant 12X9623N). Raquel Soler-Blasco holds a postdoctoral grant by Spanish Ministry of

Universities (MS21-133) and co-funded by European Union-Next Generation EU (Miguel Servet-FEDER 20/006). Mònica Guxens was funded by a Miguel Servet II fellowship (CPII18/00018) awarded by the Spanish Institute of Health Carlos III. Data were collected as part of the European Community’s Seventh Framework Program (FP7/2007-2013) under grant agreement no 308333 for the HELIX project. ISGlobal acknowledges support from the Spanish Ministry of Science and Innovation through the “Centro de Excelencia Severo Ochoa 2019 to 2023” Program (CEX2018-000806-S), and support from the Generalitat de Catalunya through the CERCA Program. INMA Asturias was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176 and CB06/02/0041), FIS-PI042018 incl. FEDER funds, FIS-PI09/02311 incl. FEDER funds, FIS-PI13/02429 incl. FEDER funds, FIS-PI18/00909 incl. FEDER funds, CIBERESP, Obra Social Cajastur/Fundación Liberbank and Universidad de Oviedo. INMA Gipuzkoa was funded by grants from Instituto de Salud Carlos III (FIS-PI06/0867, FIS-PI09/00090, FIS-PI13/02187, FIS-PI18/01142 include FEDER funds and FIS-PI18/01237 incl. FEDER funds), CIBERESP, Department of Health of the Basque Government (2005111093, 2009111069, 2013111089, 20151-11065, and 2018111086), and the Provincial Government of Gipuzkoa (DFG06/002, DFG08/001 and DFG15/221, and DFG 89/17) and annual agreements with the municipalities of the study area (Zumarraga, Urretxu, Legazpi, Azkoitia y Azepeitia y Beasain). INMA-Sabadell was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (Red INMA G03/176; CB06/02/0041; PI041436; PI081151 incl. FEDER funds; PI12/01890 incl. FEDER funds; CP13/00054 incl. FEDER funds; PI15/00118 incl. FEDER funds), CIBERESP, Generalitat de Catalunya-CIRIT 1999SGR 00241, Generalitat de Catalunya-AGAUR (2009 SGR 501, 2014 SGR 822), Fundació La marató de TV3 (090430), Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2012-32991 incl. FEDER funds), Agence Nationale de Securite Sanitaire de l’Alimentation de l’Environnement et du Travail (1262C0010), EU Commission (261357, 308333, 603794, and 634453). We acknowledge support from the grant CEX2018-000806-S funded by MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033, and support from the Generalitat de Catalunya through the CERCA Program. INMA Valencia was supported by Grants from UE (FP7-ENV-2011 cod 282957, HEALTH.2010.2.4.5-1, cod 874583, and cod 101136566), Spain: ISCIII (G03/176; FIS-FEDER: PI11/01007, PI11/02591, PI11/02038, PI12/00610, PI13/1944, PI13/2032, PI14/00891, PI14/01687, PI16/1288, PI17/00663, PI19/1338; P 23/1578), Miguel Servet-FEDER CP11/00178, CP15/00025, MSII16/00051, MS20/0006), Spanish Ministry of Universities (Margarita Salas Grant MS21-133, grant CAS21/00008), Generalitat Valenciana (CIAICO/2021/132, BEST/2020/059, AICO 2020/285, AICO/2021/182 and CIDEAGENT/2019/064), Consejo General de Enfermería (PNI22_CGE45), FISABIO (UGP 15-230, UGP-15-244, UGP-15-249), and Alicia Koplowitz Foundation 2017. The Norwegian Mother, Father, and Child Cohort Study (MoBa) is supported by the Norwegian Ministry of Health and Care Services and the Ministry of Education and Research. The EDEN study (Etude des Déterminants pré et postnataux du développement et de la santé de l’Enfant, France) was supported by Foundation for medical research (FRM), National Agency for Research (ANR),

National Institute for Research in Public health (IRESP: TGIR cohorte santé 2008 program), French Ministry of Health (DGS), French Ministry of Research, INSERM Bone and Joint Diseases National Research (PRO-A) and Human Nutrition National Research Programs, Paris-Sud University, Nestlé, French National Institute for Population Health Surveillance (InVS), French National Institute for Health Education (INPES), the European Union FP7 programs (FP7/2007-2013, HELIX, ESCAPE, ENRIECO, Medall projects), Diabetes National Research Program (through a collaboration with the French Association of Diabetic Patients [AFD]), French Agency for Environmental Health Safety (now ANSES), Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale a complementary health insurance (MGEN), French national agency for food security, French speaking association for the study of diabetes and metabolism (ALFEDIAM). Born in Bradford (BiB) receives funding from by a joint grant from the UK Medical Research Council (MRC) and UK Economic and Social Science Research Council (ESRC) [MR/N024391/1]; the British Heart Foundation [CS/16/4/32482]; a Wellcome Infrastructure Grant [WT101597MA]; The National Institute for Health Research under its Applied Research Collaboration for Yorkshire and Humber [NIHR200166]. The views expressed are those of the author(s), and not necessarily those of the NHS, the NIHR or the Department of Health and Social Care.

Ethics Approval Statement

This study was approved by the Research Ethics Committee General Hospital of the Department of Health of Alicante (protocol code Acta 2019/07 and date of approval on July 31, 2019).

