

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**POLIMORFISMO N251K NO GENE DO RECEPTOR ALFA 2A ADRENÉRGICO EM  
PACIENTES DEPRIMIDOS QUE TENTARAM O SUICÍDIO**

**Luciane Cauduro Lima**

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Leistner Segal

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Médicas.

Dissertação de Mestrado

2007

**Dedicatória**

**Aos meus pais,  
pelo apoio que sempre deram  
a mim e aos meus irmãos.  
Às minhas sobrinhas Marina  
e Carolina pela alegria  
que somam à minha vida.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Dra. Sandra Leistner Segal, pela orientação e ensinamentos que me proporcionou desde os tempos da Iniciação Científica.

Ao Dr. Jair Segal pelos ensinamentos em psiquiatria e toda colaboração dada para a redação da dissertação e do artigo.

Aos colegas do Serviço de Genética Médica, em especial ao Rafael Silva, pelo auxílio na realização deste trabalho, à Clarissa Pujol e Diogo André Pilger por estarem sempre dispostos a me ajudar, esclarecendo as mais diversas dúvidas.

Aos colegas do Weinmann Laboratório, pelo apoio e compreensão.

Ao Serviço de Genética Médica pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós Graduação (GPPG) do HCPA e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina por me proporcionarem melhor qualificação acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa/Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA), pelo suporte financeiro.

Aos meus irmãos e amigos pelo apoio e pela constante compreensão.

Ao Tiago, pelo carinho, incentivo e pelas palavras certas nas horas apropriadas.

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Página</b>
Lista de Abreviaturas	7
Lista de Figuras	9
Lista de Tabelas	10
I. RESUMO	11
II. ABSTRACT	12
III. INTRODUÇÃO	13
IV. REVISÃO DA LITERATURA	15
1. Definições	15
2. Epidemiologia do suicídio	16
2.1 Epidemiologia do suicídio no Brasil	16
3. Modelos do comportamento suicida	18
4. Neurobiologia do comportamento suicida	19
5. Neuroquímica do comportamento suicida	20
6. Relação suicídio X depressão	20
7 . Descrição dos transtornos de humor	21
8. Epidemiologia da depressão	22
9. Neurobiologia da depressão	22
9.1 Hipótese monoaminérgica	22

9.2 Neurônios noradrenérgicos	22
9.3 Resposta ao estresse	26
10. Genética do comportamento suicida	27
11. Genética da depressão	28
12. Suicídio e receptores $\alpha_2$ -adrenérgicos	30
13. Receptores $\alpha_2$ -adrenérgicos	31
14. GPCRs ( <i>G protein-coupled receptors</i> )	32
15. Alterações na expressão do receptor $\alpha_{2A}$ -adrenérgico em cérebro de vítimas de suicídio	34
16. Técnicas laboratoriais para detecção do polimorfismo N251K no gene do receptor $\alpha_{2A}$ -adrenérgico	34
16.1 Extração de DNA	34
16.2 Reação em Cadeia da Polimerase	35
16.2.1 PCR alelo-específico	35
16.3 Eletroforese	35
17. Suicídio e saúde pública	36
18. Prevenção ao suicídio	37
V. OBJETIVOS	39
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

VII. ARTIGO (Versão em inglês)	46
VIII. ARTIGO (Versão em português)	62
IX. CONSIDERAÇÕES FINAS E PERSPECTIVAS FUTURAS	79
X. ANEXOS	80
Anexo I. Termo de consentimento livre e esclarecido	80
Anexo II. Protocolo de Investigação para o Suicídio	
(Elaborado por Dr. Jair Segal)	82
Anexo III. Instruções aos Autores <i>Canadian Journal of Psychiatry</i>	84

## LISTA DE ABREVIATURAS

AMP: adenosina monofosfato

$\alpha$ 2A:  $\alpha$ <sub>2</sub>-adrenérgico

CO: cortisol

COMT: catecol-o-metil-transferase

5HT: serotonina

DA: dopamina

DBH: dopamina beta-hidroxilase

DDC: di-hidroxifenilalanina descarboxilase

DNA: ácido desoxirribonucléico

DOPA: di-hidroxifenilalanina

GDP: guanidina difosfato

GTP: guanidina trifosfato

GPCRs: receptores ligados de proteína-G

HHA: eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

MAO: monoamino oxidase

MS: Ministério da Saúde

NA: noradrenalina

OMS: Organização Mundial de Saúde

RNA: ácido ribonucléico

RR: risco relativo

TOH: tirosina hidroxilase

TPH: triptofano hidroxilase



**LISTA DE FIGURAS****Página**

FIGURA 1: Modelo de diátese-estresse do comportamento suicida 19

FIGURA 2: Produção de noradrenalina 23

FIGURA 3: Degradação da noradrenalina 24

FIGURA 4: Funcionamento do sistema noradrenérgico 25

FIGURA 5: Ativação das proteínas G 33

**LISTA DE TABELAS****Página**

TABELA 1: Sintomas da síndrome da deficiência noradrenérgica

25

## I. RESUMO

O suicídio constitui-se hoje um grave problema de saúde pública em diversos países. Muitos suicídios ocorrem de forma inesperada e outros, mesmo esperados por seu risco, parecem ser imprevisíveis. Apenas uma minoria é desencadeada por eventos estressantes em pessoas com uma vida emocional saudável e, nesses casos, o risco de um comportamento suicida é geralmente temporário e potencialmente prevenido. Entre os fatores associados aos atos suicidas está o início ou piora de uma doença psiquiátrica aguda, como a depressão e o abuso de substâncias (62).

A depressão é uma condição clínica normalmente difícil de ser tratada. Dados da literatura demonstram que, tanto a depressão quanto fatores genéticos, podem ser fatores desencadeantes ou contribuidores para o comportamento suicida e a tentativa de suicídio. A participação de determinado polimorfismo pode favorecer ou fornecer uma vulnerabilidade maior a determinados indivíduos, quando submetidos a condições específicas de estresse, os quais podem tentar o suicídio.

Com o objetivo de determinar se o polimorfismo N251K do gene do receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico pode fornecer uma vulnerabilidade maior a pacientes deprimidos para a tentativa de suicídio, determinamos a frequência deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio e comparamos com a frequência de uma amostra controle. A análise foi realizada a partir de DNA genômico de 123 pacientes e 197 controles. O estudo foi realizado através da técnica de PCR alelo específico descrita por Sequeira e cols. (70).

Não encontramos nenhum paciente portador do alelo K na amostra, mas encontramos dois controles heterozigotos para o polimorfismo. Os resultados da frequência do polimorfismo na amostra controle (0,5%) foram semelhantes aos dados encontrados na literatura, exceto quando os dados foram comparados com a população negra americana ( $p=0,0005$ ). Os dados encontrados demonstram que o polimorfismo N251K não está relacionado com a tentativa de suicídio ( $p=0,526$ , IC 95%).

O polimorfismo investigado em nosso estudo representa apenas uma parte de todo o gene, nosso resultado negativo não exclui a influência de outros polimorfismos ou genes relacionados com o metabolismo da noradrenalina e a vulnerabilidade para a tentativa de suicídio em pacientes portadores de depressão. A descoberta de novos polimorfismos e genes de susceptibilidade ao suicídio pode ajudar na adequação da terapia de pacientes com depressão.

## II. ABSTRACT

Nowadays suicide constitutes a severe public health problem worldwide. Many suicides occur unexpectedly and others, even when expected due to its risk seem to be unpredictable. A minority is triggered by stressing events in persons with an emotional healthy life and, in these cases, the risk of a suicidal behavior is generally temporary and potentially preventable. Amongst the factors associated with suicide acts is the beginning or worsening of an acute psychiatry disorder such as depression and substance abuse (62).

Depression is a clinical condition usually difficult to be treated. Data from literature demonstrates that both depression and genetic factors can be triggering factors or contribute to the suicidal behavior and suicide attempt. The participation of a specific polymorphism can provide a greater vulnerability to certain individuals, when submitted to specific conditions of stress.

With the objective of determining if the N251K polymorphism in  $\alpha_2$ adrenoceptor gene can be linked to suicide attempt, we determined the frequency of this polymorphism in depressed patients who attempted suicide and compared to a control sample. Genomic DNA from 123 patients and 197 controls were used in the analysis. The study was performed using allele specific PCR according to Sequeira and cols. (70).

We did not find any patients carrying the K allele, nevertheless, two controls were heterozygous for this polymorphism with a frequency of (0.5%). This was similar to other findings in the literature, except when data were compared to an African American population ( $p=0.0005$ ). Our data demonstrate that N251K polymorphism is not related to suicide attempt in the sample studied ( $p=0.526$ , IC 95%). This polymorphism represents a needle in the stack regarding the genetic involvement in suicide attempt. The negative results obtained do not exclude the influence of other polymorphisms or genes related to the metabolism of noradrenalin and vulnerability to suicide attempt in depressed patients. The analysis and discovery of other susceptibility genes to suicide can aid in the adequacy of therapies for patients with depression

### III. INTRODUÇÃO

É muito importante buscar as causas dos transtornos mentais, devido à frequência destes na nossa sociedade e à limitação dos tratamentos atuais. Até uma em cada cinco pessoas pode apresentar doença mental durante a sua vida e aproximadamente 4% da população sofre de transtorno mental crônico e grave (1). Além disso, os tratamentos psicofarmacológicos atuais não são estritamente curativos, mas sim meramente paliativos, reduzindo os sintomas, sem necessariamente oferecer alívio permanente. Tratamentos futuros melhores dependem da descoberta das causas das doenças mentais.

A depressão é uma condição clínica comum, moderadamente herdada (2), desabilitante e normalmente difícil de ser tratada (3).

Segundo Levinson (2), a identificação de genes que levam aos transtornos depressivos seria o maior avanço no entendimento de mecanismos fisiopatológicos da depressão.

Dados da literatura demonstram que, tanto a depressão quanto fatores genéticos, podem ser fatores desencadeantes ou contribuidores para o comportamento suicida e a tentativa de suicídio (4).

A participação de determinado polimorfismo pode favorecer ou fornecer uma vulnerabilidade maior a determinados indivíduos, quando submetidos a condições específicas de estresse, os quais podem tentar o suicídio. Isso não sugere ou significa que um único gene possa ser o responsável por condutas suicidas. Não se pode afirmar determinismo genético, ou seja, sabe-se que o comportamento suicida está relacionado com uma combinação de fatores emocionais, sócio-culturais, filosóficos, religiosos e também biológicos. O envolvimento genético seria um fator que pode contribuir com o desfecho, no caso a tentativa de suicídio. É sabido que muitos sujeitos que tentaram o suicídio tem histórico familiar de suicídio e de tentativas por

familiares. A compreensão de uma situação complexa pode gerar alívio e estimular a busca de um tratamento adequado. A negação ou a incompreensão sobre o que está se passando com o paciente é que pode ser trágico, como a literatura tem nos demonstrado.

Sabemos que o tema suicídio é controverso, complexo e por isso delicado. Muitas pessoas, inclusive aquelas com quadros depressivos, nunca tentarão o suicídio. Mas não podemos deixar de nos preocupar com aquelas pessoas que já fizeram alguma tentativa e buscam entender o que se passa com elas. A informação, o conhecimento e a melhor compreensão a respeito de uma doença ou uma condição podem realmente beneficiar as pessoas que passaram por tal situação e assim evitar tragédias pessoais e familiares futuras.

Como as bases moleculares da depressão e do suicídio não estão completamente entendidas, diversos estudos estão sendo realizados para que estas condições sejam mais bem elucidadas.

## IV. REVISÃO DA LITERATURA

### 1. Definições

Suicídio, por definição, é o ato de cometer um dano físico contra si próprio com a intenção de acabar com a própria vida (4). O comportamento suicida abrange um amplo espectro que vai desde a ideação suicida até o suicídio consumado, apesar de que algumas referências não consideram a ideação suicida como parte do fenótipo (5).

Brent e cols. (6) concluíram que a transmissão familiar do risco ao suicídio não estava relacionada à ideação suicida, porque no estudo familiar feito pelo grupo, o risco de suicídio foi maior em pacientes que tinham algum familiar que havia cometido suicídio ou algum familiar com histórico de tentativas, mas não naqueles que tinham algum familiar com ideação suicida. Já o estudo de Fu e cols. (7) sugere que existe um componente genético que determina tanto para ideação suicida, quanto para a tentativa de suicídio, independente da herdabilidade do transtorno psiquiátrico.

É possível que a discordância entre os estudos seja consequência de falta de definição exata para ideação suicida. Estudos moleculares raramente levam em conta a ideação suicida (8).

Tentativa de suicídio inclui aquelas situações na qual o sujeito comete algum ato com intenção de colocar sua própria vida em risco ou demonstra tal intenção, mas a ação não resulta em morte; no suicídio consumado a ação resulta em morte. Em ambos os casos, a intenção pode ser vaga ou ambígua, isto significa que em muitos casos a pessoa não quer realmente morrer, mas parar de sofrer (9). Estudos epidemiológicos em genética sugerem que suicídios consumados e tentativas de suicídio têm uma base genética comum (10).

## 2. Epidemiologia do suicídio

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), atualmente um milhão de pessoas se mata por ano no mundo e o suicídio está entre as 10 principais causas de óbito para todas as pessoas maiores de 5 anos de idade em todos os países onde há informações fidedignas sobre mortalidade (11). As taxas globais de suicídio variam de 25 mortes por 100 mil habitantes (em países do leste Europeu e no Japão) até menos de 10 mortes a cada 100 mil habitantes (em lugares como Espanha, Itália, Irlanda, Egito e Holanda). Ainda de acordo com as projeções da OMS, no ano de 2020, mais de um milhão e meio de pessoas morrerão devido ao suicídio, no mundo todo; de 10 a 20 vezes mais pessoas tentarão suicídio (12), o que representa uma morte a cada 20 segundos e uma tentativa a cada 1 ou 2 segundos. Em 2002, 877 mil pessoas cometeram suicídio no mundo, representando uma taxa global de 16 suicídios por 100 mil habitantes, ou uma morte a cada 40 segundos (12).

Cada vez mais o suicídio vem sendo considerado um grave problema de saúde pública, podendo ocorrer em cerca de 10% dos pacientes psiquiátricos. Estudos epidemiológicos mostraram que ele constitui-se na terceira causa de morte entre adolescentes e adultos jovens (entre 15 e 24 anos), excedido somente por lesão não-intencional e homicídio, e a décima primeira causa de morte no geral, nos Estados Unidos. A média naquele país é de 30000 mortes por suicídio ao ano e cerca de 650000 tentativas de suicídio ao ano. Em 2000, foram 29.350 mortes por suicídio nos Estados Unidos (4).

As taxas de morte por suicídio são maiores em homens do que em mulheres, com exceção à China, onde as taxas de suicídio são maiores em mulheres (13). As tentativas de suicídio são de 10 a 40 vezes mais freqüentes que as mortes por suicídio (14), e estima-se que 10% dos pacientes que tentam o suicídio, irão cometê-lo dentro de 10 anos (15). Sabe-se que, em termos mundiais, as taxas de suicídio tendem a aumentar entre as pessoas com mais de 45 anos, contudo, ultimamente, em muitos países, tem crescido significativamente a taxa de



suicídio entre adolescentes e jovens adultos. Numericamente, os jovens são os que mais cometem suicídio (16).

Muitas explicações têm sido consideradas para justificar as variações nacionais e regionais nas taxas de suicídio, incluindo clima, religião, sistema político e social. Contribuições genéticas para o suicídio têm sido representadas por pequenos efeitos de diversas variantes genéticas, associado com processos envolvidos no comportamento suicida e pela interação destes fatores genéticos com fatores ambientais (13,17). Sabe-se ainda que a notificação de casos de suicídio pode ser falseada por diversos motivos, como motivos religiosos, sociais, culturais, políticos e econômicos.

## 2.1 Epidemiologia do suicídio no Brasil

Em 2004, a média brasileira era de 4,5 mortes por 100 mil habitantes, oscilando entre 3,5 e 4,6 óbitos por 100 mil habitantes nas últimas duas décadas, de acordo com um estudo feito pelo Ministério da Saúde (MS) (18,19). Os coeficientes variam entre 1,5 e 2,2 no sexo feminino e entre 5,2 e 7,3 no sexo masculino (20).

No Brasil, em relação ao total de óbitos entre 1998 e 2000, os suicídios representaram 0,95% das mortes masculinas e 0,33% das femininas (20). A mortalidade proporcional por suicídios de maior magnitude é observada nas adolescentes de 15 a 19 anos, faixa etária na qual o suicídio representa 3,8% do total de mortes (20)

Analisando-se dados das capitais dos estados brasileiros, entre 1998 e 2000, verificaram-se as maiores taxas de sexo masculino em Boa Vista, Porto Alegre e Florianópolis, nestas capitais as taxas chegaram a atingir quase o triplo do coeficiente médio do país (20).

Durante o período de 1994 a 2004, o estado do Rio Grande do Sul teve a maior taxa de mortalidade masculina por suicídio, com 16,6 casos por 100 mil habitantes. Em quase 90% dos

casos há o diagnóstico de algum transtorno mental ou o uso abusivo de substâncias psicoativas, enquanto que uma minoria é desencadeada por eventos estressantes em pessoas com uma vida emocional saudável.

### **3. Modelos do comportamento suicida**

Diferentes modelos têm sido desenvolvidos para explicar a ocorrência do comportamento suicida. Os modelos mais comumente aplicados são o modelo diátese-estresse (4) e o modelo processo (21).

