

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: PSIQUIATRIA
CURSO DE MESTRADO

ANÁLISE DO GENE TRANSPORTADOR DA SEROTONINA EM
PACIENTES DEPRIMIDOS QUE TENTARAM O SUICÍDIO

JAIR SEGAL

Orientadores: Dra. Gisele Gus Manfro
Dra. Sandra Leistner-Segal

Porto Alegre, junho de 2004

Dedico este trabalho a todos aqueles que se julgam “enterrados acima do solo”. Aos pacientes que, sofrem e lutam com desespero pela sua sanidade, buscando a percepção de um mundo melhor.

AGRADECIMENTOS

À Sandra pela tua capacidade, dedicação e principalmente pelo estímulo e paciência para que eu aprendesse algo tão distante da minha prática. *“You do something to me ... that nobody else could do...”*.

À Gisele, sobretudo pela confiança e oportunidade para desenvolver este trabalho. Graças ao teu jeito simples, tive a liberdade para fazer meus vôos sempre acompanhado de perto pela tua habilidosa instrução.

À Clarissa, pela valiosa ajuda no laboratório, com seu jeito silencioso e trabalhador.

À Gilda Dias pela dedicação; às enfermeiras Ana Rochenback e Eloísa; à equipe de enfermagem; aos colegas da psicologia; à Jurema e coletadoras do laboratório pelo auxílio.

Aos colegas Emílio e Renato pelo incentivo e convivência.

Aos colegas Marilene, Clarissa, Daniela, Carla, Salgado e Eugênio pela amizade e capacidade de compartilhar bons e maus momentos. Ao Marcelo Berlim pelo incansável apoio na reta final. Ao Fernando Lejderman, Laís e Lizete pelo estímulo ao estudo do suicídio.

À Lucia Pellanda por tornar mais simples e fácil a análise estatística.

À Regina Helena Elnecave pela excelente versão para o inglês.

À Eneida, Arlete e Nery pela amizade e por acreditarem na minha capacidade.

Aos meus pais, David e Berta, que me ensinaram a ter tenacidade, gosto pela leitura e pelo apoio, sensibilidade e capacidade de insight.

Aos meus irmãos, Fábio e Salomão por terem me ajudado a abrir caminhos.

Às minhas filhas Roberta e Deborah pela alegria em minha vida.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 1.1 Epidemiologia | 9 |
| 1.2 Modelos para o comportamento suicida | 10 |
| 1.2.1. Modelo diátese – estresse | 11 |
| 1.2.2. Modelo Psicanalítico | 13 |
| 2. DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS E SUICÍDIO | 14 |
| 2.1. A comorbidade e o comportamento suicida | 15 |
| 2.2. Serotonina e suicídio | 17 |
| 2.3. A genética e o comportamento suicida | 18 |
| 2.4. O gene transportador da serotonina e o comportamento suicida | 20 |
| 3. HIPÓTESES DE PESQUISA | 21 |
| 4. OBJETIVOS | 22 |
| 4.1. Gerais | 22 |
| 4.2. Específicos | 22 |
| 5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS | 23 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 24 |

7. ARTIGOS

| | |
|--|-----------|
| 7.1. Associação do gene transportador da serotonina em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio – versão em Português | 29 |
| 7.2. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism (HTTLPR) – versão em inglês | 48 |
| 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 58 |
| 9. DIVULGAÇÃO PARCIAL DOS RESULTADOS | 60 |
| 9.1 Eventos | 60 |
| Apêndice A – Termo de Consentimento Informado para Pacientes | 62 |
| Anexo A – Protocolo de Investigação para o Suicídio | 65 |
| Anexo B – Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I) | 68 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------|---|
| 5-HT | 5-hidroxitriptamina ou Serotonina |
| 5-HTP | 5 -hidroxitriptofano |
| 5-HIAA | ácido 5-hidroindolacético |
| 5-HTT | Gene Transportador da Serotonina |
| 5-HTTLPR | Gene Transportador da Serotonina Linked Polymorphic Region |
| 5-HT1A | Gene do receptor da Serotonina 1A |
| 5-HT2A | Gene do receptor da Serotonina 2A |
| 5-HT1B | Gene do receptor da Serotonina 1B |
| DNA | Ácido Desoxiribonucleico |
| DSM-IV | Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais |
| HCPA | Hospital de Clínicas de Porto Alegre |
| HPS | Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| MAO | monoamino oxidase |
| MINI | Mini Intervention Neuropsychiatry Interview |
| pb | pares de base |
| PCR | Polimerase Chain Reaction ou Reação em Cadeia da Polimerase |
| RFLP | Restriction Fragment Length Polymorphism |
| SIS | Suicide Intent Scale ou Escala de Intenção de Suicídio |
| VNTR | Número Variável de Repetições em Tandem |
| TPH | triptofano hidroxilase |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Modelo diátese – estresse | 13 |
| Figura 2. Via Serotoninérgica - Produção da Serotonina | 17 |

LISTA DE TABELAS**Tabela 1.**

Dados demográficos e frequência dos alelos e genótipos nos pacientes e controles. **39**

Tabela 2.