Informed Consent Statement

Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

ORCID iDs

Eva María Navarrete-Muñoz  <https://orcid.org/0000-0002-1494-5676>

Cristina Rodríguez-Dehli  <https://orcid.org/0009-0007-0140-7717>

Johanna Lepeule  <https://orcid.org/0000-0001-8907-197X>

Desirée Valera-Gran  <https://orcid.org/0000-0001-6388-127X>

References

- Alvarez-Arellano, L., González-García, N., Salazar-García, M., & Corona, J. C. (2020). Antioxidants as a potential target against inflammation and oxidative stress in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *9*(2), 176. <https://doi.org/10.3390/antiox9020176>
- Aubert, G., Baerlocher, G. M., Vulto, I., Poon, S. S., & Lansdorp, P. M. (2012). Collapse of telomere homeostasis in hematopoietic cells caused by heterozygous mutations in telomerase genes. *PLoS Genetics*, *8*(5), e1002696. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002696>
- Baroni, A., & Castellanos, F. X. (2015). Neuroanatomic and cognitive abnormalities in attention-deficit/hyperactivity disorder in the era of “high definition” neuroimaging. *Current*

- Opinion in Neurobiology*, *30*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.08.005>
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, *350*(6265), 1193–1198. <https://doi.org/10.1126/science.aab3389>
- Cao, Z., Hou, Y., & Xu, C. (2023). Leucocyte telomere length, brain volume and risk of dementia: A prospective cohort study. *General Psychiatry*, *36*(4), e101120. <https://doi.org/10.1136/gpsych-2023-101120>
- Cawthon RM (2009) Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Research*, *37*(3), e21. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn1027>
- Cole, J. H., Marioni, R. E., Harris, S. E., & Deary, I. J. (2019). Brain age and other bodily “ages”: Implications for neuropsychiatry. *Molecular Psychiatry*, *24*(2), 2. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0098-1>
- Conners, C. K. (1997). *Conner's Rating Scales-Revised User's Manual*. Multi-Health Systems.
- Corona, J. C. (2020). Role of oxidative stress and neuroinflammation in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *9*(11), 1039. <https://doi.org/10.3390/antiox9111039>
- Correia-Melo, C., Hewitt, G., & Passos, J. F. (2014). Telomeres, oxidative stress and inflammatory factors: Partners in cellular senescence? *Longevity & Healthspan*, *3*, 1. <https://doi.org/10.1186/2046-2395-3-1>
- Costa, D., de, S., Rosa, D. V. F., Barros, A. G. A., Romano-Silva, M. A., Malloy-Diniz, L. F., Mattos, P., & de Miranda, D. M. (2015). Telomere length is highly inherited and associated with hyperactivity-impulsivity in children with attention deficit/hyperactivity disorder. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *8*, 28. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00028>
- Darrow, S. M., Verhoeven, J. E., Révész, D., Lindqvist, D., Penninx, B. W. J. H., Delucchi, K. L., Wolkowitz, O. M., & Mathews, C. A. (2016). The association between psychiatric disorders and telomere length: A meta-analysis involving 14,827 persons. *Psychosomatic Medicine*, *78*(7), 776–787. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000356>
- De Meyer, T., Nawrot, T., Bekaert, S., De Buyzere, M. L., Rietzschel, E. R., & Andrés, V. (2018). Telomere length as cardiovascular aging biomarker: JACC review topic of the week. *Journal of the American College of Cardiology*, *72*(7), 805–813. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.06.014>
- Demanelis, K., Jasmine, F., Chen, L. S., Chernoff, M., Tong, L., Delgado, D., Zhang, C., Shinkle, J., Sabarinathan, M., Lin, H., Ramirez, E., Oliva, M., Kim-Hellmuth, S., Stranger, B. E., Lai, T.-P., Aviv, A., Ardlie, K. G., Aguet, F., Ahsan, H., . . . Pierce, B. L. (2020). Determinants of telomere length across human tissues. *Science*, *369*(6509), eaaz6876. <https://doi.org/10.1126/science.aaz6876>
- Doernberg, E., & Hollander, E. (2016). Neurodevelopmental disorders (ASD and ADHD): DSM-5, ICD-10, and ICD-11. *CNS Spectrums*, *21*(4), 295–299. <https://doi.org/10.1017/S1092852916000262>
- Gampawar, P., Schmidt, R., & Schmidt, H. (2022). Telomere length and brain aging: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, *80*, 101679. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101679>