O modelo diátese-estresse explica porque uma pessoa comete o suicídio durante um episódio depressivo e outra não. O risco de suicídio não está correlacionado com a severidade do transtorno psiquiátrico, mas parece ser dependente de variações na diátese ou predisposição. Estressores típicos associados com o comportamento suicida inclui eventos adversos durante a vida, como problemas interpessoais ou sociais, e transtorno psiquiátrico agudo. Reconhecidas causas de diátese incluem influências genéticas, experiências traumáticas durante a vida, doença crônica, abuso de álcool ou drogas e fatores na dieta que levam a uma diminuição dos níveis de colesterol (22).

O modelo processo do comportamento suicida também é baseado na interação estado-traço, mas incorpora o efeito desta interação na evolução gradual da suicidabilidade. O conceito de processo suicida descreve o desenvolvimento e progressão da suicidabilidade como um processo que ocorre entre indivíduos e interação com o meio (23). O processo envolve ideação suicida, que pode evoluir para tentativa de suicídio com aumento da letalidade e intenção suicida até o suicídio consumado (21).

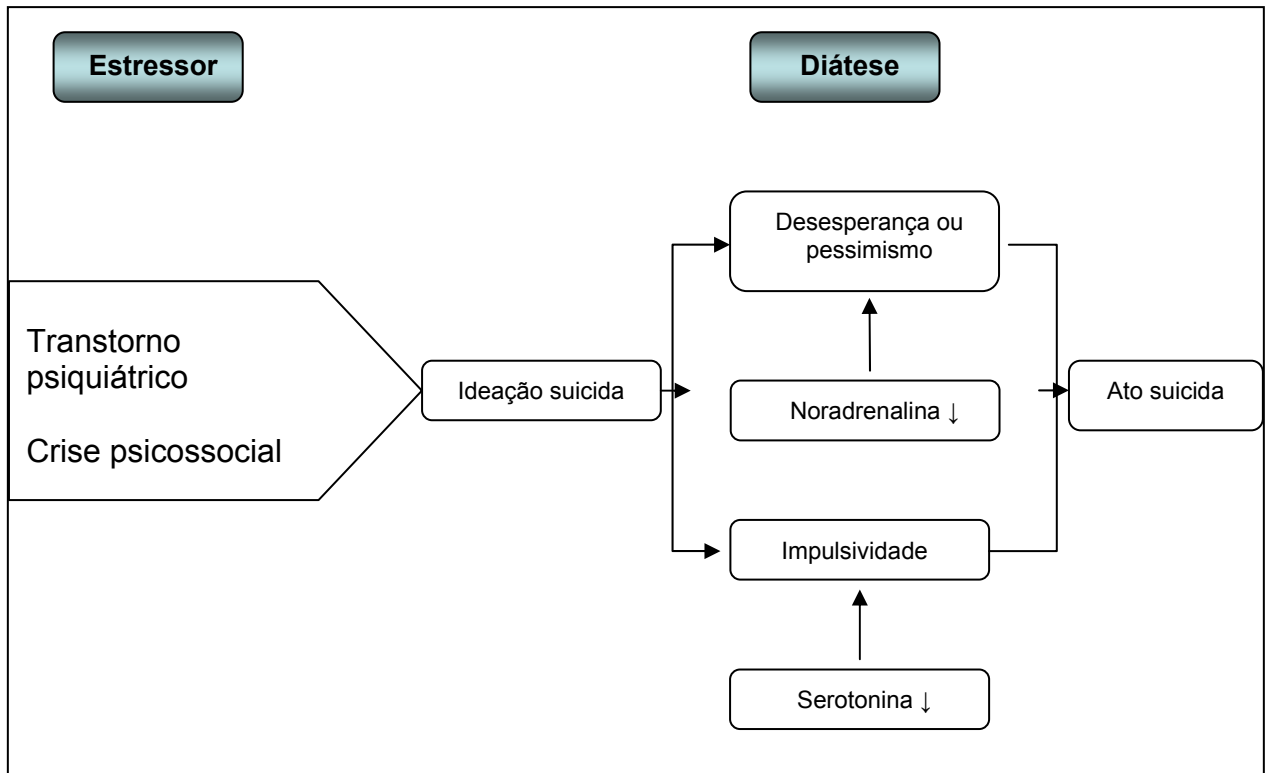


FIGURA 1: Modelo diátese-estresse do comportamento suicida (adaptado de Mann, 2003) (4).

#### 4. Neurobiologia do comportamento suicida

Comportamento suicida é definido como todo ato pelo qual um indivíduo causa lesão a si mesmo, qualquer que seja o grau de intenção letal e de conhecimento do verdadeiro motivo desse ato (20).

Apesar do conhecimento sobre a neurobiologia do suicídio ser ainda limitada, evidências comprovam que existem 3 sistemas neurobiológicos envolvidos na fisiopatologia do comportamento suicida: hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), disfunção do sistema serotoninérgico e atividade excessiva dos receptores noradrenérgicos (23,24,25).

## 5. Neuroquímica do comportamento suicida

A análise *post-mortem* de cérebros de vítimas de suicídio mostrou dados interessantes dos sistemas neurotransmissores serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos destes pacientes (26).

Dados da literatura demonstram que a concentração de noradrenalina (NA) no sistema nervoso central de vítimas de suicídio é até 73% mais baixos (27,28).

A imunorreatividade da enzima tirosina hidroxilase (TH) (enzima que limita a biossíntese de NA) foi descrita em um estudo que estaria aumentada no cérebro de vítimas de suicídio (29), mas outros estudos encontraram uma imunorreatividade diminuída da enzima (4,30). A imunorreatividade da TH aumenta como um mecanismo compensatório sob condições nas quais o aumento na liberação de NA leva a depleção do neurotransmissor (31). Então, a imunorreatividade da TH pode ser estado-dependente, explicando os resultados discrepantes da literatura. Maior imunorreatividade da TH e aumento dos receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos podem indicar depleção noradrenérgica (4).

## 6. Relação suicídio X depressão

O transtorno depressivo maior, juntamente com dependência de álcool, abuso físico na infância, fobia social, desordem de conduta e etnia africana, é um dos fatores mais associados à tentativa de suicídio (32,33); 15% dos pacientes gravemente deprimidos eventualmente cometerão suicídio (1). Mais de 90% dos pacientes que tentam o suicídio têm algum transtorno psiquiátrico diagnosticado (4).

A presença de transtornos psiquiátricos, especialmente depressão, é um conhecido fator de risco para suicídio, tanto em homens quanto em mulheres (34,35).

O risco de suicídio em pacientes com depressão é estimado em 2,2% (36). Em um estudo de casos feito por Bertolote e cols. (37), foi descrito que 53% dos pacientes que haviam cometido suicídio haviam sido diagnosticados com depressão. Foi sugerido que pacientes com depressão teriam um risco de cometer suicídio de 60% a 70% maior que a população em geral (38).

Outros aspectos clínicos estão relacionados ao aumento da tendência ao comportamento suicida, traços de personalidade impulsiva ou agressiva, desesperança, história de abuso físico ou sexual na infância, história de doenças mentais ou transtornos neurológicos e fumo (26). O sentimento de desesperança é significativo na manutenção do quadro depressivo e é um potente preditor do suicídio. O sentimento de desesperança é definido como “um sistema de esquemas cognitivos onde o denominador comum são expectativas negativas com relação ao futuro” (39).

## **7. Descrição dos transtornos de humor**

A depressão é o transtorno de humor mais comum na população, é uma emoção universalmente sentida por quase todas as pessoas em algum momento da vida. A distinção entre sentimento “normal” de depressão e uma doença que requer tratamento médico é problemática para pessoas não treinadas nas ciências da saúde mental (1).

Pouco se sabe sobre prevenção da depressão, principalmente em indivíduos que têm risco aumentado para o desenvolvimento deste transtorno (3).

A depressão é um grupo etiológicamente heterogêneo dos transtornos psiquiátricos, caracterizada por um amplo espectro de sintomas que reflete em alterações cognitivas, psicomotoras e processos emocionais. Pelo fato de que os indivíduos afetados possuem cursos

clínicos diversos da doença, bem como diferente resposta aos tratamentos, a epidemiologia genética tem reforçado a influência dos fatores genéticos na depressão (40).

## **8. Epidemiologia da depressão**

Os transtornos depressivos constituem um dos tipos mais comuns de transtornos psiquiátricos. A prevalência de depressão durante a vida é de 5-10%, com um risco 2 vezes maior para mulheres (1,41,42,43). A herdabilidade da depressão, baseada em estudos com gêmeos é de 40 a 50% (44,45,46), mas o modo de herança ainda não é claro (47). Sabe-se que potentes fatores ambientais para o desenvolvimento do transtorno depressivo incluem abuso na infância e estresse (48).

## **9. Neurobiologia da depressão**

### **9.1 Hipótese monoaminérgica**

Há mais de 40 anos, a base biológica da depressão tem sido particularmente focada nos neurotransmissores monoaminérgicos, principalmente NA e serotonina (5-hidroxitriptamina-5HT) (1,49,50,51). As evidências eram relativamente simples, redução da concentração de metabólitos no fluido cerebrospinal e na urina, diminuição da concentração plasmática dos precursores, modificações na densidade dos receptores e ação de determinadas drogas que depletavam estes neurotransmissores e induziam à depressão (1,50).

### **9.2 Neurônios noradrenérgicos**

As evidências do papel da NA na depressão começaram a ser descobertas pela atuação de drogas que agiam no metabolismo deste neurotransmissor e causavam ou aliviavam sintomas da depressão (52)

Os neurônios noradrenérgicos utilizam a NA como neurotransmissor. A NA é sintetizada a partir do aminoácido tirosina, que é transportado para o sistema nervoso a partir da corrente sanguínea através de uma bomba de transporte ativo (1). Dentro do neurônio, a tirosina sofre a ação de três enzimas, primeiramente age a TH, enzima que limita a velocidade da síntese da NA. A TH converte a tirosina em di-hidroxi-fenilalanina (DOPA). Na seqüência, a segunda enzima, a DOPA descarboxilase (DDC) atua convertendo a DOPA em dopamina (DA). A terceira e última enzima, a dopamina beta-hidroxilase (DBH), converte DA em NA. A NA é então armazenada em vesículas até ser liberada pelo impulso nervoso (Figura 2) (1).

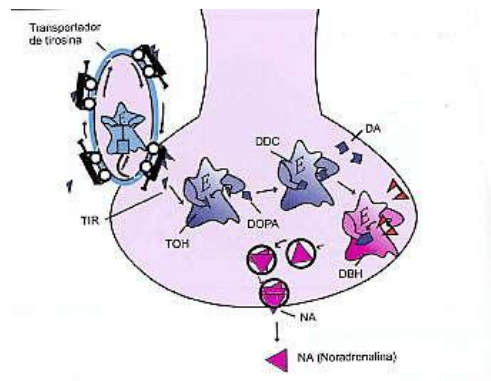


FIGURA 2: Produção de NA (reproduzido de Stahl, 2002) (1)

A NA também pode ser degradada por duas enzimas, transformando-a em metabólitos inativos. A primeira enzima é a monoamino-oxidase (MAO), que se localiza nas mitocôndrias do neurônio pré-sináptico e em outros locais, e a segunda é a catecol-O-metil-transferase (COMT), cuja localização supõe-se ser fora do terminal nervoso pré-sináptico (Figura 3) (1).

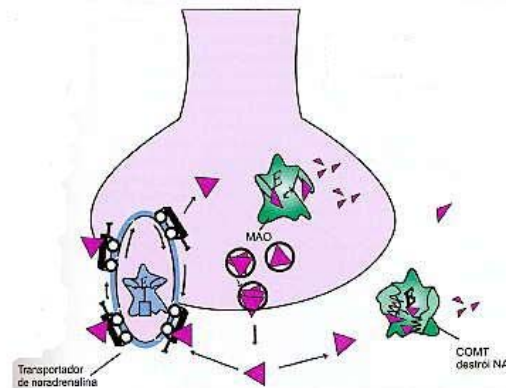


FIGURA 3: Degradação da NA (reproduzido de Stahl, 2002) (1)

A ação da NA pode ser interrompida pela remoção do neurotransmissor da fenda sináptica por uma bomba de transporte, sem degradá-la. Esta bomba de transporte é denominada bomba de recaptação. Uma vez dentro do neurônio, a NA pode ser rearmazenada e reutilizada quando outro impulso nervoso passar pelo neurônio, ou pode ser degradada por enzimas dentro do neurônio (1).

O neurônio noradrenérgico é regulado por diferentes receptores de NA. Estes receptores foram classificados em  $\alpha$  ou  $\beta$ , dependendo de sua preferência por uma série de agonistas ou antagonistas. Subseqüentemente, estes receptores foram subclassificados em  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , assim como,  $\beta_1$  e  $\beta_2$  (1).

Os três receptores pós-sinápticos mais importantes são  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta_1$ . Estes receptores convertem a ocupação deles em função fisiológica, o que, eventualmente, resulta em alterações na expressão gênica dos neurônios pós-sinápticos (1).

Os receptores  $\alpha_2$  são os únicos receptores noradrenérgicos pré-sinápticos nos neurônios noradrenérgicos. Eles regulam a liberação de NA e, portanto são denominados auto-receptores, isto é, quando identificam a presença da NA, interrompem a liberação adicional deste



neurotransmissor. A estimulação deste receptor impede o neurônio de realizar sua descarga (Figura 4) (1).

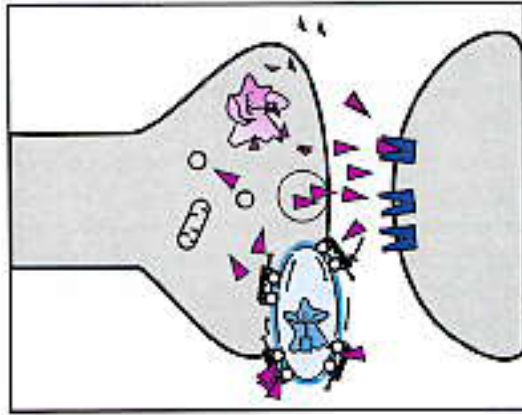


FIGURA 4: Funcionamento normal do sistema noradrenérgico (reproduzido de Stahl, 2002) (1)

Quando ocorre uma deficiência de NA na fenda sináptica, uma série de sintomas descritos na Tabela 1 podem aparecer.

TABELA 1: Síndrome da deficiência noradrenérgica

---

Atenção diminuída

Concentração prejudicada

Deficiência da memória operante

Lentificação do processamento de informações

Humor deprimido

Lentificação psicomotora

Fadiga

---

Adaptado de Stahl, 2002 (1).

A depleção do neurotransmissor na fenda sináptica causa *up regulation* compensatória dos receptores pós-sinápticos (1). Em comparação com os estudos do sistema serotoninérgico, os estudos do sistema noradrenérgico são poucos, mas foi identificada diminuição dos níveis de NA e aumento na densidade dos receptores  $\alpha$ 2A em pacientes deprimidos. Este aumento dos receptores sugere regulação na sinapse noradrenérgica devido ao déficit do neurotransmissor na fenda (29).

Existem muitas linhas de evidências que dão suporte no importante envolvimento da NA e dos receptores noradrenérgicos na depressão, especialmente anormalidades nos receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (49). As alterações na sensibilidade dos receptores e na interação com outros sistemas moduladores resultam numa modulação noradrenérgica pós-sináptica ineficaz (53).

### 9.3 Resposta ao estresse

O hormônio glicocorticóide cortisol (CO) e o HHA constituem um importante sistema de resposta ao estresse e depressão maior, especialmente se for severa e associada à agitação psicomotora, pode estar relacionada à hiperatividade do HHA (54).

O estresse induz atrofia neuronal em algumas regiões do cérebro. Isso foi comprovado, pois um grande percentual de pacientes com Síndrome de Cushing, que resulta numa hipercortisolemia, também manifestam sintomas de quadro depressivo, bem como apresentam uma redução do volume do hipocampo cerebral. Esta redução no volume do hipocampo está inversamente relacionada com a concentração sérica de CO (55,56).

Os mecanismos precisos pelos quais o CO exerce seus efeitos deletérios no hipocampo ainda não são claros, mas envolve a facilitação da sinalização glutamatérgica e a inibição do transporte de glicose (54).

## 10. Genética do comportamento suicida

O suicídio é um ato multi-determinado, a importância de fatores psiquiátricos, biológicos e sociais, da psicodinâmica e das doenças físicas já está bem estabelecido, no entanto, evidências têm se acumulado de que fatores genéticos possam ser incluídos entre os muitos determinantes do suicídio e os estudos com gêmeos são os melhores referenciais para a contribuição genética do comportamento suicida (57).

Estudos clínicos com pacientes psiquiátricos sugerem que o risco de comportamento suicida aumenta na presença de uma história familiar de suicídio.

Apesar de vários fatores biológicos, psicológicos, sociológicos e econômicos contribuírem para a complexa etiologia do comportamento suicida, evidências genéticas têm sido estudadas há muitos anos (26). Estudos com gêmeos têm demonstrado que gêmeos monozigóticos têm uma maior taxa de concordância para suicídio e tentativa de suicídio que gêmeos dizigóticos (10). Alguns estudos têm demonstrado que a predisposição ao comportamento suicida é independente da predisposição genética a transtornos psiquiátricos, que estão normalmente associados com o risco ao suicídio, incluindo transtornos de humor, esquizofrenia e abuso de substâncias (9).