Tipo de tentativa de suicídio comparada ao uso de álcool, dependência de álcool, sexo e distribuição das frequências alélicas e genótípicas. **40**

Table 1.

Demographic data and frequencies of alleles and genotypes in patients and controls **54**

Table 2.

Type of suicide compared to alcohol usage, alcohol dependency, sex and distribution of allelic and genotypic frequencies. **55**

RESUMO

Introdução: Inúmeros estudos têm associado alterações no sistema serotoninérgico com doenças psiquiátricas como a depressão e os atos suicidas. O gene transportador da serotonina possui um papel central na regulação da função sináptica serotoninérgica e esse gene possui um polimorfismo na região promotora que se constitui em um gene candidato para estudos de associação do comportamento suicida. O objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a frequência dos alelos “l” e “s” do polimorfismo 5-HTTLPR em pacientes com depressão maior segundo o DSM-IV que tentaram o suicídio e um grupo controle. Avaliamos também se há uma relação entre este polimorfismo e o comportamento suicida.

Métodos: A amostra foi composta de 84 pacientes deprimidos que tentaram suicídio e 152 controles doadores voluntários do Banco de Sangue. A região promotora do gene 5-HTT contendo o polimorfismo 5-HTTLPR foi amplificada através do método da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). 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 e uso da escala Suicide Intent Scale (SIS).

Resultados: Não houve diferenças significativas na frequência dos alelos e do genótipo nos sujeitos de pesquisa comparados ao grupo controle. Encontramos uma maior frequência de alelo “s” e do genótipo SS e LS em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. A razão de chance (odds ratio) para o genótipo SS e LS contra o outro genótipo (LL) foi de 1,301 (95% I.C.= 0.737-2.296). A razão de chance (OR) para o alelo “s” em comparação com o alelo “l” foi de 1,38 (95% I.C.= 0.780-1.661).

Conclusões: Nossos resultados sugerem que há um risco aumentado de suicídio nos pacientes deprimidos que possuem o genótipo SS e LS.

INTRODUÇÃO

1.1. Epidemiologia do comportamento suicida

O suicídio constitui-se hoje um grave problema de saúde pública em diversos países. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o suicídio foi responsável por quase 2 % das mortes do mundo no ano de 1998, o que o coloca na frente de mortes causadas pela guerra e bem na frente das mortes por homicídio. De uma forma sucinta, a OMS define o suicídio como “um ato suicida com um desenlace fatal” e o ato suicida como “auto - agressão com graus variados de intenção letal” (WHO, 1999).

A cada ano, um milhão de pessoas comete o suicídio ao redor do mundo. No total estima-se que ocorram aproximadamente 30.000 suicídios por ano nos EUA e 120.000 na Europa (Jamison, 1999). A incidência anual de suicídio está entre 10 e 20 a cada 100.000 indivíduos, na população geral mundial. No Brasil e especialmente no Rio Grande do Sul, os dados também não deixam de ser contundentes. No Brasil, segundo dados da OMS, ocorrem 5 suicídios / 100.000 habitantes e no estado Rio Grande do Sul chega a 11 suicídios / 100.000 habitantes (PRA SABER, 1999). As estatísticas brasileiras mostram que os acidentes de trânsito constituem-se ainda como a principal causa de morte de jovens, mas o abuso de substâncias como o álcool e outras drogas estão intimamente ligados a este evento e podem estar relacionadas indiretamente ao suicídio.

Embora as mulheres façam mais tentativas de suicídio que os homens, são os homens que tem uma mortalidade 4 vezes maior que as mulheres em suas tentativas e 80% dos suicídios completos são de pessoas do sexo masculino (Roy, 1999). Para cada suicídio ocorrem cerca de 10 tentativas de suicídio (Mann, 1999).

Esse problema afeta todas as idades e constitui a terceira causa de morte entre adolescentes e adultos jovens menores de 24 anos e a quarta causa mais freqüente de

morte nas crianças na faixa dos 10 aos 15 anos nos Estados Unidos. Os idosos constituem outro grupo de risco onde a taxa de suicídio chega a ser 50 % maior que nos adolescentes ou que o índice de mortalidade por suicídio norte-americano (Roy, 2000).