- Gorenjak, V., Petrelis, A. M., Stathopoulou, M. G., & Visvikis-Siest, S. (2020). Telomere length determinants in childhood. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 58(2), 162–177. <https://doi.org/10.1515/ccm-2019-0235>
- Guxens, M., Ballester, F., Espada, M., Fernández, M. F., Grimalt, J. O., Ibarluzea, J., Olea, N., Rebagliato, M., Tardón, A., Torrent, M., Vioque, J., Vrijheid, M., & Sunyer, J., & INMA Project. (2012). Cohort profile: The INMA—INfancia y Medio Ambiente—(environment and childhood) project. *International Journal of Epidemiology*, 41(4), 930–940. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr054>
- Howell, M. P., Jones, C. W., Herman, C. A., Mayne, C. V., Fernandez, C., Theall, K. P., Esteves, K. C., & Drury, S. S. (2022). Impact of prenatal tobacco smoking on infant telomere length trajectory and ADHD symptoms at 18 months: A longitudinal cohort study. *BMC Medicine*, 20(1), 153. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02340-1>
- Lewis, C. R., Taguinod, F., Jepsen, W. M., Cohen, J., Agrawal, K., Huentelman, M. J., Smith, C. J., Ringenbach, S. D. R., & Braden, B. B. (2020). Telomere length and autism spectrum disorder within the family: Relationships with cognition and sensory symptoms. *Autism Research*, 13(7), 1094–1101. <https://doi.org/10.1002/aur.2307>
- Li, Z., Tang, J., Li, H., Chen, S., He, Y., Liao, Y., Wei, Z., Wan, G., Xiang, X., Xia, K., & Chen, X. (2014). Shorter telomere length in peripheral blood leukocytes is associated with childhood autism. *Scientific Reports*, 4, 7073. <https://doi.org/10.1038/srep07073>
- Lindrose, A. R., McLester-Davis, L. W. Y., Tristano, R. I., Kataria, L., Gadalla, S. M., Eisenberg, D. T. A., Verhulst, S., & Drury, S. (2021). Method comparison studies of telomere length measurement using qPCR approaches: A critical appraisal of the literature. *PLoS One*, 16(1), e0245582. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245582>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell*, 153(6), 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- Martens, D. S., Janssen, B. G., Bijlens, E. M., Clemente, D. B. P., Vineis, P., Plusquin, M., & Nawrot, T. S. (2020). Association of parental socioeconomic status and newborn telomere length. *JAMA Network Open*, 3(5), e204057. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.4057>
- Momany, A. M., Lussier, S., Nikolas, M. A., & Stevens, H. (2021). Telomere length and ADHD symptoms in young adults. *Journal of Attention Disorders*, 25(7), 906–919. <https://doi.org/10.1177/1087054719865776>
- Nettle, D., Seeker, L., Nussey, D., Froy, H., & Bateson, M. (2019). Consequences of measurement error in qPCR telomere data: A simulation study. *PLoS One*, 14(5), e0216118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216118>
- Njajou, O. T., Hsueh, W.-C., Blackburn, E. H., Newman, A. B., Wu, S.-H., Li, R., Simonsick, E. M., Harris, T. M., Cummings, S. R., & Cawthon, R. M. Health ABC Study. (2009). Association between telomere length, specific causes of death, and years of healthy life in health, aging, and body composition, a population-based cohort study. *The Journals of Gerontology: Series A*, 64A(8), 860–864. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp061>
- Pham, C., Vryer, R., O’Hely, M., Mansell, T., Burgner, D., Collier, F., Symeonides, C., Tang, M. L. K., Vuillermin, P., Gray, L., Saffery, R., & Ponsonby, A.-L., & On Behalf Of The Barwon Infant Study Investigator Group. (2022). Shortened infant telomere length is associated with attention deficit/hyperactivity disorder symptoms in children at age two years: A birth cohort study. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4601. <https://doi.org/10.3390/ijms23094601>
- Rentscher, K. E., Carroll, J. E., & Mitchell, C. (2020). Psychosocial stressors and telomere length: A current review of the science. *Annual Review of Public Health*, 41, 223–245. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040119-094239>
- Salari, N., Ghasemi, H., Abdoli, N., Rahmani, A., Shiri, M. H., Hashemian, A. H., Akbari, H., & Mohammadi, M. (2023). The global prevalence of ADHD in children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Italian Journal of Pediatrics*, 49(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s13052-023-01456-1>
- Scarabino, D., Peconi, M., Broggio, E., Gambina, G., Maggi, E., Armeli, F., Mantuano, E., Morello, M., Corbo, R. M., & Businaro, R. (2020). Relationship between proinflammatory cytokines (IL-1beta, IL-18) and leukocyte telomere length in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Experimental Gerontology*, 136, 110945. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.110945>
- Turner, K. J., Vasu, V., & Griffin, D. K. (2019). Telomere biology and human phenotype. *Cells*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.3390/cells8010073>
- Vázquez-González, D., Carreón-Trujillo, S., Alvarez-Arellano, L., Abarca-Merlin, D. M., Domínguez-López, P., Salazar-García, M., & Corona, J. C. (2023). A potential role for neuroinflammation in ADHD. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1411, 327–356. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7376-5_15
- Verhulst, S. (2020). Improving comparability between qPCR-based telomere studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1), 11–13. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13114>
- Vrijheid, M., Slama, R., Robinson, O., Chatzi, L., Coen, M., van den, H. P., Thomsen, C., Wright, J., Athersuch, T. J., Avellana, N., Basagaña, X., Brochot, C., Bucchini, L., Bustamante, M., Carracedo, A., Casas, M., Estivill, X., Fairley, L., van Gent, D., . . . Nieuwenhuijsen, M. J. (2014). The human early-life exposome (HELIX): Project rationale and design. *Environmental Health Perspectives*, 122(6), 535–544. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307204>
- Wang, Q., Zhan, Y., Pedersen, N. L., Fang, F., & Hägg, S. (2018). Telomere length and all-cause mortality: A meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, 48, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.09.002>
- Wanni Arachchige Dona, S., Badloe, N., Sciberras, E., Gold, L., Coghill, D., & Le, H. N. D. (2023). The impact of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) on children’s health-related quality of life: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Attention Disorders*, 27(6), 598–611. <https://doi.org/10.1177/10870547231155438>
- Wentzensen, I. M., Mirabello, L., Pfeiffer, R. M., & Savage, S. A. (2011). The association of telomere length and cancer: A meta-analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 20(6), 1238–1250. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-0005>

Wojcicki, J. M., Heyman, M. B., Elwan, D., Shiboski, S., Lin, J., Blackburn, E., & Epel, E. (2015). Telomere length is associated with oppositional defiant behavior and maternal clinical depression in Latino preschool children. *Translational Psychiatry*, 5(6), e581. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.71>

Zhan, Y., Song, C., Karlsson, R., Tillander, A., Reynolds, C. A., Pedersen, N. L., & Hägg, S. (2015). Telomere length shortening and Alzheimer disease—A Mendelian randomization study. *JAMA Neurology*, 72(10), 1202–1203. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.1513>

Zhang, J., Rane, G., Dai, X., Shanmugam, M. K., Arfuso, F., Samy, R. P., Lai, M. K. P., Kappei, D., Kumar, A. P., & Sethi, G. (2016). Ageing and the telomere connection: An intimate relationship with inflammation. *Ageing Research Reviews*, 25, 55–69. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.11.006>

Author Biographies

Irene Campos-Sánchez is an occupational therapist with a master's degree in neurology and public health. She is doing her doctoral thesis exploring the association between telomere length and neuropsychological development in childhood and she collaborates in studies of the InTeO group mainly in the field of paediatrics.

Eva María Navarrete-Muñoz is a statistician and PhD in public health with experience in the field of epidemiology. She is the director of the InTeO research group and is PI of different projects related to the advancement of knowledge of occupational therapy and epidemiological studies such as TeloDiPA

Dries S. Martens is a doctoral biologist working at the Center for Environmental Sciences of Hasselt University. His work focuses on the research group Environmental Biology, where he is dedicated to investigating the aging process and has conducted numerous studies on the impact of biological and environmental factors on telomeres.

Isolina Riaño-Galán is a doctor in medicine and specialist in pediatrics. She currently works in the Endocrinology and Childhood Diabetes Unit of the Childhood and Adolescence AGC of Pediatrics of the Central University Hospital of Asturias. She is the president of the Bioethics Advisory Commission of the Principality of Asturias and coordinator of the Bioethics Committee of the Spanish Association of Pediatrics. Participates in development cooperation activities.