A herdabilidade do suicídio e do comportamento suicida parece ser determinada através de dois componentes: a herança de transtornos psiquiátricos e a herança da impulsividade agressiva ou outros traços de personalidade. Então, a concordância entre estes fatores responsáveis resulta em um risco aumentado para o comportamento suicida, estima-se que os fatores genéticos contribuem para 45% da variabilidade no comportamento suicida (13,58).

A compreensão que se tem hoje acerca das doenças mentais e psiquiátricas, assim como o comportamento suicida, é de que tais fenótipos são multideterminados, caracterizando assim doenças do tipo multifatoriais ou complexas. Isto significa que estes comportamentos são

determinados tanto por fatores genéticos quanto por fatores ambientais, não exibindo um padrão de herança mendeliana, mas em alguns casos, pode-se observar indivíduos afetados na mesma família. Deve-se salientar que tanto os fatores genéticos quanto os ambientais podem aumentar ou diminuir o risco para o desenvolvimento da doença, podendo ser assim fatores de risco ou fatores de proteção, respectivamente. A história familiar nos permite dizer se há uma maior predisposição ou probabilidade de apresentação da doença, mas os fatores ambientais parecem ser decisivos na manifestação desta, diminuindo ou aumentando significativamente o risco dela ocorrer. Todos estes fatores contribuem na propensão individual para o aparecimento da doença.

Especificamente no campo da genética molecular, os avanços têm permitido o emprego de métodos mais sensíveis e rápidos na identificação de genes associados aos diversos transtornos mentais, principalmente transtornos afetivos. A detecção de seqüências específica de DNA, encontradas graças às técnicas moleculares, pode ser de grande importância para o diagnóstico clínico. A identificação de genes responsáveis, porém, é uma tarefa que envolve uma pesquisa geral em todo o genoma humano. Por esse motivo, tem-se feito a identificação de genes candidatos relacionados aos sistemas que se busca estudar. Um exemplo é a escolha de polimorfismos em genes relacionados aos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos ( $\alpha_2A$ ), como marcadores para o estudo.

Polimorfismos, por definição, são variantes normais de um gene que ocorrem uniformemente na população. São alterações diferentes do genoma, que normalmente não causam dano na proteína que o gene codifica, ou não alteram o processamento do RNA mensageiro (quando ocorre numa região reguladora).

## **11. Genética da depressão**

Acredita-se que a origem genética da depressão seja heterogênea, ou seja, diferentes genes de susceptibilidade atuam em diferentes famílias (40). O poder dos estudos de mapeamento genético depende do risco relativo (RR) atribuível a cada gene específico ou interação (59,60). Para mecanismos multigênicos, como o da susceptibilidade a depressão, o maior RR atribuível para qualquer *locus* não pode ser conhecido, mas presumivelmente é mais vantajoso que identificar características que predizem um RR possivelmente maior (2). O risco de depressão é de duas a três vezes maior em pessoas com familiares em primeiro grau com o transtorno (61), dando uma noção da herdabilidade do transtorno. Quando a depressão inicia cedo e múltiplos episódios são evidenciados, parece que a agregação familiar aumenta e diferentes transtornos afetivos são evidenciados na mesma família (40).

A maior parte dos estudos de associação genética publicados tem sido focada em polimorfismos funcionais (variações na seqüência de DNA que alteram a expressão e/ou funcionamento do produto do gene) nos *loci* que codificam para transportador de 5-HT (SLC6A4), receptor 2A da 5HT (5HTR2A), TH (enzima limitadora para a síntese de DA), triptofano hidroxilase 1 e 2 (TPH1 e TPH2) (síntese de 5HT) e COMT (catabolismo da DA) (2).

Acredita-se que alterações moleculares e funcionais nos receptores dos neurotransmissores e nos caminhos de sinalização da NA e/ou 5-HT desempenham um papel fundamental na patogênese do suicídio e da depressão (53,62). Por outro lado, uma grande variedade de receptores ligadores de proteína-G (GPCRs), dentre estes os  $\alpha$ 2A, funcionam como auto e heterorreceptores e controlam a liberação de neurotransmissores (63). Existem evidências de que a densidade de algumas destas GPCRs, como os  $\alpha$ 2A e receptores de 5HT, está alterada no cérebro de vítimas de suicídio (49,64,65,66). Estas alterações têm sido correlacionadas com diminuição de liberação de neurotransmissor resultante de uma supersensibilidade dos receptores  $\alpha$ 2A e/ou disfunção dos receptores de 5HT (67). Uma maior evidência de que estes receptores estejam envolvidos na fisiopatologia do suicídio e depressão

é que a administração crônica de antidepressivos reduz a densidade e atividade destes receptores em cérebro de ratos (68,69). Baseados nestas observações, foi sugerido que pacientes sofrem de transtornos de humor devido a um distúrbio da função noradrenérgica e/ou serotoninérgica (67).

Comparando com a população em geral, familiares em primeiro grau de pacientes com depressão têm um risco, aproximadamente, três vezes maior para desenvolver depressão (40).

O estudo realizado por Escribá e cols. (67) demonstrou que pacientes deprimidos que cometeram suicídio apresentam uma maior expressão de RNA mensageiro de receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico no córtex cerebral pré-frontal. Devido às diferenças inter-indivíduos entre a expressão de RNA mensageiro e a quantidade de proteína que é traduzida no córtex pré-frontal, García-Sevilla e cols. (65) fizeram um estudo de correlação entre estes dois fatores e encontraram uma correlação de 0,79 ( $p < 0,05$ ).

## **12. Suicídio e receptores $\alpha_2$ -adrenérgicos**

Nos últimos anos vem crescendo, na literatura científica, o número de estudos que demonstram que o cérebro de vítimas de suicídio apresenta um aumento na densidade de receptores  $\alpha_2$  quando comparado ao cérebro de controles (49).

Os níveis alterados do receptor  $\alpha_{2A}$  observado em suicidas, pode ser consequência de uma variabilidade genética no gene do receptor  $\alpha_{2A}$ , ocasionando um aumento da predisposição ao comportamento suicida (70). Diversas variantes genéticas no gene do receptor  $\alpha_{2A}$  foram identificadas por Feng e cols. (71). Uma delas, o polimorfismo N251K, localizado na base 753, leva a uma alteração funcional na terceira alça do receptor aumentando a atividade do mesmo (72).

O tratamento com drogas antidepressivas leva a uma diminuição dos níveis de receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos e proteínas  $G_i$ , demonstrando a fisiopatologia destes receptores no suicídio e na depressão (49). A rota de sinalização dos receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos está aumentada no cérebro de vítimas de suicídio (67).

### 13. Receptores $\alpha_2$ -adrenérgicos

Os receptores  $\alpha_2A$  estão amplamente distribuídos no sistema nervoso central e periférico de humanos (72). Eles são receptores de membrana acopladores de proteína-G para as catecolaminas endógenas adrenalina e NA, mediando parte dos efeitos biológicos destes neurotransmissores e de diversas ações metabólicas (71). Além de controlarem a regulação da pressão sanguínea por mediação da contração da musculatura vascular (73), estes receptores também são responsáveis pela modulação da sedação, analgesia, liberação de insulina, função renal, cognição, memória e comportamento (74).

Três tipos distintos do receptor foram identificados por estudos moleculares e farmacológicos,  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ . Para a determinação da função de cada subtipo, estudos em modelos *knockout* foram feitos (75). Cada subtipo é codificado por um único gene, ADRA2A, ADRA2B, ADRA2C (74). Quando os receptores  $\alpha_{2A}$  pré-sinápticos inibitórios são estimulados, a síntese e liberação de NA e 5HT são inibidas (68); então, um aumento na densidade/sensibilidade dos  $\alpha_{2a}$ -autorreceptores/heteroreceptores pode resultar numa liberação neuronal insuficiente de NA e 5HT, resultando na depressão (76).

Para cada subtipo de receptor  $\alpha_2$ , variações na seqüência dentro da região codificante que alteram a estrutura de cada proteína têm sido identificadas em humanos. Isto resulta da substituição ou deleção de aminoácidos na terceira alça intracelular de cada receptor (77).

Parece haver uma interação significativa entre genes e ambiente em relação ao funcionamento do sistema noradrenérgico. De Parmentier e cols. (49) encontrou um aumento no número de receptores  $\alpha_{2A}$  no córtex temporal de vítimas de suicídio não tratadas com antidepressivos e Callado e cols. (64) encontrou um aumento na densidade dos receptores  $\alpha_{2A}$  no córtex frontal de vítimas de suicídio deprimidas.

O subtipo  $\alpha_{2A}$  é predominantemente encontrado no sistema nervoso central. O gene do receptor  $\alpha_{2A}$  situa-se no cromossomo 10, entre as regiões q24 e q26. O gene não possui íntrons e tem, aproximadamente, 3,7Kb de comprimento (72).

#### **14. GPCRs (*G protein-coupled receptors*)**

As GPCRs são a maior classe de receptores em sistemas biológicos e estão envolvidas numa grande variedade de processos fisiológicos (78). Estruturalmente, as proteínas G são compostas por 3 subunidades:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Quando a proteína G é ativada, ocorre a liberação do GDP da subunidade  $\alpha$ , permitindo a ligação de um GTP, induzindo a dissociação da subunidade  $\alpha$  das subunidades  $\beta$  e  $\gamma$  (78).

Baseado no sequenciamento do cDNA e na similaridade da seqüência de aminoácidos, a subunidade  $G\alpha$  foi classificada em 4 classes principais:  $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$  e  $G_{12}$  (79). Uma vez dissociada, tanto a subunidade  $\alpha$ , quanto as subunidades  $\beta\gamma$ , podem ativar ou inibir múltiplos efetores que modulam a resposta celular. Estes efetores incluem adenilato-ciclase, fosfolipase C, fosfatidilesterases, fosfolipase A2 e fosfoinositol 3 quinase, inibindo ou ativando uma variedade de segundos mensageiros, como AMPc, GMPc, diacilglicerol, inositol (1,4,5) trifosfato, fosfatidilinositol (3,4,5) trifosfato, ácido aracdônico e ácido fosfatídico, promovendo o aumento do  $Ca^{+2}$  intracelular e a abertura ou fechamento de uma variedade de canais (80).



Todos os receptores  $\alpha$ -adrenérgicos utilizam proteínas G como tradutoras de sinal. Diferenças ocorrem no tipo de proteína G que cada receptor está acoplado. Receptores  $\alpha_1$  estão acoplados em proteínas Gp/Gq, enquanto receptores  $\alpha_2$  estão acoplados em proteínas Gi/Go. A proteína G acopladora do receptor  $\alpha_2$ , Gi/Go, liga-se negativamente à adenilato-ciclase e então reduz a formação de AMPc, o qual leva a uma redução no influxo de cálcio, níveis reduzidos de cálcio levarão a um decréscimo na liberação do neurotransmissor (72).

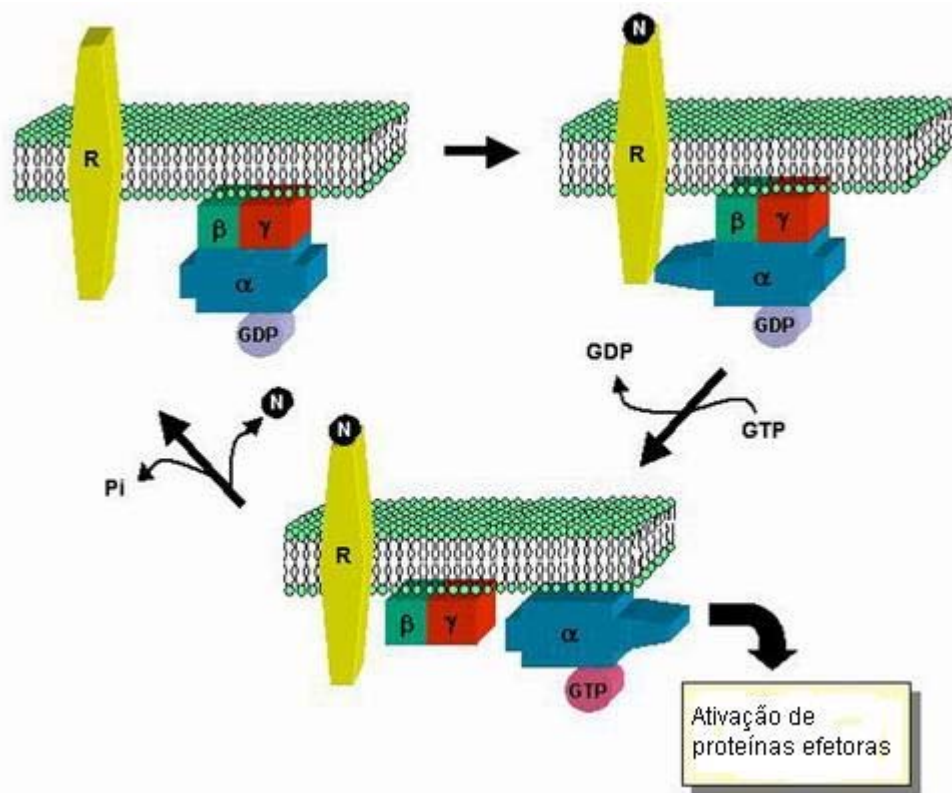


FIGURA 5: Ativação das proteínas G (adaptado de Luján, 2004) (81).

Devido ao papel crítico do sistema de sinalização das proteínas G, estudos recentes têm sido focados no envolvimento destas na fisiopatologia dos transtornos mentais. Os achados sobre anormalidades no funcionamento das proteínas G e comportamento suicida ainda são inconsistentes (82).

## **15. Alterações na expressão do receptor $\alpha_{2A}$ -adrenérgico em cérebro de vítimas de suicídio**

Receptores pré-sinápticos inibitórios  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico controlam a liberação neuronal de NA e 5HT. Dados da literatura demonstram que vítimas de suicídio possuem uma maior densidade de receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos (49,64,76). Recentemente foi demonstrado que a atividade dos receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos está aumentada no cérebro de vítimas de suicídio (83). Estes resultados reforçam a hipótese de que a supersensibilidade dos receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos explicam parte das alterações moleculares relacionadas ao suicídio e à depressão (84). Então, aumentos do  $\alpha_2$ -adrenoreceptor e da atividade da proteína-G, e diminuição da atividade da adenilato-ciclase, poderiam estar envolvidos na redução de níveis citosólicos de AMPc (67).

O polimorfismo N251K, localizado na base 753, contada a partir do códon de iniciação, produz uma troca de asparagina para lisina numa porção altamente conservada da terceira alça do receptor, numa região que parece ser importante para interação com a proteína G (72). A ativação da forma Lis251 do receptor  $\alpha_{2A}$ , somente observada em suicidas (70), leva a uma inibição aumentada da atividade da adenilato-ciclase, ativação da sinalização da MAP kinase e estimulação do acúmulo de inositol fosfato (72). Alterações em muitos elementos desta rota metabólica têm sido observadas em cérebro de suicidas quando comparados a controles, incluindo diminuição da atividade da adenilato-ciclase (85,86).

## **16. Técnicas laboratoriais para detecção do polimorfismo N251K no gene do receptor $\alpha_{2A}$ -adrenérgico**

### **16.1 Extração de DNA**

Todos os protocolos de extração de DNA baseiam-se no rompimento da membrana nuclear, separação do DNA das proteínas através da precipitação e posterior solubilização do DNA em solução aquosa.

O DNA pode ser obtido de qualquer célula que contenha núcleo. Especialmente para estudos na área de genética do suicídio, o usual é utilizar sangue total periférico ou tecido cerebral de vítimas de suicídio.

## 16.2 Reação em Cadeia da Polimerase

A reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* – PCR) é uma técnica rápida de amplificação *in vitro* de uma seqüência específica do DNA genômico (ou RNA, seguido de transcrição reversa) entre uma região 5' e 3' flanqueada por *primers* complementares a uma das fitas de DNA. A PCR permite a síntese de seqüências específicas gerando até  $10^9$  cópias a partir de uma molécula alvo (87).

O resultado da amplificação é o acúmulo exponencial de um fragmento específico cujas extremidades são definidas pelas terminações 5' dos *primers* (87).

### 16.2.1 PCR alelo-específico

É uma variação da técnica de PCR. Neste caso, um dos *primers* utilizados é desenhado para hibridizar somente no alelo com a alteração determinada. Utilizam-se duas reações para cada paciente, uma com o conjunto de *primers* com a forma alélica N e outra com o conjunto de *primers* com a forma alélica K. Só haverá amplificação da reação onde o *primer* possui a alteração se o paciente possuir o alelo alterado (88).

## 16.3 Eletroforese

A eletroforese, técnica utilizada para separação de fragmentos de DNA, é utilizada para análise de resultados de vários procedimentos laboratoriais, como extração de DNA, PCR e

digestão com enzimas de restrição. Consiste na aplicação de uma corrente elétrica por uma fase semi-móvel (suporte), promovendo a migração de moléculas de acordo com sua carga elétrica e peso molecular. A escolha do tipo (gel de agarose ou poliacrilamida) e da concentração do suporte depende do tamanho dos fragmentos que se deseja separar e da necessidade da resolução dos mesmos. A corrente elétrica é conduzida por um tampão salino, em geral TAE (Tris-Acetato-EDTA) ou TBE (Tris-Borato-EDTA). O tempo de migração também varia com o tamanho do fragmento que se deseja visualizar, utilizando-se como referência, os chamados “marcadores de peso molecular” para estimativa do tamanho do fragmento visualizado (87).