Mesmo já havendo definições sobre os fatores de risco e proteção do suicídio, estes ainda se constituem insuficientes na prevenção e no tratamento do problema. 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 prevenível. Mesmo com os avanços científicos, as sociedades contemporâneas ainda tratam o problema do suicídio como algo vergonhoso, resultante de uma falência da responsabilidade pessoal, da coesão familiar ou do sistema social. Esta visão promove uma série de dificuldades na intervenção e na pesquisa desses casos e até impossibilita uma adequada notificação para fins estatísticos devido a subnotificação ou informação de dados falsos (Baldessarini, 2001). Os suicídios comumente deixam de ser relatados, em parte porque os suicidas disfarçam suas ações e em parte porque nas sociedades onde ele é visto sob um juízo moralista a comunicação tende a ser evitada. Citamos, por exemplo, a Grécia onde a taxa de suicídio relatado é uma das mais baixas do mundo pois lá os suicidas são proibidos pela igreja grega de serem enterrados em solo sagrado (Solomon,2002).

1.2. Modelos para o comportamento suicida

Assim como os traços de comportamento normal são transmitidos de pais para filhos, certos transtornos mentais são comuns a famílias. Podemos considerar as doenças mentais ou psiquiátricas como doenças complexas, ou seja, doenças que não

exibem um padrão de herança mendeliana de transmissão, mas exibem um padrão de herança familiar, sofrem alguma influência genética e tem origem ou causa dita complexa, ou seja, multifatorial. Há fatores genéticos e fatores ambientais envolvidos na gênese destas doenças. Tais fatores genéticos e ambientais podem ser, tanto fatores de risco, como fatores de proteção. De acordo com o histórico familiar pode haver uma maior suscetibilidade ou predisposição genética deste indivíduo para ter a doença, mas fatores protetores ambientais também podem interferir na sua manifestação, diminuindo o risco dela ocorrer. A combinação do efeito de fatores genéticos e ambientais de risco e os fatores protetivos contribuem para a propensão individual para desenvolver a doença, bem como a idade de aparecimento, severidade da doença e a expressão dos sintomas clínicos.

1.2.1 Modelo diátese - estresse

Nos últimos 20 anos, foram constatadas evidências crescentes de que o comportamento suicida tem forte determinante neurobiológico. O conhecimento desta neurobiologia permitirá, no futuro, lançar mãos de ferramentas clínicas para tratar este comportamento e evitar mortes. O comportamento suicida não é apenas uma resposta lógica a um estresse extremo. Os comportamentos suicidas têm determinantes neurobiológicos independentes do transtorno psiquiátrico com o qual estejam associados. As pessoas que estão sob risco de suicídio tendem a fazer tentativas de modo relativamente precoce, na evolução de seus quadros (Malone et al., 1993). Mann et al. (1999) sugerem, para a compreensão deste fenômeno, a construção de um modelo que pode ser visto ou como um modelo diátese-estresse ou um modelo gatilho-limiar que pode explicar esta suscetibilidade. A diátese (vulnerabilidade) determina como um indivíduo reage a um evento estressor e depende de fatores que moldam a sua personalidade como os fatores genéticos e ambientais, experiências

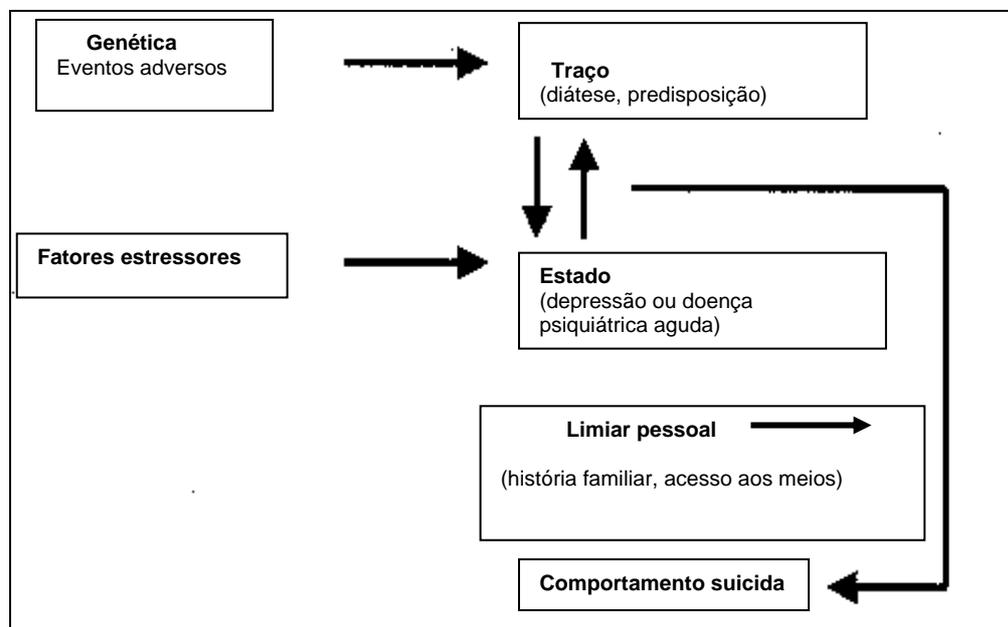
infantis entre outros. Baseado neste modelo, os fatores de risco podem ser categorizados como pertencentes a um desses dois domínios (gatilho ou limiar pessoal). Entre os estressores associados aos atos suicidas está o início ou piora de uma doença psiquiátrica aguda como a depressão, abuso de substâncias, doença orgânica, crise familiar ou eventos de vida adversos que poderiam servir como um gatilho. O evento estressor é um precipitante que determina o início (“*timing*”) de uma tentativa de suicídio (Sher et al. 2001). O limiar para um comportamento suicida também pode ser observado levando-se em conta aspectos genéticos, a história familiar de comportamentos suicidas e certos traços pessoais, tais como a presença de transtorno de personalidade borderline comórbida, comorbidade com abuso de drogas ou álcool e excessiva impulsividade. O mais importante elemento sugestivo de risco para a tentativa de suicídio é a história progressiva de outra(s) tentativa(s) de suicídio. Mas um único fator não é suficiente para desencadear um ato suicida. Se o paciente tiver, pelo menos, um fator de risco maior para cada domínio pode-se considerar um alto risco para o suicídio.