Aitana Lertxundi is an associate Professor of Preventive Medicine and Public Health at the UPV/EHU (Faculty of Medicine), IP of the Basque-Environmental Health Research Group and CO-IP of the research group in Environmental Epidemiology and Child Development of the Biogipuzkoa Institute as well as group 28 of CIBERESP. She has been working in the field of environmental epidemiology for 18 years.

Sabrina Llop degree in a Biological Sciences and doctorate in Public Health. Coordinator of the Environment and Health Research Area of FISABIO and of the Joint Research Unit in Epidemiology, Environment and Health FISABIO -Universitat Jaume I - Universitat de València.

Mónica Guxens is a medical doctor, specialized in preventive medicine and public health and PhD. in public health. She is currently working as Assistant Research Professor at the Institute of Global Health in Barcelona and the Department of Child and Adolescent Psychiatry/Psychology at the Erasmus University Medical Center-Sophia Children's Hospital in Rotterdam.

Cristina Rodríguez-Dehli doctorate from the University of Oviedo and belongs to the Pediatric Endocrinology Unit. She participates in research studies on endocrine disruptors and exposure in the most vulnerable stages.

Nerea Lertxundi is a psychologist specialized in cognitive neuropsychology and PhD in Psychology. She focuses her research activity on the field of neuropsychological development and associated factors. She is a Researcher of the Environmental Epidemiology and Childhood Group of the Biogipuzkoa Research Institute, of the Group 28 of the Ciberesp of the Carlos III Research Institute, and Co-Principal Investigator of the UPV/EHU Basque Environmental Health Research Group (BEHRG).

Raquel Soler-Blasco is a nurse with a master's degree in public health and health management and holds a PhD from the University of Valencia. She develops her research activity in the area of environment and health.

Martine Vrijheid PhD in a Epidemiology and joined ISGlobal in 2008, where she specializes in the effects of environmental exposures (chemical, physical and social) on child health and development. She is PI of the INMA Sabadell birth cohort study, PI of several national grants and working group leader of many European collaborative projects in the area of child health. Her research uses longitudinal birth cohort methods.

Tim S. Nawrot obtained his Ph.D. degree in medical sciences from the University of Leuven, Belgium. His research focuses on health effects of environmental pollutants on ageing including effects in early life. In 2013, he was awarded a starting grant from the European Research Council (ERC) and initiated the ENVIRONAGE birth cohort.

John Wright is a doctor and epidemiologist with a background in hospital medicine and public health in the UK and in Africa. In 2007 he set up the Born in Bradford (BiB) cohort study and in 2016 set up Born in Bradford's Better Start. In 2019 he established ActEarly. John has worked to develop sustainable public health programmes in Africa.

Tiffany C. Yang completing her PhD, MPH, and RD at the University of Michigan School of Public Health where her research focused on exposures to environmental endocrine-disrupting compounds and child growth and obesity. She is interested in environmental influences on health and specifically in the areas of diet, nutrition, and obesity, evaluation of public health interventions, and collaborations to enhance the use and impact of cohort data.

Rosie McEachan is an experienced applied health researcher with interests in cohort studies, development and evaluation of complex interventions, environmental determinants of health, green space, air quality, and co-production. Rosie holds a visiting

professor position at University College London and an honorary chair position at the University of Bradford.

Kristine Bjerve Gützkow is a doctor who focuses her work on molecular and cellular biology, toxicology and risk assessment, air quality and noise, and cohort studies in the Norwegian Institute of Public Health, Department of Molecular biology.

Vaia Lida Chatzi is a physician, epidemiologist and public health researcher. She has more than 20 years of experience in environmental health research and a track record of research productivity in multi-disciplinary translational settings focusing on the influence of environmental chemical exposures on health outcomes by integrating human population data and experimental study designs. Overall, her investigations have focused on the health effects of environmental toxicants.

Marina Vafeiadi is a postdoctoral researcher in Environmental Epidemiology and a biologist with a background in public health, children's health and environmental epidemiology. Her research is focused on the environmental risk factors for reproductive and child health with a strong emphasis on the impact of early life exposure to endocrine disrupting chemicals on child growth, obesity and cardio-metabolic outcomes.

Mariza Kampouri is a postdoctoral researcher and epidemiologist. Her research is focused on advancing our understanding of

how early-life exposure to environmental pollutants impacts child health and development.

Regina Grazuleviciene is a Senior Scientist, Principal Investigator, has been/is Professor Department of Environmental Sciences. She qualified as a medical doctor and a Habilitated Doctor at the Kaunas Medical Institute. Her areas of research are Biomedical Sciences, Public Health, Environmental Epidemiology study of associations of urban environment, psychosocial and epigenetic factors with health issues, risk management.

Sandra Andrusaityte PhD in Environmental sciences. His work has focused on environmental epidemiology, impact of environmental factors on children's health, impact of natural environment and social environment on health and the risk assessment in environmental epidemiological studies using statistical analysis packages.

Johanna Lepeule is a statistic in the University of Grenoble. Her research focuses on the effects of early exposure to environmental factors related to the urban exposome on maternal health and child development.

Desirée Valera-Gran holds a degree in philosophy and a PhD in public health. She is a member of the InTeO research group and is PI of different research projects in the area of occupational therapy and the TeloNeuro project.