## **17. Suicídio e saúde pública**

O suicídio é um importante problema de saúde pública e tratar pacientes suicidas é uma das situações clínicas mais complexas para jovens médicos (89). A severidade da ideação suicida é associada com o risco de suicídio. Pacientes com alto risco para suicídio deveriam ser tratados por especialistas em saúde mental, propondo a estes pacientes um tratamento intensivo e monitoramento freqüente (90). Além do prejuízo ao paciente, um único suicídio afeta emocionalmente, socialmente e economicamente, no mínimo, outras seis pessoas entre familiares, amigos, colegas de trabalho, comunidade e a sociedade como um todo. Se o suicídio ocorrer em escola ou ambiente de trabalho, o impacto afeta muito mais pessoas (12).

Desde a década de 90, a OMS trata o suicídio como um problema de saúde pública. No Brasil, a questão foi assumida como tal a partir de dezembro de 2005, quando o então ministro da saúde, Saraiva Felipe, assinou uma portaria instituindo o grupo de trabalho responsável pela elaboração de políticas de prevenção ao suicídio (18).

Estratégias de prevenção ao suicídio deveriam focar indivíduos com alto risco, o que significa que precisamos melhorar a forma de diagnosticar este tipo de paciente. Uma tentativa prévia de suicídio é o melhor preditor para um futuro suicídio ou outra tentativa (9). Aliado a uma maior atenção que vem sendo dispensada pelos pesquisadores a estas relações, a medicina vem tendendo a incorporar em suas práticas diversas tecnologias de ponta, como o uso da biologia molecular, que permite um diagnóstico precoce e mais preciso de diversas doenças, além de auxiliar o entendimento de sua patogênese, permitindo assim o desenvolvimento de novos tratamentos e prevenção mais eficazes.

Apesar de todos os avanços da medicina no sentido de esclarecer as bases biológicas de doenças psiquiátricas, o suicídio ainda hoje é tratado como algo vergonhoso, resultado de falência pessoal, familiar e/ou social. Por esse motivo, a pesquisa e a intervenção médica acabam prejudicadas, por falta de notificação adequada dos casos de suicídio (subnotificação, informação de dados errôneos) para fins de estudos estatísticos.

## **18. Prevenção ao suicídio**

O tratamento dos transtornos mentais é um importante elemento para a prevenção do suicídio. Contudo, o suicídio está associado a uma variedade de transtornos mentais, cada qual com uma terapêutica específica. A prevenção do suicídio deve ser focada no conhecimento dos fatores de risco. É possível dividir fatores de risco em três: 1) Fatores constitucionais e hereditários, não passíveis de intervenção, como idade, sexo, história familiar, genética; 2) Fatores ligados a condições endógenas, passíveis de serem controlados, como doenças físicas e mentais, com ênfase à neurobiologia das afecções e no desequilíbrio dos neurotransmissores, bem como os transtornos de personalidade, que envolvem características como impulsividade, agressividade, perfeccionismo, insegurança, baixa tolerância à frustração, personalidade

limítrofe; e 3) Fatores ligados a hábitos e ambientes, passíveis de serem alterados ou corrigidos, como estado civil, isolamento social, religião, classe social, profissão, desemprego/ aposentadoria, família suicidogênica, abuso de álcool e outras substâncias psicoativas, acesso aos métodos e seu grau de letalidade (91).

Uma sólida estratégia de prevenção ao suicídio deveria incluir o tratamento daqueles transtornos mais freqüentemente associados a ele, de acordo com a situação local e não apenas em relação à literatura relativa a países cujo perfil de associação nosográfica de suicídio pode ser completamente distinta do que existe localmente. Na ausência dessa informação, parece legítimo considerar-se a depressão, o alcoolismo e a esquizofrenia como os transtornos mais importantes (92).

Lidar com o estigma que cerca a doença mental, e também com o estigma adicional que cerca o suicídio é uma tarefa complexa. O estigma é responsável pelo desencorajamento das pessoas para buscar e aceitar ajuda, limitando o tratamento e o apoio quando estas necessitam dele, reduzindo os recursos disponíveis para dispensá-los (91).

## V. OBJETIVOS

1. Determinar a frequência do polimorfismo N251K no gene do receptor  $\alpha_{2a}$ -adrenérgico em uma amostra de pacientes deprimidos que tentaram o suicídio;
2. Estimar a frequência deste polimorfismo em uma amostra controle representativa da população de Porto Alegre;
3. Comparar os dados obtidos para a amostra de pacientes com a amostra de controles e dados da literatura.

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stahl SM. Psicofarmacologia – base neurocientífica e aplicações práticas. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda, 2002.
2. Levinson DF. The genetics of depression: A review. *Biol Psychiatry*. 2005; 60(2):84-92.
3. Holtzeimer PE, Nemeroff CB. Future prospects in depression research. *Dialogues Clin Neurosc*. 2006; 8(2):175-89.
4. Mann JJ. Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4(10):819-28.
5. Mann JJ. Psychobiologic predictors of suicide. *J Clin Psychiatry*. 1987; 48S:780-96.
6. Brent DA, Bridge J, Johnson BA, Connolly J. Suicidal behavior runs in families. A controlled family study of adolescent suicide victims. *Arch Gen Psychiatry*. 1996; 53:1145-52.
7. Fu Q, Heath AC, Bucholz KK, Nelson EC, Glowinski AL, Goldberg J et al. A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men. *Psychol Med*. 2002; 32(1):11-24.
8. Courtet P, Jollant F, Castelnaud D, Buresi C, Malafosse A. Suicidal behavior: relationship between phenotype and serotonergic genotype. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005; 133C:25-33.
9. Malafosse A. Genetics of suicidal behavior. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005; 133(1):1-2.
10. Roy A. Genetic and biologic risk factors for suicide in depressive disorders. *Psychiatr Q*. 2003; 64:345-58.
11. WHO (World Health Organization). Figures and facts about suicide. Geneva, 1999.
12. WHO (World Health Organization). The World Health Report 2003: Shaping the future. Geneva: World Health Organization, 2003.
13. Bertolote JM, Fleischmann A. Suicidal behavior prevention: WHO perspectives on research. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005; 133C:8-12.
14. Schmidtke A, Bille-Brahe U, De Leo D, Kerkhof A, Wasserman D (Eds) Suicidal behavior in Europe: results from WHO/EURO multicentre study on suicidal behavior. Germany, 2001.
15. Suominen K, Isometsa E, Suokas J, Haukka J, Achte K, Lonnqvist J. Completed suicide after a suicide attempt: a 37-year follow-up study. *Am J Psychiatry*. 2004; 161: 562-3.
16. Fleischmann A, Bertolote JM, Belfer M, Beautrais A. Completed suicide and psychiatric diagnosis in young people: a critical examination of the evidence. *Am J Orthopsychiatry*. 2005; 75:676-83.
17. Marusic A. History and geography of suicide: could genetic risk factors account for the variation in suicide rates? *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2005; 133:43-7.



18. ABP - Associação Brasileira de Psiquiatria (homepage na internet). Disponível em: [www.abpbrasil.org.br/clipping](http://www.abpbrasil.org.br/clipping)
19. Radiobrás – Agência Brasil (homepage na internet). Disponível em: [www.agenciabrasil.gov.br/noticias/2006/08/22](http://www.agenciabrasil.gov.br/noticias/2006/08/22)
20. Werlang BG, Botega NJ, organizadores. Comportamento suicida. Porto Alegre: Artmed, 2004.
21. Van Heeringen C. Understanding suicidal behavior: the suicidal process approach to research, treatment and prevention. Chichester: Wiley; 2001.
22. Mann JJ. The neurobiology of suicide. *Nat Med*. 1998; 4:25-30.
23. Van Heeringen K. The neurobiology of suicide and suicidality. *Can J Psychiatry*. 2003; 48(5):289-291.
24. Oquendo MA, Mann JJ. The biology of impulsivity and suicidality. *Psychiatr Clin North Am*. 2000; 23(1):11-25.
25. Kamalli M, Oquendo MA, Mann JJ. Understanding the neurobiology of suicidal behavior. *Depress Anxiety*. 2001; 14(3):164-76.
26. Bondy B, Buettner A, Zill P. Genetics of suicide. *Mol Psychiatry*. 2006; 11(4):336-51.
27. Beskow J, Gottfries CG, Roos BE, Winblad B. Determination of monoamine and monoamine metabolites in the human brain: post mortem studies in a group of suicides and in a control group. *Acta Psychiatr Scand*. 1976; 53:7-20.
28. Arango V, Ernsberger P, Marzuk PM, Chen J-S, Tierney H, Stanley M *et al*. Quantitative autoradiography of  $\alpha$ 1- and  $\alpha$ 2-adrenergic receptors in the cerebral cortex of controls and suicide victims. *Brain Res*. 1993; 630:271-82.
29. Ordway GA, Widdowson PS, Smith KS, Halaris A. Agonist binding to alpha 2-adrenoceptors is elevated in the locus coeruleus from victims of suicide. *J Neurochem*. 1994; 63:617-24.
30. Biegon A, Fieldust S. Reduced tyrosine hydroxylase immunoreactivity in locus coeruleus of suicide victims. *Synapse*. 1992; 10(1):79-82.
31. Weiss JM. Depression and anxiety: role of the locus coeruleus and corticotropin-releasing factor. *Brain Res Bull*. 1994; 35:561-72.
32. Glowinski AL, Bucholz KK, Nelson EC, Fu Q, Madden PA, Reich W *et al*. Suicide attempt in an adolescent female twin sample. *J Am Child Adolesc Psychiatry*. 2001; 40:1300-7.
33. Underwood MD, Mann JJ, Arango V. Serotonergic and noradrenergic neurobiology of alcoholic suicide. *Alcohol Clin Exp Res*. 2004; 28(5):57S-69S.
34. Joiner Jr TE, Brown JE, Wingate LR. The psychology and neurobiology of suicidal behavior. *Ann Rev Psychology*. 2005; 56:287-314.

35. Prigerson HG, Desai RA, Lui-Mares W, Roseheck RA. Suicidal ideation and suicidal attempts in homeless mentally ill persons. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2003; 38:213-9.
36. Papakostas GI, Petersen T, Pava J, Masson E, Worthington JJ *et al.* Hopelessness and suicidal ideation in outpatients with treatment-resistant depression: prevalence and impact on treatment outcome. *J Nerv Ment Dis.* 2003; 191:444-9.
37. Bertolote JM, Fleischmann A, De Leo D, Wasserman D. Suicide and mental disorders: do we know enough? *Br J Psychiatry.* 2003; 183:382-83.
38. Khan A, Leventhal RM, Khan S, Brown WA. Suicide risk in patients with anxiety disorders: a meta-analysis of the FDA database. *J Affect Disord.* 2002; 68:183-90.
39. Beck AT, Weissman A, Lester D, Trexler L. The measurement of pessimism: the Hopelensess Scale. *J Consult Clin Psychol.* 1974; 42:861-65.
40. Lesch KP. Gene-environment interaction and the genetics of depression. *J Psychiatry Neurosci.* 2004; 29(3):174-84.
41. Moldin SO, Reich T, Rice JP. Current perspectives on the genetics of unipolar depression. *Behav Genet.* 1991; 21:211-42.
42. Tsuang MT, Faraone SV, Green RR. Genetic epidemiology of mood disorders. In: Papolos DF, Lachman HM, editors. *Genetic Studies in Affective Disorders.* New York: Wiley; 1994.
43. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG *et al.* Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA.* 1996; 276:293-9.
44. Bierut LJ, Heath AC, Bucholz KK, Dinwiddie SH, Madden PAF, Statham DJ, *et al.* Major depressive disorder in a community-based twin sample. Are there different genetic and environmental contributions for men and women? *Arch Gen Psychiatry.* 1999; 56:557-63.
45. Sullivan PF, Nela MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: Review and meta-analysis. *Am J Psychiatry.* 2000; 157:1552-62.
46. Kendler KS, Prescott CA. A population-based twin study of lifetime major depression in men and women. *Arch Gen Psychiatry.* 1999; 56:39-44.
47. Marazita ML, Neiswanger K, Cooper M, Zubenko GS, Giles DE, Frank E *et al.* Genetic segregation analysis of early-onset recurrent unipolar depression. *Am J Hum Genetics.* 1997; 61:1370-78.
48. Kendler KS, Gardner CO, Prescott CA. Toward a comprehensive developmental model for a major depression in women. *Am J Psychiatry.* 2002; 159:1133-45.
49. De Parmentier, F; Mauger, JM; Lowther S; Crompton, MR; Katona, CL; Horton, RW. Brain alpha-adrenoceptors in depressed suicides. *Brain Res.* 1997; 757:60-8.
50. Haffen E, Sechter D. The neurobiology of depression. *Rev Prat.* 1999; 49(7):707-12).

51. Kalia M. Neurobiological basis of depression: an update. *Metabolism*. 2005; 54(5):24-7.
52. Brunello N, Mendlewicz Z, Kasper S, Leonard B, Montgomery S, Nelson J *et al.* The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2002; 12(5):461-75.
53. Ressler KJ, Nemeroff CB. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry*. 1999; 46:1219-33.
54. Sapolski RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatry disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000; 57:925-35.
55. Sonino N, Fava GA. Psychosomatic aspects of Cushing's disease. *Psychother Psychosom*. 1998; 67:140-6.
56. Starkman MN, Giordani B, Gebarski SS, Berent S, Schork MA, Scheingart DE. Decrease in cortisol reverses human hippocampal atrophy following treatment of Cushing's disease. *Biol Psychiatry*. 1999; 46 (12): 1595-602.
57. Roy A, Rylander G, Sarchiapone M. Genetics of suicides. Family studies and molecular genetics. *Ann N Y Acad Sci*. 1997; 836: 135-57.
58. Brent DA, Mann JJ. Family genetic studies, suicide and suicidal behavior. *Am J Med Genet C Semin Med Genetics*. 2005; 133C:13-24.
59. James JW. Frequency in relatives for an all-or-none trait. *Ann Hum Genet*. 1971; 35:47-9.
60. Risch N. Assessing the role of HLA-linked and unlinked determinants of disease. *Am J Hum Genet*. 1987 40:1-14.
61. Klerman GL, Weissman MM. Increasing rates of depression. *JAMA*. 1989; 261(15):2229-2235.
62. Mann JJ. Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropsychopharmacology*. 1999; 25:99S-105S.
63. Schlicker E, Göthert M. Interactions between presynaptic alpha<sub>2</sub>-autoreceptor and presynaptic inhibitory heteroreceptors on noradrenergic neurons. *Brain Res Bull*, 1998; 47:129-32.
64. Callado L, Meana JJ, Grijalba B, Pazos A, Sastre M, García-Sevilla JA. Selective increase of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor agonist binding sites in brains of depressed suicide victims. *J Neurochem*, 1998; 70:1114-23.
65. García-Sevilla JA, Escribá PV, Ozaita A, La Harpe R, Walzer C, Eytan A *et al.* Up-regulation of immunolabeled  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors, Gi coupling proteins and regulatory receptor kinases in the prefrontal cortex of depressed suicides. *J Neurochem*. 1999; 72:282-91.
66. Mendelson SD. The current status of the platelet 5-HT<sub>2A</sub> receptor in depression. *J Affect Disord*. 2000; 57:13-24.

67. Escribá PV, Ozaita A, García-Sevilla JA. Increased mRNA expression of  $\alpha$ 2A-Adrenoceptors, Serotonin Receptors and  $\mu$ -Opioid Receptors in the Brains of Suicide Victims. *Neuropsychopharmacol*, 2004; 29(8):1512-21.
68. Estebán S, Llado J, García-Sevilla JA.  $\alpha$ 2-autoreceptors and  $\alpha$ 2-heteroreceptors modulating tyrosine and tryptophan hydroxylase activity in the rat brain in vivo: an investigation into the  $\alpha$ 2-adrenoceptor subtypes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1996; 353:391-399.
69. Invernizzi RW, Parini S, Sacchetti G, Fracasso C, Caccia S, Annoni K *et al*. Chronic treatment with reboxetine by osmotic pumps facilitates its effect in extracellular noradrenaline and may desensitize  $\alpha$ 2-adrenoceptors in the prefrontal cortex. *Br J Pharmacol*. 2001; 132:183-8.
70. Sequeira A, Mamdani F, Lalovic A, Anguelova M, Lesage A, Seguin M *et al*. Alpha 2A adrenergic receptor gene and suicide. *Psychiatry Res*. 2004; 125(2):87-93.
71. Feng J, Sobell JL, Heston LL, Goldman D, Cook Jr E, Kranzler HR *et al*. Variants in the alpha2A-adrenergic receptor gene in psychiatric patients. *Am J Med Genet*. 1998; 81: 401-405.
72. Small KM, Forbes SL, Brown KM, Liggett SB. An asn to lys polymorphism in the third intracellular loop of the human alpha 2a-adrenergic receptor imparts enhanced agonist-promoted Gi coupling. *J Biol Chem*. 2000; 275:38518-23.
73. Comings DE, Johnson JP, Gonzalez NS, Huss M, Saucier G, McGue M *et al*. Association between alpha 2A receptor gene (ADRA2A) and measures of irritability, hostility, impulsivity and memory in normal subjects. *Psychiatr Genet*. 2000; 10(1):39-42.
74. Belfer I, Buzas B, Hipp H, Phillips G, Taubman J, Lorincz I *et al*. Haplotype-based analysis of alpha 2A, 2B and 2C adrenergic receptor genes captures information on common functional loci at each gene. *J Hum Genet*. 2005; 50(1):12-20.
75. MacDonald E, Kobilka BK, Scheinin M. Gene targeting-homing in on alpha 2-adrenoceptor-subtype function. *Trends Pharmacol Sci*. 1997; 18:211-9.
76. García-Sevilla JA, Escribá PV, Ozaita A, La Harpe R, Walzer C, Eytan A *et al*. Up-regulation of immunolabeled  $\alpha$ 2A-adrenoceptors, Gi coupling proteins and regulatory receptor kinases in the prefrontal cortex of depressed suicides. *J Neurochem*, 1999; 72:282-91.
77. Small KM, Liggett SB. Identification and functional characterization of alpha(2)-adrenoceptor polymorphisms. *Trends Pharmacol*. 2001; 22:471-7.
78. Möller S, Vilo J, Cronign MDR. Prediction of the coupling of G protein coupled receptors to their G proteins. *Bioinformatics*. 2001; 17(1):S174-81.
79. Simon MI, Strathmann MP, Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science*. 1991;252:802-8.
80. Marinissen MJ, Gutkind JS. G-Protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends Pharmacol Sci*. 2001;22:368-76.

81. Luján R. Bases moleculares de la señalización neuronal. *Ciencia al Dia Internacional* (periódico na internet). 2004 (acesso em 2006). 19 p. Disponível em: [www.sunsite.dcc.uchile.cl/ciencia/CienciaAIDia/volumen5/numero2/articulos/articulos5.html](http://www.sunsite.dcc.uchile.cl/ciencia/CienciaAIDia/volumen5/numero2/articulos/articulos5.html)
82. Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. mRNA and protein expression of selective alpha subunits of G proteins are abnormal in prefrontal cortex of suicide victims. *Neuropsychopharmacology*, 2002; 27(4):499-517.
83. González-Maeso J, Rodríguez-Puertas R, Meana JJ, García-Sevilla JA, Guimón J. Neurotransmitter receptor-mediated activation of G-proteins in brains of suicide victim with mood disorders: selective supersensitivity of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors. *Mol Psychiatry*. 2002; 7:755-67.
84. García-Sevilla JA, Guimón J, García-Vallejo P, Fuster MJ. Biochemical and functional evidence of supersensitive platelet  $\alpha_2$ -adrenoceptors in major affective disorder: effect of long-term lithium carbonate treatment. *Arch Gen Psychiatry*, 1986; 43:51-7.
85. Cowburn RF, Marcusson JO, Eriksson A, Wiehager B, O'Neill C. Adenyl cyclase activity and G-protein subunit levels in postmortem frontal cortex of suicide victims. *Brain Res*. 1994; 633:297-304.
86. Lowter S, Crompton RM, Katona CLE, Horton RW. GTP $\gamma$ S and forskolin-stimulated adenyl cyclase activity in post-mortem brain from depressed suicides and controls. *Mol Psychiatry*. 1996; 1:470-7.
87. Pereira MLS, Leistner S, Matte U. Protocolos laboratoriais de análise molecular para investigação de doenças genéticas. *Revista do HCPA*. 2001; 21(3):321-8.
88. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nuclei Acids Res*. 1989; 17(7):2503-16.
89. Hoifodt TS, Talseth AG. Dealing with suicidal patients – a challenging task: a qualitative study of young physicians' experiences. *BMC Med Educ*. 2006; 6:44.
90. Raue PJ, Brown EL, Meyers BS, Schulberg HC, Mruce ML. Does every allusion to possible suicide require the same response? *J Fam Pract*. 2006; 55(7): 605-12.
91. Meleiro AMAS, Fensterseifer L, Werlang BS. Esforços para prevenção. In: Werlang BG, Botega NJ, editores. *Comportamento suicida*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 141-152.
92. Bertolote JM, Fleischmann A. Suicídio e doença mental: uma perspectiva global. In: Werlang BG, Botega NJ, editores. *Comportamento suicida*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 35-44.

**VII. ARTIGO (Versão em inglês)**

**N251K polymorphism in the  $\alpha_{2a}$ -adrenoceptor gene and suicide attempt**

Luciane Cauduro Lima, Biochemist <sup>a</sup>

Jair Segal, Psychiatrist <sup>b</sup>

Rafael Rebelo e Silva, student <sup>c</sup>

Clarissa Pujol, Biologist <sup>d</sup>

Sandra Leistner-Segal, Biologist <sup>e\*</sup>

<sup>a</sup> Biochemist, student of Post Graduation Program in Medicine: Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul.

<sup>b</sup> Psychiatrist, Psychiatric physician of Hospital de Pronto Socorro of Porto Alegre, master degree in Psychiatry, Federal University of Rio Grande do Sul.

<sup>c</sup> Graduate Student of Biological Sciences of Pontificia Universidade Católica of Rio Grande do Sul

<sup>d</sup> .Biologist, student of Post Graduation Program in Medicine: Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul.

<sup>e</sup> Biologist of Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas of Porto Alegre, Professor of the Post Graduation Program in Medicine: Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul.

\* Corresponding author: Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 21018011; fax: +55 51 21018010. e-mail: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Word counts: 1621 words.

**Abstract:**

**Objectives:** To determine the frequency of N251K polymorphism in depressed patients who attempted suicide and compare with the frequency found in a control sample.

**Methods:** Genomic DNA from 123 patients and 197 controls was analyzed. The analyses were performed by allele-specific PCR technique.

**Results:** There were no patients carrying the K allele in our sample, but two controls were heterozygous for the polymorphism. The results of frequency for the control sample (0.5%) were similar to that found in the literature, except for the African American population.

**Conclusion:** The data obtained show that the N251K polymorphism in the  $\alpha_2$ -adrenoceptor is not related with attempted suicide in our sample. The investigated polymorphism in the present study represents just a small alteration within the whole gene, our negative results do not exclude the influence of other polymorphisms or genes related to the norepinephrine metabolism and vulnerability to suicide attempts in depressed patients.

**Clinical Implications**

- Genetic factors could help clinician to predict the risk of suicide attempt.
- The knowledge of new polymorphisms and genes can help in adequation of therapy for depressed patients.
- Determination of K allele frequency in a South Brazilian sample.

**Limitations**

- The polymorphism has low frequency.
- The sample of the study is limited.
- Our sample is unique, as our population is very admixed.

**Key-words:** depression, suicide,  $\alpha_{2a}$ -adrenoceptor, polymorphism, N251K

**Word counts:** 219 words.



## Introduction

Depression is a common clinical condition, disabling and often difficult to be treated (1). The major depressive disorder, in addition to alcoholic dependence, infant physical abuse, social phobia, conduct disorder and African ethnicity is one of the factors more associated to suicide attempt (2,3). Data from literature show that both depression and genetic factors could contribute to suicidal behavior and suicide attempt.

The risk of suicide in a depressed patient is estimated in 2.2% (4). In a study of cases performed by Bertolote *et al.* (5), 53% of the patients who had committed suicide had been diagnosed with depression. It was suggested that depressed patients have a risk of committing suicide 60-70% higher than the general population (6).

The participation of determined polymorphism can support or provide higher vulnerability to some patients, when submitted to specific conditions of stress. We know that some patients who attempted suicide have familiar history of suicide and attempts. As the molecular basis of depression and suicide are not completely understood, many studies are been accomplished for the understanding of these conditions.

Despite of limited knowledge about suicide neurobiology, evidences prove that there are 3 neurobiological systems involved in the pathophysiology of suicidal behavior: hyperactivity of hypothalamic-hypophyses-adrenal axis, disfunction of serotonergic system and excessive activity of noradrenergic system (7,8,9).

Altered levels of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors observed in suicides could be a consequence of genetic variation in the gene of this receptor, leading to an increased predisposition to suicidal behavior (10). Different genetic variants in the gene of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor have been identified by Feng *et al.* (11). One of them, the N251K polymorphism, located at nucleotide 753, causes a functional alteration in the receptor (12).

The subtype  $\alpha_{2A}$  is found predominant in the central nervous system. The gene that encodes the  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor is located in chromosome 10, between q24 and q26 regions, has 3.7 Kb and with no introns (12).

We studied the presence of N251K polymorphism in patients who attempted suicide and compared with a control population, with the objective of determining its frequency in both groups studied and to compare the data obtained with previously reported data.

## Methods

We studied 123 patients older than 18 years (mean age 35 years) admitted to an Emergency Hospital due to serious suicide attempt. Diagnostic assessment of these patients was made by clinical psychiatric interview and Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) for adults. Patients who did not fulfill diagnostic criteria for major depressive disorder were excluded from the sample. The Beck's Suicidal Intention Scale (SIS) was used for the patients, including 15 items, each scored 0 to 2 (13).

Suicide attempts were classified as violent (65) and non-violent (56) according to Asberg *et al.* (14) criteria. Injuries by cutting (n=08), piercing objects (n=06), gunfire (n=10), poisoning by chemicals (n=15), burns (n=14), hanging (n=03), fall from heights (n=06) and car hit (n=03) were considered violent attempts, while all non-violent attempts were due to drug intoxications (15).

The patients were invited to participate and informed about the objectives of the study, risks and benefits for them and their families. All the patients read and signed the informed consent term.

The anonymous controls used were collected from 197 blood donor volunteers of the Hospital de Clínicas of Porto Alegre. This sample represented the prevalence of N251K polymorphism in a healthy blood donor group of Porto Alegre.

The present study was approved by the research ethics committee of the Hospital de Clínicas of Porto Alegre, as well as National Council of Research Ethics (CONEP).

The genomic DNA was isolated from 5mL of whole blood collected from peripheral venous puncture, according to the salt precipitating method described by Miller *et al.* (16). The isolated DNA was conserved in a Tris-EDTA 0.1M (10mM Tris-HCl pH 7.5 and 1mM EDTA pH 8.0) solution and stored at -20°C, in a DNA bank numbered and identified for the patients and unidentified for controls.

The amplification of the  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor gene, where the polymorphism is located, was performed by the Polymerase Chain Reaction (PCR), according to the technique used by Sequeira *et al.* (2004). We performed allele-specific PCR, using one forward primer (5' GCCGCGCTGCGAGATCAACGA 3') and two reverse primers (5' TGCGCTCGGGGCCAGACCG 3' - N allele and 5' TGCGCTCGGGGCCAGACCC 3' - K allele). For each reaction tube was used: 100ng of DNA, Buffer 1X (200mM Tris-HCl - pH 8.4 and 500mM KCl) (Invitrogen); 1.5mM MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen); 0.2 mM DNTP (Sigma); 2 $\mu$ L of Q Solution (Qiagen); 0.5U of Taq DNA (Invitrogen) and 10pmol of forward primer and 10pmol of one of the reverse primer, in a total volume of 10 $\mu$ L. Each PCR reaction consisted of an initial denaturation at 94°C for 5 min, followed by 40 cycles of 30 sec of denaturation at 94°C, 30 sec of annealing at 65°C and 30 sec of extension at 72°C. A final extension step was performed for 5 min at 72°C.

For each sample, two PCR reactions were performed, one with each reverse primer. PCR products (220bp) were visualized in a 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide, to check for the presence of the K or N allele (Figure 1).

The statistical analysis was restricted to the calculation of allele and genotype frequencies found in patients and controls and compared with literature data. Medcalc v. 9.2.0.1 statistical program was used for statistical analysis. The Fisher's exact test was used to calculate allele frequency and chi-square to calculate genotype frequency.

## Results

The total sample was composed by 320 individuals, 197 controls and 123 patients who attempted suicide, diagnosed with major depressive disorder according to DSM-IV.

Social-demographic and cultural data were presented in a previous study from our group (15). We found a higher frequency of suicide attempts in married Caucasian males with lower school level (elementary school) and presenting alcohol abuse as commorbidity. In the same paper, alcohol abuse concomitantly to the suicidal act was encountered more often in patients with violent suicide compared to those who attempted suicide by non-violent means.

In the majority of the cases, violent attempts were made by men while non-violent were performed by most women. These data are in accordance with several studies reported worldwide.

As shown in table 1, there were no patients carrying the N251K polymorphism in our sample. In the control sample, two donors were heterozygous for the polymorphism.

## Discussion

In the study presented by Sequeira *et al.* (10), 96 patients and 124 controls were analyzed. This group found a N251K frequency of 3% for patients and 0% for controls. Comparing the allele frequency obtained by Sequeira *et al.* (10) with data found in the present study, we observed a statistically significant difference for patients ( $P = 0.016$ ). For controls, the results are not statistically significant ( $P = 0.5251$ ).

In 2005, Martín-Guerrero *et al.* (17) published a study about N251K polymorphism in suicide brains and they do not found any relation between K allele and suicide. The study was performed in a sample of 214 brains and 176 controls and no carrier was observed. In relation to our data, there is no statistical difference ( $P = 0.5$ ).

Our results, as well as Martín-Guerrero's (17) did not indicate relation among K allele and suicide attempt, but we found a N251K frequency of 0.5% for controls. Despite of not having information about ethnicity of controls, these data are similar to that presented in the literature for Caucasians, whose K allele frequency is 0.4%. Comparing with data for African Americans, with frequency of 5% for K allele (12), there is a statistically significant difference ( $P = 0.0005$ ), showing that the frequency in African Americans is higher than our studied control population.

As the frequency of the polymorphism is too low, we could not demonstrate the difference among patients and controls. When comparing to literature data, significant differences were observed in relation to the Canadian patients sample and controls of African American ethnicity.

There are no available data regarding the K allele frequency in our country, nevertheless, frequencies can be different depending on the region studied, due to different colonization and the admixture it caused within Brazil. The data available in the literature show that N251K frequency in African Americans is 5%, compared with 0,4% in Caucasians (12). Because the African influence in the south region of Brazil is lower than other areas, this could explain the absence of the K allele frequency in our sample.

The N251K polymorphism is a functional amino acid substitution that confers significantly increased agonist-promoted binding to  $G_i$ , leading to greater inhibition of adenyl cyclase, activation of MAP kinase signaling and stimulation of inositol phosphate accumulation (12), resulting in a gain of function of the receptor. These findings have been mentioned in brain of depression and suicide victims (18). The polymorphism investigated in the present study represents an alteration within the whole gene; other not investigated polymorphisms could be involved in suicide attempt. Our negative results do not exclude the influence of other polymorphisms or related genes involved in the norepinephrine metabolism.

Due to the alteration caused by N251K polymorphism, some studies suggest its importance in depression predisposition (10,12,20,21,22). However, this polymorphism has a very low frequency to support this hypothesis. The absence of N251K functional polymorphism in depressed patients and/or suicide suggests that other factors that could affect the  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor function should be evaluated.

## Conclusions

There was no evidence of association between N251K polymorphism and suicide attempt in our sample population. The K allele frequency found in the control sample is similar to that referred in the literature, when compared to other populations already studied, except for African Americans. Such studies need to be replicated in other populations and with a larger number of participants, for a better comprehension regarding the roles of norepinephrine system and the genes involved in suicide behaviour.



#### Financial support and acknowledgements

This study was supported by Fundação de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

We thank to Medical Genetics Service of Hospital de Clínicas of Porto Alegre for the opportunity of accomplishment of the study. We also thank Adolfo Sequeira and Gustavo Turecki, who supplied primers and Q solution for the PCR performance.

## References

1. Holtzeimer PE, Nemeroff CB. Future prospects in depression research. *Dialogues Clin Neurosc.* 2006; 8(2):175-89.
2. Glowinski AL, Bucholz KK, Nelson EC et al. Suicide attempt in an adolescent female twin sample. *J Am Child Adolesc Psychiatry.* 2001; 40:1300-1307.
3. Underwood MD, Mann JJ, Arango V (2004) Serotonergic and noradrenergic neurobiology of alcoholic suicide. *Alcohol Clinl Exp Res.* 2006; 28(5):57S-69S.
4. Papakostas GI, Petersen T, Pava J, Masson E, Worthington JJ *et al.* Hopelessness and suicidal ideation in outpatients with treatment-resistant depression: prevalence and impact on treatment outcome. *J Nerv Ment Dis.* 2003; 191:444-9.
5. Bertolote JM, Fleischmann A, De Leo D et al. Suicide and mental disorders: do we know enough? *Br J Psychiatry.* 2003; 183:382-383.
6. Khan A, Leventhal RM, Khan S, Brown WA. Suicide risk in patients with anxiety disorders: a meta-analysis of the FDA database. *J Affect Disord.* 2002; 68:183-190.
7. Oquendo MA, Mann JJ. The biology of impulsivity and suicidality. *Psychiatr Clin North Am.* 2000; 23(1):11-25.
8. Kamalli M, Oquendo MA, Mann JJ. Understanding the neurobiology of suicidal behavior. *Depression and Anxiety.* 2001; 4:164-76.
9. van Heeringen K. The neurobiology of suicide and suicidality. *Can J Psychiatry.* 2003; 48(5):289-291.
10. Sequeira A, Mamdani F, Lalovic A, Anguelova M, Lesage A, Seguin M *et al.* Alpha 2A adrenergic receptor gene and suicide. *J Psychiatric Res.* 2004; 125, 87-93.
11. Feng J, Sobell JL, Heston LL et al. Variants in the alpha2A-adrenergic receptor gene in psychiatric patients. *Am J Med Genetic.* 1998; 81:401-405.
12. Small KM, Forbes SL, Brown KM, Liggett SB. An asn to lys polymorphism in the third intracellular loop of the human alpha 2a-adrenergic receptor imparts enhanced agonist-promoted Gi coupling. *J Biol Chem.* 2000; 275:38518-23.
13. Beck AT. Assessment of depression: the depression inventory. Psychological measurement in Psychopharmacology. *Med Probl Pharmacol Psychiatry,* 1974; 7:151-169.
14. Asberg M, Traskman L, Thoren P. 1976. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry,* 1976; 33, 1193-1197.
15. Segal J, Pujol C, Birck A, Manfro G, Leistner-Segal S. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism. *Psychiatry Res.* 2006; 143(2-3):289-91.

16. Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3):1215.
17. Martín-Guerrero I, Callado LF, Saiutua K, Rivero G, García-Orad A, Meana JJ. The N251K functional polymorphism in the  $\alpha_2A$ -adrenoceptor gene is not associated with depression: a study in suicide completers. *Psychopharmacology.* 2006; 184(1):82-6.
18. Callado L, Meana JJ, Grijalba B et al. Selective increase of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor agonist binding sites in brains of depressed suicide victims. *J Neurochem.* 1998; 70:1114-1123.
19. Small KM, McGraw DW, Liggett SB. Pharmacology and physiology of human adrenergic receptor polymorphisms. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003; 43:381-411.
20. Escribá PV, Ozaita A, García-Sevilla JA. Increased mRNA expression of  $\alpha_2A$ -Adrenoceptors, Serotonin Receptors and  $\mu$ -Opioid Receptors in the Brains of Suicide Victims. *Neuropsychopharmacol.* 2004; 29(8):1512-21.
21. García-Sevilla JA, Guimón J, García-Vallejo P, Fuster MJ. Biochemical and functional evidence of supersensitive platelet  $\alpha_2$ -adrenoceptors in major affective disorder: effect of long-term lithium carbonate treatment. *Arch Gen Psychiatry.* 1986; 43:51-7.
22. González-Maeso J, Rodríguez-Puertas R, Meana JJ, García-Sevilla JA, Guimón J. Neurotransmitter receptor-mediated activation of G-proteins in brains of suicide victim with mood disorders: selective supersensitivity of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors. *Mol Psychiatry.* 2002; 7:755-67.

## Figure

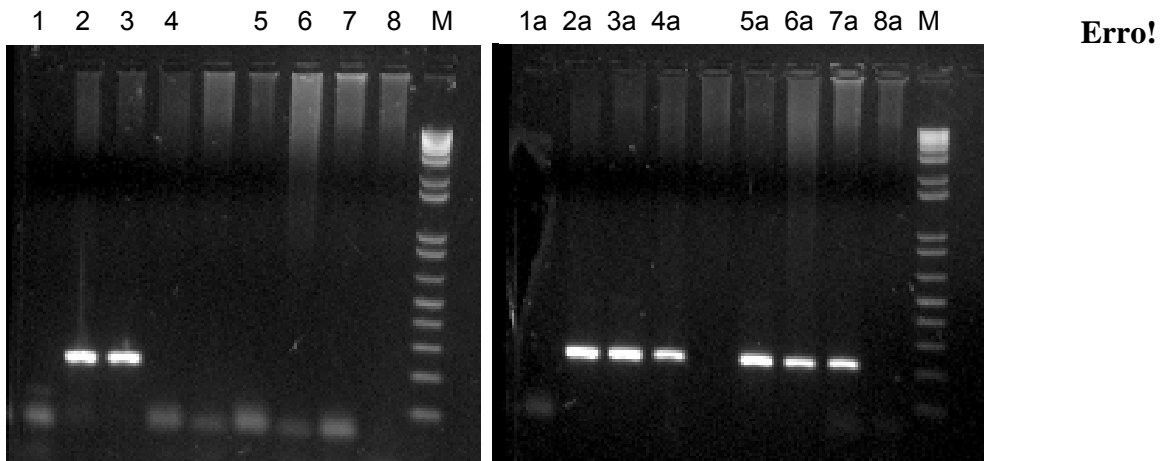


Figure 1: 1.5% agarose gel. Left panel: forward primer + reverse primer (K allele); right panel: forward primer + reverse primer (N allele). Lines 1 and 1a are negative controls (blank) for each PCR reaction; lines 2, 2a, 3, 3a, NK heterozygous controls, lines 4, 4a, 5, 5a, 6, 6a, 7, 7a, 8, 8a, NN homozygous patients; M, 1Kb plus DNA ladder.

**Table**

Table 1: Allele and genotype frequency in patients and controls

	Patients	Controls	
<b>Allele</b>			
N	246 (1)	392 (0.995)	
K	0 (0)	2 (0.005)	$P = 0.526$
<b>Genotype</b>			
NN	123 (1)	195 (0.99)	
NK	0 (0)	2 (0.01)	$\chi^2 = 0.154$
KK	0 (0)	0 (0)	$P = 0.6951$
IC 95%			

**VIII. ARTIGO (Versão em português)**

**Polimorfismo N251K no gene do receptor  $\alpha_{2a}$ -adrenérgico e tentativa de suicídio**

Luciane Cauduro Lima, Farmacêutica-Bioquímica <sup>a</sup>

Jair Segal, Médico psiquiatra <sup>b</sup>

Rafael Rebelo e Silva, estudante <sup>c</sup>

Clarissa Pujol, Bióloga <sup>d</sup>

Sandra Leistner-Segal, Bióloga <sup>e\*</sup>

<sup>a</sup> Farmacêutica-Bioquímica, aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>b</sup> Psiquiatra, médico psiquiatra do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, mestre em Psiquiatria pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>c</sup> Estudante de graduação do curso de Ciências Biológicas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

<sup>d</sup> Bióloga, aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

<sup>e</sup> Bióloga do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, professora do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

\* Autor para correspondência: Rua Ramiro Barcelos, 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 21018011; fax: +55 51 21018010. e-mail: [ssegal@hcpa.ufrgs.br](mailto:ssegal@hcpa.ufrgs.br)

Contagem de palavras: 1621 palavras.

**Resumo:**

**Objetivos:** Determinar a frequência do polimorfismo N251K gene do receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico em uma amostra de 123 pacientes que tentaram o suicídio e comparar com a frequência de uma amostra controle.

**Métodos:** Foram analisadas amostras de DNA genômico de 123 pacientes e 197 controles. As análises foram realizadas através da técnica de PCR alelo específico.

**Resultados:** Não encontramos nenhum paciente portador do alelo K na amostra, mas encontramos dois controles heterozigotos para o polimorfismo. O resultado de frequência para a amostra controle (0,5%) foi semelhante àqueles encontrados na literatura, exceto quando comparado à população americana de origem africana.

**Conclusão:** Os dados obtidos demonstram que o polimorfismo N251K no gene do receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico não está relacionado à tentativa de suicídio. O polimorfismo investigado representa apenas uma parte de todo o gene, nosso resultado negativo não exclui a relação de outros polimorfismos ou genes relacionados ao metabolismo da noradrenalina e vulnerabilidade à tentativa de suicídio em pacientes deprimidos.

**Implicações clínicas**

- Fatores genéticos poderiam ajudar o medico assistente a predizer o risco de tentative de suicídio.
- A descoberta de novos polimorfismos e genes pode ajudar na adequação de tratamento para pacientes com depressão.
- Determinação da frequência do alelo K numa amostra do sul de Brasil.

**Limitações**

- O polimorfismo possui uma baixa frequência.
- A amostra do nosso estudo foi limitada.
- Nossa amostra é única, já que nossa população é muito miscigenada..

**Palavras-chave:** depressão, suicídio, receptor  $\alpha_{2a}$ -adrenérgico, polimorfismo, N251K

**Contagem de palavras:** 219 palavras.



## Introdução

A depressão é uma condição clínica comum, desabilitante e normalmente difícil de ser tratada (1). O transtorno depressivo maior, juntamente com dependência etílica, abuso físico na infância, fobia social, desordem de conduta e etnia africana, é um dos fatores mais associados à tentativa de suicídio (2,3). Dados da literatura demonstram que tanto a depressão quanto fatores genéticos podem ser fatores desencadeantes ou contribuintes para o comportamento suicida e a tentativa de suicídio.

O risco de suicídio em pacientes com depressão é estimado em 2,2% (4). Em um estudo de casos feito por Bertolote e cols. (5), foi reportado que 53% dos pacientes que haviam cometido suicídio teriam sido diagnosticados com depressão. Foi sugerido que pacientes com depressão teriam um risco de cometer suicídio de 60% a 70% maior que a população em geral (6).

A participação de determinado polimorfismo pode favorecer ou fornecer uma vulnerabilidade maior a determinados indivíduos, quando submetidos a condições específicas de estresse, os quais podem tentar o suicídio. Sabe-se que muitos pacientes que tentaram o suicídio têm histórico familiar de suicídio e de tentativas por familiares. Como as bases moleculares da depressão e do suicídio não estão completamente entendidas, diversos estudos estão sendo realizados para que estas condições sejam melhores entendidas.

Apesar do conhecimento sobre a neurobiologia do suicídio ainda ser limitada, evidências comprovam que existem 3 sistemas neurobiológicos envolvidos na patofisiologia do comportamento suicida: hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, disfunção do sistema serotoninérgico e atividade excessiva do sistema noradrenérgico (7,8,9).

Os níveis alterados do receptor  $\alpha_{2A}$  observado em suicidas, pode ser conseqüência de uma variabilidade genética no gene deste receptor, ocasionando um aumento da predisposição ao comportamento suicida (10). Diversas variantes genéticas no gene do receptor  $\alpha_{2A}$  foram

identificadas por Feng e cols. (11). Uma delas, o polimorfismo N251K, localizado na base 753, leva a uma alteração funcional do receptor (12).

O subtipo  $\alpha_{2A}$  é predominantemente encontrado no sistema nervoso central. O gene que codifica o receptor  $\alpha_{2A}$  situa-se no cromossomo 10, entre as regiões q24 e q26. O gene não possui íntrons e tem 3,7 Kb de comprimento (12).

O objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a frequência do alelo K em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio comparados com uma amostra controle.

## Métodos

Participaram do estudo 123 pacientes deprimidos que tentaram o suicídio que internaram por tentativa de suicídio grave no Hospital de Pronto Socorro e que necessitavam cuidados médicos hospitalares em enfermaria de emergência ou unidade de tratamento intensivo devido ao risco de morte. A avaliação diagnóstica destes pacientes foi feita através de entrevista psiquiátrica clínica e por entrevista diagnóstica padronizada breve Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) para adultos. Esta amostra de pacientes tinha média de idade de 35 anos (18 a 65 anos). Foram excluídos da amostra os pacientes que não preencheram os critérios diagnósticos para depressão maior. A Escala de Intenção de Suicídio de Beck (SIS) foi aplicada nos pacientes. A versão final do SIS inclui 15 itens com escore variando de 0 a 2. Alguns itens não são incluídos no escore total (13). As tentativas de suicídio foram classificadas como violentas ou não-violentas de acordo com os critérios propostos por Asberg e cols. (14). As tentativas de suicídio violentas (n=65) ocorreram por ferimentos por armas de fogo (n=10), queimaduras (n=14), enforcamento (n=03), ferimentos por objetos cortantes (n=08) ou penetrantes (n=06), envenenamento por substâncias químicas (n=15), queda de altura (n=06) e atropelamento (n=03), enquanto que a intoxicação medicamentosa (n=56) foi considerada tentativa de suicídio não-violenta (15).

Os pacientes foram convidados a participar do estudo, informados dos objetivos, riscos e benefícios do mesmo para o paciente e seus familiares. Todos os pacientes leram e assinaram um termo de consentimento informado.

As amostras controle utilizadas no estudo foram provenientes de 197 doadores voluntários não identificados, do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Esta amostra representou a prevalência do polimorfismo N251K num grupo de doadores saudáveis de Porto Alegre.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, bem como pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Amostras de DNA genômico foram extraídas a partir de 5ml de sangue total coletado através de punção venosa periférica, conforme o método de precipitação de sais descrito por Miller e cols. (16). O DNA extraído foi conservado em uma solução de Tris-EDTA 0,1M (Tris-HCl 10mM pH 7,5 e EDTA 1mM pH 8,0) e armazenado em freezer, a uma temperatura de -20°C, em um banco de DNA numerado e identificado para os pacientes e num banco não identificado para os controles.

Seguiu-se com a amplificação do gene do receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico, onde se encontra o polimorfismo, pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), tendo como base a técnica de Sequeira e cols. (10). Foi feito um PCR alelo-específico, utilizando um *primer forward* (5' GCCGCGCTGCGAGATCAACGA 3') e dois *primers* reversos (5' TGCGCTCGGGGCCAGACCG 3' - alelo N e 5' TGCGCTCGGGGCCAGACCC 3' - alelo K). Na PCR foi utilizado em cada tubo: tampão Invitrogen 1X (200mM Tris-HCl - pH 8,4 e 500mM KCl); 1,5mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM DNTP Sigma; 2 $\mu$ L de Q Solution (Qiagen); 0,5U de Taq DNA polimerase Invitrogen e 10pmol do *primer forward* e 10pmol de um dos *primers* reverso, em um volume final de reação de 10 $\mu$ L. Cada reação de PCR consistia de uma desnaturação inicial de 94°C por 5 min, seguido de 40 ciclos de 30 seg de desnaturação a 94°C, 30 seg de anelamento

a 65°C e 30 seg de extensão a 72°C. Um passo de extensão final foi realizado por 5 min a 72°C.

Para cada amostra, eram realizadas duas reações de PCR, uma com cada *primer* reverso. O produto da PCR (220pb) foi checado em gel de agarose 1,5% para que fosse evidenciada a amplificação com um ou outro *primer* reverso (alelo K ou alelo N) (figura 1).

A análise estatística se restringiu ao cálculo da freqüência dos alelos e dos genótipos encontrados nos pacientes e nos controles utilizados e comparação com os dados da literatura. Foi utilizado o programa estatístico Medcalc v 9.2.0.1 para a análise estatística. A freqüência alélica foi analisada por teste exato de Fisher e a freqüência genotípica por qui-quadrado.

## Resultados

A amostra total constitui-se de 320 indivíduos, sendo 197 controles e 123 pacientes com depressão maior segundo DSM-IV que tentaram o suicídio.

Os dados sócio-demográficos e culturais da amostra já foram apresentados em um estudo anterior de nosso grupo (15) e serão discutidos adiante.

Conforme pode ser observado na tabela 1, não foram encontrados pacientes portadores do polimorfismo N251K em nossa amostra. Dentre a amostra controle, encontramos 2 doadores heterozigotos para o polimorfismo.

## Discussão

No estudo feito por Sequeira e cols. (10) em uma amostra da população canadense, foram analisados 96 pacientes suicidas e 124 controles. Este grupo encontrou uma frequência do polimorfismo N251K de 3% para os casos de suicídio e 0% para a amostra controle. Quando comparamos a frequência alélica obtida por Sequeira e cols. (10) com os dados encontrados no presente estudo, encontramos diferença estatisticamente significativas para o grupo de pacientes ( $P = 0,016$ ). Já para os controles, os resultados não são estatisticamente significativos ( $P = 0,5251$ ).

Em 2005, Martín-Guerrero e cols. (17) publicaram um estudo sobre a análise do polimorfismo N251K em cérebro de suicidas de origem espanhola e não evidenciaram correlação entre o alelo K e suicídio. Este estudo foi realizado numa amostra de 214 cérebros de suicidas e 176 controles e não foi encontrado nenhum portador do polimorfismo. Em relação aos dados obtidos, não existe diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,5$ ).

O resultado do nosso estudo, assim como Martín-Guerrero e cols. (17) não evidenciou relação entre o alelo K e a tentativa de suicídio, mas encontramos uma frequência do polimorfismo de 0,5% para a amostra controle. Apesar de não termos informações quanto a descendência étnica dos controles, estes dados condizem com dados que a literatura dispõe para caucasianos, onde a frequência do alelo K é 0,4%. Comparando com os dados para negros americanos, cuja frequência do alelo K é 5% (12), existe diferença significativa ( $P = 0,0005$ ), mostrando que a frequência em negros americanos é maior que a população controle estudada.

Como a frequência do polimorfismo é muito baixa, não pudemos comprovar a diferença entre casos e controles. As comparações quanto aos dados da literatura mostraram diferenças significativas dos resultados encontrados com relação a amostra de casos canadense e aos controles de origem negra.

Não existem dados na literatura quanto à frequência do alelo K, muito embora frequências encontradas em uma região do Brasil podem ser diferentes da frequência de outra região devido à diferença de misturas na população. Como a literatura relata que a frequência em negros é maior do que em caucasianos (12), em regiões onde existe maior número de descendentes negros o polimorfismo pode ser mais freqüente.

O polimorfismo N251K leva a uma alteração funcional do receptor, causando uma alteração no processo de acoplamento do neurotransmissor com a proteína-G, resultando em ganho de função do receptor (12). Este polimorfismo faz com que haja um aumento na inibição da adenil-ciclase e conseqüente aumento da atividade da proteína quinase. Estes achados têm sido frequentemente relatados em cérebro de vítimas de depressão e suicídio (18). Dados disponíveis na literatura demonstram que a frequência do polimorfismo N251K em negros americanos é de 5%, comparado com uma frequência de 0,4% em caucasianos (19).

O polimorfismo investigado em nosso artigo representa apenas uma parte de todo o gene, ainda há a possibilidade de que outros polimorfismos não investigados estejam envolvidos com a tentativa ao suicídio. Nosso resultado negativo não exclui a influência de outros polimorfismos ou genes relacionados com o metabolismo da noradrenalina.

Conforme trabalho anterior de nosso grupo, estudando o polimorfismo do gene transportador da serotonina (15) mostrou que na nossa amostra os homens de origem caucasiana, em sua maioria casados, com baixo nível de escolaridade tendem a cometer mais tentativas de suicídio e apresentam como comorbidade o abuso de bebidas alcólicas. O uso de bebidas alcólicas concomitantemente ao ato suicida esteve mais presente naqueles pacientes que realizaram tentativas violentas de suicídio comparadas aos que tentaram com métodos não - violentos. Na maioria dos casos, as tentativas violentas de suicídio foram feitas por homens enquanto as não-violentas foram realizadas pela maioria das mulheres. Estes dados estão em conformidade com diversos estudos da literatura.