ANEXO 4. Evaluaciones del desarrollo neuropsicológico

1) Escala McCarthy de aptitudes y psicomotricidad

Pruebas incluidas	Descripción de la prueba
1) Construcción con cubos	Copia con cubos de una estructura construida por la persona evaluadora
2) Rompecabezas	Ensamble de piezas planas para formar el dibujo de un animal o alimento
3) Memoria pictórica	Recuerdo del nombre de objetos representados en una lámina
4) Vocabulario	Identificación de objetos corrientes (Parte I) Definición de palabras (Parte II)
5) Cálculo	Cuestiones que implican información numérica o cálculos aritméticos simples
6) Secuencia de golpeo	Repetición en un xilófono de una secuencia de golpes emitidos por la persona evaluadora
7) Memoria verbal	Repetición de series de palabras y frases (Parte I) Repetición del contenido de un cuento previamente leído por la persona evaluadora (Parte II)
8) Orientación derecha-izquierda	Conocimiento de la derecha-izquierda de las cosas, principalmente del mismo sujeto
9) Coordinación de piernas	Actividades que implican las extremidades inferiores, tales como andar hacia atrás o permanecer sobre un solo pie
10) Coordinación de brazos	Actividades que exigen botar una pelota (Parte I) Recoger un objeto lanzado hacia el sujeto (Parte II) Lanzar un objeto a través de un agujero de un blanco (Parte III)
11) Acción imitativa	Copia de movimientos simples, tales como entrelazar las manos o mirar a través de un tubo
12) Copia de dibujos	Copia de dibujos geométricos
13) Dibujar un niño/a	Ejecución del dibujo de un/a niño/a de su mismo sexo
14) Memoria numérica	Repetición de series de dígitos en el orden presentado por la persona evaluadora (Parte I) Repetición de series de dígitos en el orden inverso presentado por la persona evaluadora (Parte II)
15) Fluencia verbal	Enumeración durante 20 segundos de todos los nombres posibles dentro de una categoría
16) Recuento y distribución	Formación de grupos iguales con cubos
17) Opuestos	Terminación de frases con el opuesto de un adjetivo
18) Formación de conceptos	Clasificación de piezas en base a criterios de tamaño, color y forma

Escala McCarthy de aptitudes y psicomotricidad		Pruebas que la componen
ÁREAS NEUROPSICOLÓGICAS	General cognitiva	Sumatorio área verbal, numérica-cuantitativa y perceptivo-manipulativa
	Verbal	3, 4, 7, 15 y 17
	Numérica-Cuantitativa	5, 14 y 16
	Perceptivo-Manipulativa	1, 2, 6, 8, 12, 13 y 18
	Memoria	3, 6, 7 y 14
	Motora	9, 10, 11, 12 y 13
FUNCIONES NEUROPSICOLÓGICAS	Función ejecutiva	2, 5, 14 parte II, 15, 17 y 18
	Función ejecutiva visual	2, 6 y 18
	Función ejecutiva verbal	5, 14 parte II, 15 y 17
	Retención visual y verbal	6, 7 parte I y 14 parte I
	Memoria de trabajo	5 y 14 parte II
	Memoria verbal	3 y 7 parte II
	Motora gruesa	9, 10 y 11
	Motora fina	12 y 13
	Funciones cognitivas del córtex posterior	1, 3, 4, 7, 12 y 13
	Funciones cognitivas del córtex posterior izquierdo (verbal)	3, 4 y 7
	Funciones cognitivas del córtex posterior derecho (visual)	1, 12 y 13

2) Cuestionario de Capacidades y Dificultades (SDQ)

Puntuación otorgada a cada ítem:

0 No es cierto	1 Algo cierto	2 Muy cierto
-------------------	------------------	-----------------

Resumen de la puntuación para problemas internalizantes, externalizantes y dificultades totales.

Tipo de problema	Subescala	Nº de ítems	Ejemplo representativo	Puntuación máxima
Internalizantes	Problemas emocionales	5	"A menudo parece preocupado"	10
	Problemas con compañeros	5	"Prefiere jugar solo"	10
Subtotal		10		20
Externalizantes	Hiperactividad / atención	5	"Tiene dificultad para concentrarse"	10
	Problemas de conducta	5	"Pelea o intimida a otros niños"	10
Subtotal		10		20
Dificultades totales	Internalizantes	10		20
	Externalizantes	10		20
Total del cuestionario		20		40

3) Cuestionario Conners Parent Rating Scale-Revised

Puntuación otorgada a cada ítem:

0 Nunca/ Rara vez	1 A veces	2 A menudo	3 Muy a menudo
----------------------	--------------	---------------	-------------------

Resumen de las subescalas incluidas en el cuestionario y puntuación máxima para cada una de ellas.

Subescala	Constructo que se evalúa	Nº de ítems	Puntuación máxima
Conducta de oposición	Evalúa conductas desafiantes, desobediencia, irritabilidad y actitud hostil hacia figuras de autoridad.	6	18
Problemas cognitivos/atencionales	Evalúa falta de atención, distracción, dificultades para concentrarse y baja organización en tareas.	6	18
Hiperactividad	Evalúa actividad motora excesiva, impulsividad, dificultad para permanecer quieto o callado.	6	18
Índice de TDAH	Puntuación global que resume los ítems más representativos de TDAH; útil como cribado general de estos síntomas.	12	36

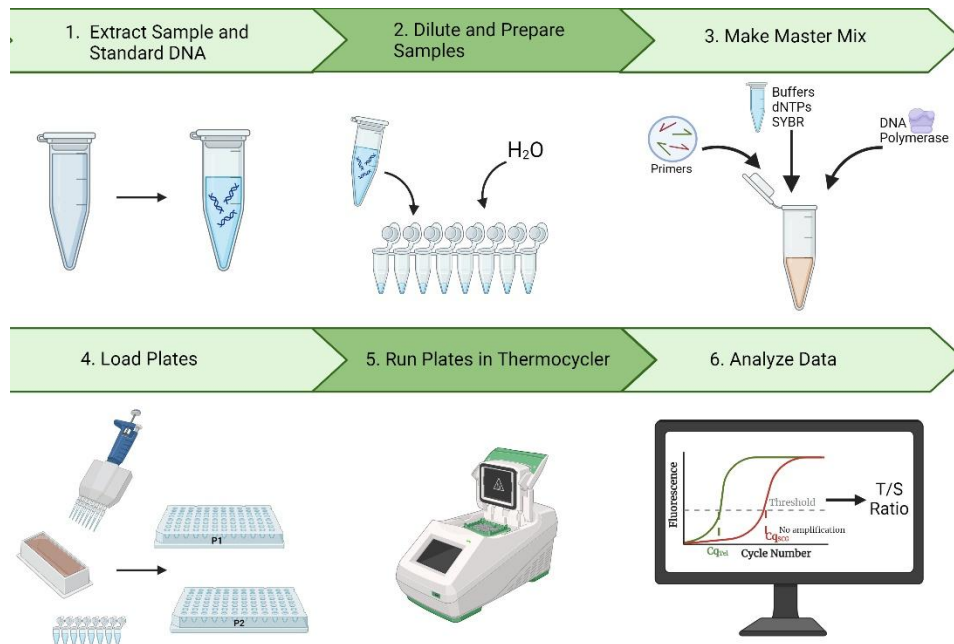
ANEXO 5. Determinación de la longitud del telómero de los leucocitos

Medición promedio de la longitud relativa de los telómeros utilizando qPCR

La longitud relativa promedio de los telómeros se midió utilizando un protocolo modificado de qPCR de acuerdo con Cawthon et al. [1], reportado por Martens y colegas [2]. En primer lugar, la cantidad y pureza del ADN se evaluaron utilizando un espectrofotómetro Nanodrop 1000 (Isogen, Life Science, Bélgica), considerando que el ADN era puro cuando la relación A260/280 era superior a 1,80 y la A260/230 superior a 2,0. La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa. Para asegurar una entrada uniforme de 5 ng de ADN en cada reacción de qPCR, las muestras se diluyeron y se verificaron utilizando el kit Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay (Life Technologies, Europa).

Todas las muestras se midieron por triplicado utilizando un sistema 7900HT Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems) en un formato de 384 pocillos. La mezcla de reacción utilizada para evaluar los telómeros contenía: mezcla maestra QuantiTect SYBR Green PCR al 1x (Qiagen, Inc., Venlo, Países Bajos), 2 mM de ditioneitol (DTT), 300 nM del cebador telg (ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTAGTGT) y 900 nM del cebador telc (TGTTAGGTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTAACA). Las condiciones del ciclo de amplificación fueron: 1 ciclo a 95 °C durante 10 minutos, 2 ciclos a 94 °C durante 15 segundos y 49 °C durante 2 minutos, y luego 30 ciclos a 94 °C durante 15 segundos, 62 °C durante 20 segundos y 74 °C durante 1 minuto y 40 segundos.

La mezcla de qPCR para el gen de copia única (β -globina humana) contenía: mezcla maestra QuantiTect SYBR Green PCR al 1x, 400 nM del cebador HBG1 (GCTTCTGACACAAGTGTGTTCACTAGC) y 400 nM del cebador HBG2 (CACCAACTTCATCCACGTTCAACC). Se utilizaron las mismas condiciones de ciclado: 1 ciclo a 95 °C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos a 95 °C durante 15 segundos y 58 °C durante 1 minuto y 20 segundos. Después del ciclo de PCR, las curvas individuales de qPCR y las curvas de fusión fueron inspeccionadas visualmente. Cuando se observó un error de ejecución, el valor de C_q fue eliminado del análisis posterior. Además, cuando las medidas por triplicado mostraban una desviación superior a 0,3 en el valor de C_q, también se eliminaron del análisis posterior.



Referencias:

1. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(3):e21. doi:10.1093/nar/gkn1027
2. Martens DS, Van Der Stukken C, Derom C, Thiery E, Bijmens EM, Nawrot TS. Newborn telomere length predicts later life telomere length: Tracking telomere length from birth to child- and adulthood. *EBioMedicine.* 2021;63:103164. doi:10.1016/j.ebiom.2020.103164
3. Martin NA, McLester-Davis LWY, Roy TR, Magruder MG, Hastings WJ, Drury SS. Monochrome Multiplex Quantitative PCR Telomere Length Measurement. *J Vis Exp.* 2024;(205):10.3791/66545. doi: 10.3791/66545.

ANEXO 6. Comités de ética aprobados de los proyectos.





INFORME DE EVALUACIÓN DE INVESTIGACIÓN RESPONSABLE

Elche, a 10/03/2023

Director/a	Eva María Navarrete Muñoz
Codirectores/as	Desirée Valera Gran
Estudiante	Irene Campos Sánchez
Programa de doctorado	Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas
Título de la tesis doctoral	Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro.
Tipo de actividad	Adherido a un proyecto autorizado
Evaluación Riesgos Laborales	No procede
Evaluación Ética	No procede
Código provisional	230309145248
Código de Investigación Responsable (COIR)	ADH.SPU.ENM.ICS.23
Caducidad	8 años*

***Importante:** La caducidad de las autorizaciones de tesis, basadas en la adhesión a un proyecto de investigación, están condicionadas a la vigencia de la autorización de dicho proyecto en este sentido: todas las actividades de la tesis que tengan implicaciones ético-legales deberán realizarse mientras dicho proyecto esté vigente. Dicho de otro modo, sólo podrán realizarse actividades de carácter intelectual una vez el proyecto al que se adhiere haya caducado.

Se considera que la presente actividad no supone riesgos laborales adicionales a los ya evaluados en el proyecto de investigación al que se adhiere. No obstante, es responsabilidad del tutor/a informar y/o formar al estudiante de los posibles riesgos laborales de la presente actividad.

La necesidad de evaluación ética del trabajo titulado: **Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico en la infancia: Proyecto TeloNeuro**, ha sido realizada en base a la información aportada en el formulario online: "Solicitud Código de Investigación Responsable (COIR)", habiéndose determinado que no requiere ninguna evaluación adicional. Es importante destacar que si la información aportada en dicho formulario no es correcta este informe no tiene validez.

Por todo lo anterior, **se autoriza** la realización de la presente actividad.