Devido à alteração causada pelo polimorfismo N251K, muitos estudos sugerem sua importância na predisposição à depressão (10,12,20,21,22), Todavia, este polimorfismo tem uma frequência muito baixa para apoiar esta hipótese. A ausência deste polimorfismo funcional na depressão e/ou suicídio sugere que outros fatores que afetam o funcionamento do receptor  $\alpha_{2A}$ -adrenérgico deveriam ser avaliados.



## Conclusão

Não foi evidenciada relação entre o polimorfismo N251K e a tentativa de suicídio na amostra de pacientes analisada. A frequência do alelo K encontrada na amostra de controles é semelhante àquela relatada na literatura, quando comparada a outras populações já estudadas, exceto com negros americanos. Dessa forma, mais estudos necessitam ser replicados em outras populações e com um número maior de participantes para uma melhor compreensão do papel da via noradrenérgica e os genes envolvidos em tais situações que poderá nos auxiliar na prevenção deste evento que causa tanta morbidade e aumento da mortalidade.

## Financiamento e agradecimentos

Este estudo foi financiado pela Fundação de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Agradecemos ao Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela oportunidade de realização deste trabalho. Agradecemos também ao Adolfo Sequeira e Gustavo Turecki, pelo fornecimento dos *primers* e solução Q para a realização da técnica de PCR.

## Referências

1. Holtzeimer PE, Nemeroff CB. Future prospects in depression research. *Dialogues Clin Neurosc.* 2006;8(2):175-89.
2. Glowinski AL, Bucholz KK, Nelson EC et al. Suicide attempt in an adolescent female twin sample. *J Am Child Adolesc Psychiatry.* 2001;40:1300-1307.
3. Underwood MD, Mann JJ, Arango V (2004) Serotonergic and noradrenergic neurobiology of alcoholic suicide. *Alcohol Clinl Exp Res.* 2006;28(5):57S-69S.
4. Papakostas GI, Petersen T, Pava J, Masson E, Worthington JJ et al. Hopelessness and suicidal ideation in outpatients with treatment-resistant depression: prevalence and impact on treatment outcome. *J Nerv Ment Dis.* 2003; 191:444-9.
5. Bertolote JM, Fleischmann A, De Leo D et al. Suicide and mental disorders: do we know enough? *Br J Psychiatry.* 2003;183:382-383.
6. Khan A, Leventhal RM, Khan S, Brown WA. Suicide risk in patients with anxiety disorders: a meta-analysis of the FDA database. *J Affect Disord.* 2002;68:183-190.
7. Oquendo MA, Mann JJ. The biology of impulsivity and suicidality. *Psychiatr Clin North Am.* 2000; 23(1):11-25.
8. Kamalli M, Oquendo MA, Mann JJ. Understanding the neurobiology of suicidal behavior. *Depression and Anxiety.* 2001;4:164-76.
9. van Heeringen K. The neurobiology of suicide and suicidality. *Can J Psychiatry.* 2003; 48(5):289-291.
10. Sequeira A, Mamdani F, Lalovic A, Anguelova M, Lesage A, Seguin M et al. Alpha 2A adrenergic receptor gene and suicide. *J Psychiatric Res.* 2004; 125, 87-93.
11. Feng J, Sobell JL, Heston LL et al. Variants in the alpha2A-adrenergic receptor gene in psychiatric patients. *Am J Med Genetic.* 1998; 81:401-405.
12. Small KM, Forbes SL, Brown KM, Liggett SB. An asn to lys polymorphism in the third intracellular loop of the human alpha 2a-adrenergic receptor imparts enhanced agonist-promoted Gi coupling. *J Biol Chem.* 2000; 275:38518-23.
13. Beck AT. Assessment of depression: the depression inventory. *Psychological measurement in Psychopharmacology.* *Med Probl Pharmacol Psychiatry,* 1974; 7:151-169.
14. Asberg M, Traskman L, Thoren P. 1976. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Arch Gen Psychiatry,* 1976; 33, 1193-1197.
15. Segal J, Pujol C, Birck A, Manfro G, Leistner-Segal S. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism. *Psychiatry Res.* 2006; 143(2-3):289-91.

16. Miller AS, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215.
17. Martín-Guerrero I, Callado LF, Saiutua K, Rivero G, García-Orad A, Meana JJ. The N251K functional polymorphism in the  $\alpha_2A$ -adrenoceptor gene is not associated with depression: a study in suicide completers. *Psychopharmacology.* 2006;184(1):82-6.
18. Callado L, Meana JJ, Grijalba B et al. Selective increase of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptor agonist binding sites in brains of depressed suicide victims. *J Neurochem.* 1998;70:1114-1123.
19. Small KM, McGraw DW, Liggett SB. Pharmacology and physiology of human adrenergic receptor polymorphisms. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003; 43:381-411.
20. Escribá PV, Ozaita A, García-Sevilla JA. Increased mRNA expression of  $\alpha_2A$ -Adrenoceptors, Serotonin Receptors and  $\mu$ -Opioid Receptors in the Brains of Suicide Victims. *Neuropsychopharmacol.* 2004; 29(8):1512-21.
21. García-Sevilla JA, Guimón J, García-Vallejo P, Fuster MJ. Biochemical and functional evidence of supersensitive platelet  $\alpha_2$ -adrenoceptors in major affective disorder: effect of long-term lithium carbonate treatment. *Arch Gen Psychiatry.* 1986; 43:51-7.
22. González-Maeso J, Rodríguez-Puertas R, Meana JJ, García-Sevilla JA, Guimón J. Neurotransmitter receptor-mediated activation of G-proteins in brains of suicide victim with mood disorders: selective supersensitivity of  $\alpha_{2A}$ -adrenoceptors. *Mol Psychiatry.* 2002; 7:755-67.

## Figura

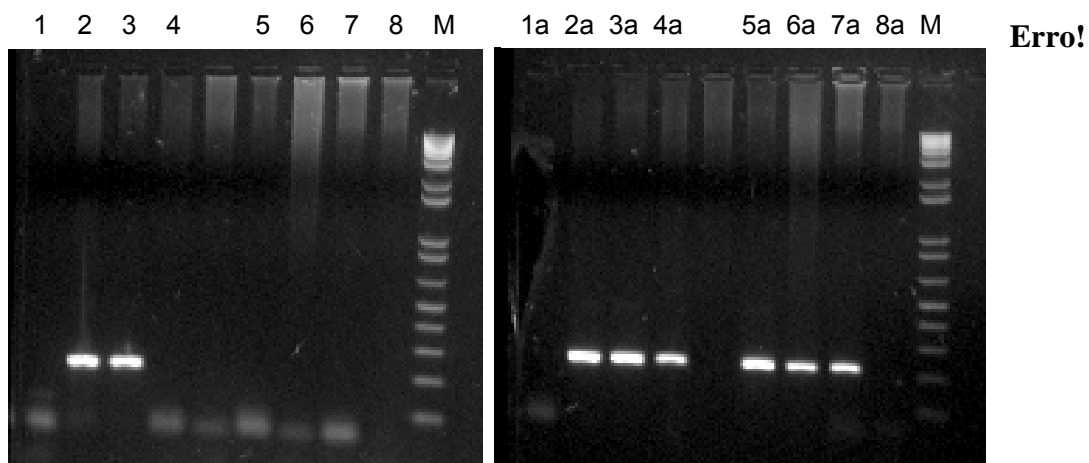


Figura 1: Gel de agarose 1,5%. Painel esquerdo: *primer forward* + *primer reverso* (alelo K); painel direito: *primer forward* + *primer reverso* (alelo N). Linhas 1 e 1a estão os controles negativos (branco) de cada reação; linhas 2, 2a, 3, 3a, controles heterozigotos NK, linhas 4, 4a, 5, 5a, 6, 6a, 7, 7a, 8, 8a, pacientes homozigotos NN; M, marcador de peso molecular 1Kb plus.

## Tabela

Tabela 1: Frequência alélica e genotípica em pacientes e controles

	Pacientes	Controles	
<b>Alelo</b>			
N	246 (1)	392 (0,995)	$P = 0,526$
K	0 (0)	2 (0,005)	
<b>Genótipo</b>			
NN	123 (1)	195 (0,99)	$\chi^2 = 0,154$ $P = 0,6951$
NK	0 (0)	2 (0,01)	
KK	0 (0)	0 (0)	
IC 95%			

## **IX. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

A depressão é um transtorno complexo e multifatorial, com importantes fatores genéticos e não-genéticos contribuindo para a condição. Novas hipóteses sobre mecanismos de susceptibilidade à depressão têm produzido novos genes candidatos. Também será possível estudar interações entre genes e ambiente pela condução de estudos moleculares em larga escala de amostras provenientes de estudos longitudinais ou coorte e pela medida destas variáveis em amostras coletadas para estudos genéticos (2).

Um melhor entendimento, tanto da neurobiologia, quanto da herdabilidade do suicídio pode ajudar a diagnosticar populações de risco e ajudar no desenvolvimento de tratamentos e intervenções mais eficazes.

Existem alguns fármacos que atuam na recaptação da noradrenalina que são utilizados no tratamento da depressão (reboxetina), logo, um melhor entendimento da neurobiologia da depressão e do suicídio pode colaborar para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento destas condições. A farmacogenética ajuda a otimizar o tratamento para cada paciente, com a ajuda da investigação molecular, um tratamento mais adequado e eficaz pode ser escolhido para cada indivíduo ou grupo de indivíduos, dependendo da presença ou ausência de determinados polimorfismos.

## X. ANEXO I

### Termo de Consentimento Informado

Este projeto de pesquisa tem como objetivo estudar os pacientes que procuraram atendimento no Hospital de Pronto Socorro devido a uma tentativa de suicídio. Durante o atendimento se buscará obter informações sobre os possíveis motivos e causas que possam ter levado a tentativa de suicídio e assim buscar o tratamento adequado para cada situação. Os pacientes que buscam o HPS serão convidados a participar de um estudo sobre o suicídio que envolve a avaliação genética. Essa avaliação será feita a partir da coleta de 10ml de sangue dos pacientes que aceitarem participar deste projeto. A razão de se estudar o sangue dos pacientes é que se sabe que há uma possível relação genética com condutas autodestrutivas, incluindo o suicídio e a impulsividade. Assim, através da análise de sangue, se investigará a presença de um fator que pode estar relacionado com o desenvolvimento da doença depressiva e com o suicídio. Gostaríamos de solicitar também a sua autorização para que seu material continue armazenado em nosso laboratório para que possa eventualmente ser utilizado em outros projetos, visto que diversos outros genes candidatos têm sido estudados permitindo uma melhor compreensão dos aspectos biológicos que envolvem o suicídio.

#### Risco e Desconforto

Os riscos associados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer manchas roxas e dor no local da coleta. O desconforto será mínimo, pois a coleta será realizada por profissional treinado e experiente.

#### Benefícios

Os benefícios trazidos pelo estudo são indiretos. Ele poderá contribuir para uma melhor compreensão a respeito do suicídio, o que no futuro levará a uma melhor definição do diagnóstico, fatores de risco e vulnerabilidade, prognóstico desses pacientes e ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais efetivas para esta situação.

#### Recusa ou Descontinuação da participação

Eu entendo que a minha participação neste estudo é voluntária. Posso retirar meu consentimento e interromper minha participação a qualquer momento. A recusa em participar ou a desistência não ocasionará nenhum prejuízo aos cuidados médicos que estou recebendo nem está condicionado à continuidade e à qualidade do tratamento que recebo no Hospital de Pronto Socorro.

Pelo presente termo, declaro que fui informado de forma clara e detalhada sobre o presente projeto de pesquisa, e que tive minhas dúvidas esclarecidas por



\_\_\_\_\_. Fui igualmente informado sobre a garantia da manutenção do anonimato, da privacidade das informações que forneci e também recebi respostas e esclarecimentos sobre todos os procedimentos envolvidos nesta pesquisa.

Declaro também que estou de pleno acordo com a minha participação neste projeto.

---

Nome do participante ou responsável

---

Assinatura do participante ou responsável

Responsabilidade do pesquisador

Eu, \_\_\_\_\_ expliquei a \_\_\_\_\_ o objetivo deste estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e benefícios, usando o meu melhor conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável e cumprir com aquilo que foi informado ao paciente.

---

Nome do pesquisador ou associado

---

Assinatura do pesquisador

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

**Contato: Dra. Sandra Leistner Segal, pesquisadora responsável (Fone: 33168011)**

Dr. Jair Segal, psiquiatra do HPS (Fone: 32897999)

**X. ANEXO II****Protocolo de Investigação para o Suicídio (Elaborado por Jair Segal)****Dados Básicos da Identificação:**

Nome \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_  
 DN: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_  
 Estado civil: solteiro ( ) casado ( ) separado ( ) divorciado ( ) viúvo ( )  
 Adotivo: \_\_\_\_\_  
 Orientação sexual: \_\_\_\_\_  
 Religião: \_\_\_\_\_  
 Local de trabalho: \_\_\_\_\_ Trabalho informal: \_\_\_\_\_ Desempregado: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_  
 Telefone: \_\_\_\_\_  
 Procedência: \_\_\_\_\_ Meio urbano:( ) Meio Rural: ( )  
 Grau de instrução/ escolaridade: \_\_\_\_\_  
 Local onde estuda: \_\_\_\_\_  
 Raça / Etnia: Branco ( ) Negro ( ) Mulato ( ) Amarelo ( ) Mestiço ( )  
 Responsável ou cônjuge: \_\_\_\_\_  
 Telefone e endereço da referência: \_\_\_\_\_  
 Número de filhos: \_\_\_\_\_  
 Idade dos filhos: \_\_\_\_\_  
 Status sócio-econômico: \_\_\_\_\_  
 Renda média pessoal/familiar: \_\_\_\_\_  
 Estrutura social da família: ( ) Integrada ( ) Desintegrada ( ) Refeita

**Dados da história:**

Método utilizado:

Neuroléptico:	Nome genérico:	Dose aproximada: mg
Álcool:		
Benzodiazepínicos		
Opiáceos		
Organofosforados		
Outros:		
Enforcamento:		
Ferimento com arma branca:		
Ferimento com arma de fogo:		
Quedas de locais / acidentes de trânsito:		
Ateamento de fogo/ sufocamento por gás ou combustíveis:		
Ferimentos auto inflingidos (cortes com lâminas):		

Ideação: Persistente: ( ) Tipo impulsiva: ( ) Tipo manipulativa: ( )  
 Fatores desencadeantes presentes:

Morte de familiar:( )

Briga e/ou Rompimento de relacionamento afetivo:( )

Perdas materiais:( )

Motivo não compreensível ( ) Qual:

Número de tentativas anteriores:

Tipos de tentativas:

Letalidade das tentativas: Alta ( ) Média ( ) Baixa ( )

Presença de pessoas no local da TS e/ou que prestaram socorro: ( ) sim ( ) não

Número de internações psiquiátricas:

Local onde internou:

Passagens pelo HPS:

Uso ou abuso de substâncias psicoativas: (comorbidades)

	Atual	Passado	Idade do início	Tempo de uso
Álcool:				
Tabaco:				
Estimulantes:				
Benzodiazepínicos:				
Antidepressivos:				
Antipsicóticos:				
Inalantes:				
Canabis:				

Uso de medicamentos clínicos:

Tipo: Anti-hipertensivo ( )

Antiinflamatório ( )

Outros:

Procurou ajuda para algum tipo de problema emocional no último semestre ou ano:

História familiar de doença mental

Doença bipolar:
Esquizofrenia:
Drogadição:
Alcoolismo:
Transtornos de personalidade:
Retardo Mental:

História de internações psiquiátricas na família:

Local de atendimento:

História de suicídio na família:

Tipo de tentativa utilizada:

Grau de parentesco:

Heredograma:

**X. ANEXO III**

Instruções aos autores ***Canadian Journal of Psychiatry***



141 Laurier Avenue West    141, avenue Laurier Ouest  
 Suite 701    Bureau 701  
 Ottawa, ON K1P 5J3    Ottawa (Ontario) K1P 5J3  
 Tel: (613) 234-2815    tél : (613) 234-2815  
 Fax: (613) 234-9857    téléc : (613) 234-9857  
  
[www.cpa-apc.org/publications/cjphome.asp](http://www.cpa-apc.org/publications/cjphome.asp)  
[cjp@cpa-apc.org](mailto:cjp@cpa-apc.org)

## Information for Contributors

### **Mission of the Canadian Journal of Psychiatry**

Established in 1956, *The Canadian Journal of Psychiatry (CJP)* is the flagship publication of the Canadian Psychiatric Association. Publishing 12 issues a year, *The CJP* contains peer-reviewed scientific articles related to all aspects of Canadian and international psychiatry.

### **Types of Manuscripts**

The following describes the different types of submissions published in *The CJP*, including specific requirements for each, such as maximum word counts and numbers of tables and figures. These restrictions are enforced so *The CJP* can publish as many papers in each issue as possible.

#### ***In Review***

The Editor-in-Chief invites Guest Editors to take part in the In Review series. Unsolicited manuscripts are not accepted. The In Review series provides an updated and authoritative statement about a specific area of psychiatry. The papers define the issues, identify parameters, provide a brief history highlighting the main research findings and clinical applications, and identify remaining issues and the efforts being made to address them. The Guest Editorial should be 700 to 1500 words. Review papers must not exceed 5000 words (not including structured abstracts, references, tables, and figures) with a maximum of 5 figures and tables in total.