Atentamente,

Alberto Pastor Campos
Secretario del CEII
Vicerrectorado de Investigación

Domingo L. Orozco Beltrán
Presidente del CEII
Vicerrectorado de Investigación

Dra. Dña. Eva M^a Navarrete Muñoz
Dpto. Patología y Cirugía

Elche, a 6 de julio de 2020

Investigador Principal	Eva M ^a Navarrete Muñoz
Tipo de actividad	Proyecto IPSFL/Fundaciones
Título del proyecto	Longitud del telómero y desarrollo neuropsicológico entre los 4 y los 8 años: Proyecto TeloNeuro
Códigos GIS estancias donde se desarrolla la actividad	S02P0064
Evaluación riesgos laborales	Conforme (Autodeclaración)
Evaluación ética uso muestras biológicas humanas	No solicitado
Evaluación ética humanos	Favorable
Evaluación ética animales	No solicitado
Registro	Expte. 2020/22175
Referencia	DPC.ENM.01.20
Caducidad	5 años

Se considera que el presente proyecto carece de riesgos laborales significativos para las personas que participan en el mismo, ya sean de la UMH o de otras organizaciones.

No se ha evaluado el uso de muestras biológicas humanas porque no se ha solicitado, ni se ha considerado necesario en base a la información aportada.

No se ha evaluado el uso de animales en un proyecto de investigación porque no se ha solicitado, ni se ha considerado necesario en base a la información aportada.

La evaluación de la participación de voluntarios humanos en un proyecto de investigación, desde el punto de vista ético y de riesgos laborales, es favorable.

Por todo lo anterior, el dictamen del OEP es **favorable**.

Atentamente,

ALBERTO|
PASTOR|CAMPOS

Firmado digitalmente por
ALBERTO|PASTOR|CAMPOS
Fecha: 2020.07.06 13:41:57
+02'00'

Alberto Pastor Campos
Secretario del Órgano Evaluador de Proyectos
Vicerrectorado de Investigación

DOMINGO
LUIS|OROZCO|
BELTRAN

Firmado digitalmente
por DOMINGO LUIS|
OROZCO|BELTRAN
Fecha: 2020.07.08
14:48:27 +02'00'

Domingo L. Orozco Beltrán
Presidente del Órgano Evaluador de Proyectos
Vicerrectorado de Investigación





Dra. Dña. Eva M^a Navarrete Muñoz
Dpto. Salud Pública

166/2018

Elche, a 29 de noviembre de 2018

Investigador Principal	Eva M ^a Navarrete Muñoz	
Tipo de actividad	Proyecto Nacional	
Título del proyecto	Dieta y actividad física en embarazo y tras el nacimiento y longitud del telómero en niños y adolescentes: Estudio TeloDipa	
Códigos GIS estancias donde se desarrolla la actividad	S02P0010; S02P0009	
Evaluación Riesgos Laborales	Conforme (Autodeclaración)	
Evaluación Ética	Aprobado	
Registro	2018.103.E.OEP; 2018.30.E.OIR	
Referencia	DSP.ENM.01.18	
Caducidad	5 años	

Se considera que el presente proyecto carece de riesgos laborales significativos para las personas que participan en el mismo, ya sean de la UMH o de otras organizaciones.

La evaluación ética del proyecto ha resultado favorable.

Por todo lo anterior, el dictamen del OEP es favorable.

Atentamente,

**ALBERTO|
PASTOR|
CAMPOS**

Firmado digitalmente por
ALBERTO|PASTOR|CAMPOS
Fecha: 2018.11.30 11:01:58
+01'00'

Alberto Pastor Campos
Secretario del Órgano Evaluador de Proyectos
Vicerrectorado de Investigación e Innovación

**MANUEL
MIGUEL|
JORDAN|VIDAL**

Firmado digitalmente por
MANUEL MIGUEL|JORDAN|
VIDAL
Fecha: 2018.11.30 11:52:23
+01'00'

Manuel Miguel Jordán Vidal
Presidente del Órgano Evaluador de Proyectos
Vicerrectorado de Investigación e Innovación

**COMITÉ DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS DEL
DEPARTAMENTO DE SALUD DE ALICANTE - HOSPITAL GENERAL**

C/. Pintor Baeza, 12 – 03010 Alicante

<http://www.dep19.san.gva.es>

Teléfono: 965-913-952

Correo electrónico: ceim_hgua@gva.es

Ref. CEIm: PI2019/072 Ref. ISABIAL: 190354

**INFORME DEL COMITE DE ETICA PARA LA INVESTIGACION CON
MEDICAMENTOS**

Reunidos los miembros del Comité de Ética para la Investigación con medicamentos del Departamento de Salud de Alicante – Hospital General, en su sesión del día 31 de julio de 2019 (Acta 2019/07), y una vez estudiada la documentación presentada por **Dña. Eva M^a Navarrete**, tiene bien a informar que el proyecto de investigación titulado **“Dieta y actividad física en embarazo y tras el nacimiento y longitud del telómero en niños y adolescentes: Proyecto TeloDiPA.”**, se ajusta a las normas deontológicas establecidas para tales casos.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Alicante con fecha 31 de julio de 2019.



Fdo. Dr. Luis Hernández Blasco
Titular Secretaría Técnica CEIm

AGRADECIMIENTOS

Durante todos estos años ha sido en numerosas ocasiones en las que he pensado el como sería llegar a este momento, que habría conseguido y si habría cumplido con los objetivos y expectativas del doctorado. Un sinfín de pensamientos que hoy, tras cuatro años, puedo decir que, estoy muy agradecida con haber conseguido la meta que me propuse, pero que lo más importante para mí a día de hoy es el camino que he recorrido.

El poder estar hoy aquí defendiendo mi tesis doctoral surgió de atreverme un día cualquiera a iniciarme en la investigación. Me acuerdo perfectamente del primer día que conocí a mis directoras de tesis, Eva y Desi. Fui a vuestro despacho para interesarme por un anuncio del tablón en el que buscáis a alguien para que iniciara el doctorado con vosotras, yo en ese momento no tenía ni idea realmente de lo que era un doctorado, pero algo dentro de mí me impulsó a interesarme por ello.

Así comenzó este camino que me ha permitido crecer mucho profesionalmente, me llevo una gran formación y muchísimas experiencias y habilidades para intentar seguir dando lo mejor de mi como profesional. Sin embargo, creo que este período, no solo ha transformado mi mente académica, sino que también me ha transformado a mí y me ha hecho crecer personalmente. Todos los que me conocéis sabéis lo poco que me gustan los imprevistos, las cosas que no se pueden controlar y la incertidumbre. Pues gracias a embarcarme en este proceso lleno de inquietudes, dificultades, retos, desilusiones, alegrías, y una amalgama de emociones y sentimientos que no se pueden controlar, he aprendido a ser más flexible y a empezar a valorar y disfrutar mucho más del camino que de la consecución puramente de una meta. Y este camino no lo podría haber recorrido sola sin el apoyo de todas las personas que me han acompañado.

Me gustaría agradecer en primer lugar, a mis directoras de tesis, Eva y Desi la confianza que depositaron en mí desde el inicio y el haberme brindado esta oportunidad. Sois unas grandísimas profesionales de las que una se siente orgullosa y privilegiada de seguir aprendiendo a vuestro lado. Eva, gracias por impulsarme y motivarme cada día a ser mejor, por apoyarme en momentos difíciles, nunca dejar que me rinda y por enseñarme que el que siembra siempre recoge, aunque no sea en el momento que uno desea. Desi, gracias por tu honestidad, por hacerme reflexionar siempre y por transmitirme tranquilidad y serenidad en los momentos que más lo necesitaba. Ambas sois unas mujeres maravillosas que contagiáis la pasión por vuestro trabajo día a día a todas las que os rodeamos, os agradezco de corazón todos los momentos y experiencias vividas a vuestro lado.

También me gustaría agradecer al resto de compañeras de la universidad por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de colaborar con vosotras desde el principio. También han sido piezas clave de este camino, el resto de mis compañeras de InTeO, Miriam, Iris, Encarni, Lorena... quería daros las gracias por hacerme sentir una más del grupo y por permitirme aprender tanto de vosotras, creando espacios de confianza en los que crecer mutuamente entre todas tanto en lo profesional como en lo personal.

Otra de las partes fundamentales de este camino han sido mis compañeros de doctorado. Paula y Dani, nunca olvidaré la primera vez que trabajamos juntos, yendo a Orihuela a realizar un taller en plena pandemia, con mascarillas y cruzando fronteras que en ese momento no estaban permitidas. Y creo que esa situación resume muy bien lo que sois, dos personas fuertes y valientes capaces de conseguir todo lo que se proponen a pesar de las dificultades que puedan surgir. Os agradezco de corazón el que me acogierais desde el principio y me enseñarais muchas de las cosas que hoy sé. Y, por cierto, también manías, como tener el RStudio con el fondo negro o que los tonos de colores de una presentación cuadren a la perfección. Os admiro mucho a ambos y me llevo dos grandes amigos. También han sido claves, las compañeras que llegaron a este camino un poco después, pero que se han hecho imprescindibles. Empar y Paula, gracias por aportarme ese aire fresco que tanto necesito en ciertos momentos, por vuestro apoyo y por realmente hacerme sentir orgullosa de poder decir “tenemos un equipo de una para todas y todas para una”. Os deseo lo mejor en vuestros caminos que aún os queda por recorrer y siempre vais a poder contar conmigo.

Y en cuanto a compañerismo... tengo que dedicar de manera muy especial unas palabras a mi compañera fiel de batallas, a mi *partner in crime*, Rocío. Creo que nuestra historia como compañeras fue como un flechazo, desde el primer momento conectamos y ya nunca nos hemos podido separar, hasta tal punto que mucha gente nos cambia el nombre de una por el de la otra. Y es que, sin ninguna duda, eres la persona más importante de este camino. Nunca habría imaginado tener el privilegio de conocer a una persona tan trabajadora, sincera, humilde, empática y de tan buen corazón como tú. Hemos vivido miles de momentos y anécdotas que jamás olvidaré, hemos reído, llorado, desesperado y crecido, pero siempre juntas. No se que me deparará el futuro, pero lo que si se es que tú siempre estarás en él. Te quiero mucho, amiga mía.

Me siento muy afortunada de haber tenido esta red de apoyo en el trabajo que me ha impulsado a ser mejor y a seguir. No cambiaría nada de lo vivido a vuestro lado. Sin embargo, se merecen especial mención también todas las personas de mi entorno personal que han contribuido y han permitido que hoy esté aquí.

A mi familia, mis padres y mi hermana, las tres personas más incondicionales de mi vida. Os quiero agradecer vuestra dedicación y soporte, desde el primer día que crucé las puertas de esta universidad hasta hoy. Sois lo mejor que tengo y siempre nos hemos mantenido unidos, a pesar de todo que hemos vivido. En especial a mi madre, que además de madre, es mi amiga, consejera y confidente, que se ha desvivido por nosotras durante toda su vida, siempre ha tenido palabras de aliento y nos sabe demostrar lo orgullosa que está de nuestros logros, algo vital en todo este proceso. Otro de mis acompañantes clave e imprescindible durante todos años ha sido David, mi futuro marido, parte de mi familia, mi hogar y mi lugar seguro. Gracias por tu paciencia infinita, por apoyarme casi sin preguntar, por transmitirme tranquilidad cuando lo necesitaba y por tu curiosidad para aprender conceptos e interesarte siempre por lo que hago. Te amo y quiero seguir recorriendo nuestra vida juntos.

Por último, agradezco también a todos mis amigas y amigos que indirectamente han aportado a este proceso, creyendo en que era capaz de lograrlo desde el principio, siendo mi sostén y proporcionándome un entorno en el que despejarme lleno de risas e instantes inolvidable. Muchísimas gracias, Vicky, Gloria y su hijo David, Rodrigo, Paula, Mandy, Tanya, Miguel y Javi. Y me gustaría cerrar estos agradecimientos, dando las gracias a las personas con las que inicié esta historia en la universidad. Compañeros y amigos que conocí con 18 años, y que hoy, 10 años después puedo decir que hemos logrado conservar esta increíble amistad. Noemí, Kenza, Jose, Sara, Gema, Karina... gracias por todos los recuerdos que vivimos durante el grado, y porque cuando nos vemos, a pesar de que todos hayamos cambiado, juntos seguimos siendo los mismos.