#### ***In Debate***

The Editor-in-Chief invites authors to take part in the In Debate series to argue the pro and con of a controversial subject. Unsolicited manuscripts are not accepted. Authors are allowed up to 1500 words (not including a maximum of 10 references) to make their case. Once the editorial office receives both submissions, they are given to each author to prepare a 500-word rebuttal.

#### ***Original Research and Review Papers***

Original research and literature review manuscripts must not exceed 4000 words (not including structured abstracts, references, tables, and figures) with a maximum of 5 figures and tables in total. Appendices may be published in the online version of *The CJP* if approved by the Editors. *The CJP* does not publish case reports or papers based entirely on clinical impressions.

### ***Brief Communications***

Preliminary reports and secondary studies from previous publications may be accepted as Brief Communications. These will be no more than 1500 words total (not including structured abstracts, references, tables, and figures) with a maximum of 3 figures and tables in total.

### ***Book Reviews***

Books of interest to *CJP* readers include general psychiatry, specific areas of psychiatry and the subspecialties, and other non-fiction works dealing with mental health issues. Some preference is given to Canadian authors and topics relevant to Canadian mental health issues. Book Reviews must be no more than 750 words total (including publication information, body text, and references). Tables and figures are not accepted in book reviews.

Direct quotes from the book should include page number in the reference.

Authors must indicate in the review if they have any personal ties to the author(s), editor(s), or publisher.

### ***Letters to the Editor***

Letters to the Editor must be no more than 500 words (including references). Tables and figures are not accepted. Letters to the Editor will only be accepted when they respond to published articles in *The CJP*. Case reports are not accepted as Letters to the Editor.

## **Preparing the Manuscript**

*The CJP* style is based on *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors and Publishers*, 7th edition, prepared by the Council of Science Editors, with some exceptions. Manuscript requirements are also based on *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (see <http://www.icmje.org/icmje.pdf>) prepared by the International Committee of Medical Journal Editors. *The CJP* also uses Canadian spellings as found in the *The Canadian Oxford Dictionary*.

Avoid unnecessary formatting of text as it will be removed. Automatic endnote and footnote functions are not acceptable. Text should be upper and lower case and have no paragraph indents. All 4 margins of the 8.5 x 11 paper should be 1.5 inches with each page numbered. Arrange the parts of the manuscript in the following order, with each item beginning a new page:

1. Title Page
2. Structured Abstract, Clinical Implications and Limitations, and Key Words
3. Body Text
4. Funding and Support and Acknowledgements
5. References
6. Tables and Figures

### ***1. Title Page***

Make the title as brief and informative as possible without using acronyms.

Limit authors listed in the byline to those who substantially contributed to the concept and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data as well as drafted or critically revised the article for important intellectual content and approved final version for publication. Acknowledge collaborators in the Acknowledgement section. Include the full names of each author (first names are preferred to initials). Provide degrees as well as professional, academic,

and financial affiliations of each author. Include the full address, telephone numbers, fax number, and e-mail address of the corresponding author.

If the paper has been presented at a meeting, provide the name, place, and date of the meeting.

Include separate word counts for the abstract and body text, but not for the tables, figures, and references.

## **2. Abstract, Clinical Implications and Limitations, and Key Words**

Abstracts must not be more than 250 words and should be structured under the following headings: Objective, Method, Results, and Conclusions. If applicable, the clinical trial registration number should appear at the end of the abstract (see Clinical Trial Registration below). *The CJP* translates the abstract into the alternate language (French or English).

Provide bullets for 3 clinical implications and 3 limitations of the study. These should be short sentences (less than 20 words each) that do not repeat the results, but rather put the results into context so psychiatrists can apply the information in their practice or research.

Include 3 to 10 key words or short phrases for indexing purposes.

## **3. Body Text**

Refer to the type of submission for the maximum word counts allowed for each.

Following the introduction and background information, the body of the manuscript should be arranged under the headings Method, Results, Discussion, and Conclusions.

The Method section should state whether the research received approval from an institution's ethics approval committee and whether written informed consent was obtained from the patients. Any statistical methodology that was used, including software, must be referenced. Review papers should briefly state the systematic approach to the literature review (what key word searches were used on what databases for what period of time, how many files were found, and how that was number reduced to what was used).

## **4. Funding and Support and Acknowledgements**

Under the heading Funding and Support, authors must disclose any potential or perceived conflict of interest with the producers of any products mentioned in the article or any competing company. Conflicts of interest can include, but are not limited to: ownership of stocks, stock options, or other financial instruments; receipt of consulting fees; employment; honorarium or other fee for writing the article or conducting similar research; speakers fees; educational grants; or travel assistance over the previous 24 months. All sources of funding and support for the research described in the manuscript should be included. For grant support, please include the full name of the granting agency and the grant number.

Under the heading Acknowledgements, do not exceed 4 typed lines for individuals involved with specific content of the work but who do not qualify as authors.

## **5. References**

Accuracy of citations, exact spelling, accents, and punctuation of the original reference is the author's responsibility.

*The CJP* follows a citation sequence referencing style based on that recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 7th ed. For complete details, refer to Chapter 29 of that publication.

Number references and list them in the order of their first appearance in the text. Use the same reference number when repeating the reference. Follow the citation in the text with the appropriate reference number in superscript.

In the reference list, do not include personal communications, unpublished manuscripts, or manuscripts submitted but not yet accepted for publication. Note these citations parenthetically in the text as follows: (name, date, and personal communication) or (unpublished observation). Accepted, but as-yet unpublished, manuscripts may be cited in the reference list as “forthcoming”: include the journal title (or book publisher and location) and tentative print date.

Type references in the style below, noting punctuation, capitalization, and use of en-dash for page ranges. References that do not conform to *CJP* style will be returned to the corresponding author for appropriate adjustment.

- List up to 3 authors. For more than 3, list the first 3 authors, followed by “et al.”
- Note punctuation conventions with author names (for example, Doe J, not Doe, J).
- Place book and article titles in sentence case, capitalizing only the first word, acronyms, and proper nouns.
- Use Index Medicus abbreviations but do not abbreviate journals that are not included in Index Medicus.
- Do not italicize titles.
- When citing journal articles, do not include a space after colons and semicolons.
- When citing journal articles, include both the volume and the issue number.
- Separate page ranges with an en-dash and do not omit any digits of the closing page number.

*Standard Journal Article Style and Sample*

1. Author(s). Title. Journal title. Year;volume(issue):page range.

1. Stip E, Fahim C, Liddle P, et al. Neural correlates of sad feelings in schizophrenia with and without blunted affect. *Can J Psychiatry*. 2005;50(14):909–917.

*Book Chapter Style and Sample*

2. Author(s). Chapter title. In: editor(s) name(s), editor. Book title. Place Published: Publisher; Year published. Page range.

2. Flach F. The resilience hypothesis and post traumatic disorder. In: Wolf ME, Mosnaim AD, editors. *Post-traumatic stress disorder: etiology, phenomenology, and treatment*. Washington (DC): American Psychiatric Press; 1990. p 37–45.

*Conference Presentation Style and Sample*

3. Author(s). Title. Paper presented at (name of conference); inclusive conference dates; place of conference.

3. Labrie F. Androgen deficiency syndrome in women: role of androgens and their precursor DHEA in women. Paper presented at the Female Sexual Function Forum; 2001 October; Boston (MA).

*Web Page Style and Sample*

4. Author(s). Page title. Organization [date cited]. Available from: URL.

4. Streiner DL. Meta-analysis: a 12-step program. *Electronic J Gambling Issues* [cited 2005 Oct 7]. Available from: <http://www.camh.net/egambling/issue9/feature/>.

## **6. Tables and Figures**

Tables and figures should complement text, not duplicate it, and should be understandable without reference to the text. Keep the number of tables to a minimum, using them to present relevant numerical data. Short tables can frequently be incorporated more concisely in the text.



Full pages of tables and figures will not be published. Authors should communicate this information in the text.

Include a descriptive title. Specify units of measurement for each table and figure.

Figures and charts must be submitted in the program with which they were originally created (for example, Excel, PowerPoint, Word, Corel Draw, PhotoPaint, or PhotoShop). Other acceptable formats are eps, tif (without text), jpg, and gif, all of which should be 300 dpi. *Note: The CJP is produced in an IBM-compatible environment.*

Tables and figures will be edited to conform to *CJP* style

## **Clinical Trial Registration**

The International Committee of Medical Journal Editors defines clinical trials as research projects that prospectively assign human subjects to intervention or concurrent comparison or control groups to study the cause-and-effect relation between a medical intervention (drug, surgical procedure, device, behavioural treatment, etc.) and a health outcome. To be considered for publication in *The CJP*, clinical trials must be registered at or before the onset of patient enrolment. The registry must meet several criteria as specified at an April 2005 meeting convened by the WHO. Criteria include:

- being accessible to the public at no charge;
- being open to all prospective registrants;
- being managed by a not-for-profit organization;
- having a mechanism to ensure the validity of the registration data;
- being electronically searchable; and
- having specific data elements:
  - unique trial number
  - trial registration date
  - secondary IDs
  - funding source(s)
  - primary sponsor
  - secondary sponsor(s)
  - contact person
  - official scientific title of study
  - research ethics review
  - condition
  - intervention
  - key inclusion and exclusion criteria
  - study type
  - expected trial start date
  - target sample size
  - recruitment status
  - primary outcome
  - key secondary outcomes

Registries such as <http://www.ClinicalTrials.gov> and <http://www.Controlled-Trials.com> are acceptable, but others may exist. No one particular registry is preferred. Trial registration with missing fields or fields containing uninformative terminology is not acceptable. This policy applies to any clinical trial starting enrolment after June 1, 2006. For trials that began enrolment before that date, registration will be required by September 1, 2006.

Manuscripts reporting on randomized controlled trials must follow the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) checklist, which has been endorsed by the International Committee of Medical Journal Editors, the World Association of Medical Editors, and the Council of Science Editors (see <http://www.consort-statement.org>). A CONSORT flow diagram should be included as a figure illustrating the progress of all patients in the study through the trial.

### **Manuscript Submission and Processing**

*The CJP* has a rapid-publication policy and has implemented Manuscript Central as its webbased manuscript submission and peer review processing system. Manuscripts can be submitted by going to <http://mc.manuscriptcentral.com/cjp> and logging in or creating an account. The website has helpful instructions, tutorials, and technical support to assist authors in uploading their manuscripts. *The CJP* no longer accepts manuscript submissions by mail or email. All submissions must go through Manuscript Central, with the exception of solicited manuscripts (that is, In Review and In Debate articles), which should be emailed to the Managing Editor for faster processing. Book Reviews, also solicited, should be emailed to [CJP@cpa-apc.org](mailto:CJP@cpa-apc.org).

Authors will be notified by email of successful receipt of their manuscripts and of the tracking numbers assigned to them. This number must be included in all correspondence. Authors are responsible for keeping their contact information up to date in Manuscript Central. This includes email and mailing addresses as well as phone and fax numbers.

All manuscripts are reviewed to determine the originality, validity, and importance of content and conclusions. Authors may suggest possible peer reviewers for their manuscripts. *The CJP* is not obligated to follow the suggestion. Authors will be provided with anonymous peer reviewers' comments to make necessary revisions before the manuscript can be accepted for publication. The authors will be informed of the final decision of the Editor-in-Chief.

Revised manuscripts, including tables and figures, are accepted with the understanding that they will be edited for conciseness, clarity, and conformity with *CJP* style. Copyedited manuscript and page proofs will be sent to the corresponding author for corrections, answers to queries, and approval.

### **Copyright**

Authors must comply with international copyright laws and obtain all necessary rights and permissions to reprint material, including entire tables and figures, from secondary sources. A copy of such permission(s) must be included with the manuscript submission.

For all published manuscripts, *The CJP* requires transfer of copyright to the Canadian Psychiatric Association so the author(s) and the Association are protected from misuse of copyrighted material. A copyright transfer form will be sent to the corresponding author when the manuscript has received final acceptance for publication. All coauthors are required to print, sign, and return the copyright release form to the Editorial Office. If the copyright release forms are not received from each coauthor, publication of the manuscript may be delayed.

### **Permission to Reproduce**

Written permission to reprint material published in *The CJP* must be secured from:

*The Canadian Journal of Psychiatry*  
141 Laurier Avenue West, Suite 701  
Ottawa, ON K1P 5J3

[cjp@cpa-apc.org](mailto:cjp@cpa-apc.org)

## Reprints

Reprints are provided for a fee. An order form for reprints will be sent to the corresponding author before publication of the paper. The reprints will be mailed about 2 weeks after the article has been published.

## Media Release

The CPA has received increasing numbers of media inquiries. To meet these requests quickly, authors are asked to designate a spokesperson and permit the CPA to release that person's telephone number and e-mail address to the media if requested.

## Questions

For further information, contact *The CJP* editorial office at (613) 234-2815 ext 230 or [cjp@cpa-apc.org](mailto:cjp@cpa-apc.org).

For technical support for Manuscript Central, contact ScholarOne at (434) 817-2040 ext. 167 or [Support@ScholarOne.com](mailto:Support@ScholarOne.com)

## Style Notes

### General

#### *Abbreviations and Acronyms*

Do not use periods or spaces with abbreviations and acronyms or after the initials of a person's name or academic degrees. Except for common abbreviations most readers are familiar with (such as DSM, ICD, US, UK, WHO, HIV, AIDS, units of measurement, etc.), spell out the term in full on first reference followed by the acronym in parenthesis.

#### *Prefixes*

Do not hyphenate most prefixes, even if this means that 2 vowels will occur together (for example, metaanalysis). However, use a hyphen with the prefix quasi-, compounds starting with self, and prefixes attached to capitalized words (e.g., non-European).

### Sensitive Language

Research subjects and those with mental disorders are unique individuals, some of whom have illnesses. Avoid terms with negative connotations. Do not write manic depressive, schizophrenic treatment programs, controls, or the like. Instead, write people with major depressive disorder, treatment programs for people with schizophrenia, and control subjects. Use "case" to mean instance or example and patient to mean person (e.g., "We saw 12 patients" not "cases").

#### *Race and Ethnicity*

Ethnicity distinguishes people by cultural characteristics while race distinguishes by similar visible physical characteristics and does not have a precise biological definition. Whenever possible, use more sharply definable criteria such as nationality or country/continent of origin.

#### *Sex or Gender*

Sex refers to the biological state of being male or female. Gender refers to the social, economic, and cultural characteristics of man and woman. *CJP* style uses the term sex unless it is clear that a socially defined role is being discussed (for example, gender identity disorder).

Male and female are categories of biological sex and are terms normally applied to animals. Use men and women wherever possible. If a group of patients includes both adults and children, subjects can be called male patients and female patients (not males and females).

### **Symbols, Formulas, and Equations**

In general, use symbols in equations and formulas, but write terms in full in running text (e.g., use  $\chi^2$  in a table, but chi-square when describing a statistical test in running text).

### **Parentheses, Brackets, and Braces**

*CJP* style uses the order of ({}). For example, total scores ( $t[161] = 5.61, P < 0.001$ ).

### **Confidence Interval (CI)**

Numeric limits represented by a CI should be connected by the word to rather than en-dash. Do not use an equal sign (for example, 95%CI, 15 to 20, not 95% CI = 15-20). All point estimates (e.g., mean, odds ratios, relative risk, etc.) should be reported with CIs.

### **En-Dash**

In text, *CJP* style uses the connective “to” when linking ranges to avoid possible ambiguity with the minus symbol (for example “with temperatures of –5 to 25°C”, not –5–25°C).

### **Numbers**

Most numbers are expressed in numerals. Only write out numbers when:

- beginning a sentence
- reporting consecutive numerical expressions in which 2 classes of numbers must be differentiated (for example, five 72-kg men, not 5, 72-kg men)
- reporting large numbers in general expressions (for example, a hundred, several thousand)
- using in a general, nonnumeric way (for example, “one of the many reasons”)
- reporting the whole numbers zero and one not connected to a unit of measure

Ordinal numbers are treated in the same manner as cardinal numbers: they are expressed as numerals (for example, 2nd, not second.) Do not superscript the suffix.

Use the term “to” rather than a hyphen or en-dash to report a range of numbers (for example, 2 to 5 kg, not 2-5 kg).

Use a colon for exact ratios, not if the ratio is inexact (for example, The ratio of men to women was 3:4).

### **Operators**

Operators have a space before and after them (for example,  $n = 246$ ).

### **P Values**

Present the symbol *P* upper case and in italic type. Use a zero before the decimal place. A *P* value should be shown to 2 decimal places unless it is less than 0.01, in which case, it should be shown to 3 decimal places (for example,  $P = 0.002$ ). *P* cannot equal 0 or 1. Do not write  $P = 0.000$ . For very small values, use  $P < 0.001$ .

*P* values should never appear alone. They must always be accompanied by the value of the statistical test and (when appropriate) the degrees of freedom (for example,  $t[23] = 6.25, P < 0.001$ ).

Do not use asterisks to indicate footnotes in tables that contain probability levels (for example,  $*P < 0.05$ ;  $**P < 0.01$ ;  $***P < 0.001$ ). Exact  $P$  values are preferred.

***Spaces with Units of Measurement***

Include a space between the numeral and its unit of measurement (for example, 136 mm Hg).

***Standard Deviation (SD)***

*CJP* style presents standard deviation as SD 4.6, not  $SD = 4.6$  or  $SD \pm 4.6$ .