Se considerarmos a depressão como um único fator, vemos que muitos depressivos nunca se tornam suicidas e muitos suicídios são cometidos por pessoas que não são depressivas. Oquendo et al. (2000) afirmam que pacientes que tentaram o suicídio tem tanto diátese (baixo limiar) para o comportamento suicida quanto um gatilho precipitando o comportamento (estressor).

Os autores observaram que alguns pacientes com depressão maior são vulneráveis para agir quando sofrem impulsos suicidas. Esta vulnerabilidade resulta da interação entre pontos gatilhos ou precipitantes e o limiar de comportamento suicida.

Abaixo podemos ver o esquema do modelo proposto.

Figura 1. Modelo diátese-estresse.



Adaptado de Van Heeringen, 2003.

1.2.2. Modelo Psicanalítico

O modelo psicanalítico criado por Sigmund Freud nos auxiliou, através de seus inúmeros trabalhos, na compreensão do funcionamento mental, dos quadros psicopatológicos e da importância dos impulsos e da sexualidade na formação dos sintomas. Os quadros depressivos (melancólicos) foram extensamente explicados em trabalhos como Luto e Melancolia. Mas a elaboração da equação etiológica das neuroses revelou o conhecimento científico de Freud, onde há a integração dos fatores externos (ambientais) e dos fatores internos. Em sua Conferência XXIII (1917) intitulada “Os caminhos da formação dos sintomas”, Freud refere que a hereditariedade da constituição sexual atua com experiências traumáticas infantis na constituição das neuroses, formando uma série complementar. Freud, em 1895, publicaria um artigo intitulado “Uma réplica às críticas a meu artigo sobre neurose de

angústia” onde já coloca em ação os conceitos sobre uma equação etiológica que poderia ser usada na compreensão de doenças como a tuberculose pulmonar bem como nas neuroses e outras doenças psiquiátricas. Ele define conceitos como: (a) Precondição, (b) Causa Específica, (c) Causas Concorrentes e (d) Causa Precipitante ou Desencadeante. Na precondição ele já estabelece a importância da hereditariedade no desenvolvimento de algumas doenças.

2. DOENÇAS PSIQUIÁTRICAS E SUICÍDIO

O suicídio geralmente é o desfecho trágico de doenças psiquiátricas como os transtornos afetivos, transtornos psicóticos (esquizofrenia) e alcoolismo. A tendência verificada nestes grupos é que em quase 90% dos casos de suicídio há o diagnóstico de doença mental ou de uso abusivo de substâncias psicoativas e 10% dos pacientes com doença psiquiátrica cometem o suicídio (Mann et al., 1999).

A relação entre transtornos afetivos ou do humor (que inclui mania e depressão) mostra uma poderosa associação com o suicídio onde seu risco de ocorrência tem sido bastante elevado podendo ser observado entre 10% a 25% das mortes de pessoas com depressão maior tanto unipolar como bipolar. Diversas pesquisas mostraram que o suicídio geralmente aparece associado a doenças mentais, estando o diagnóstico de depressão maior presente em 40% dos casos (Turecki, 2001) elevando-se para além de 60% no transtorno bipolar e na distímia. O risco de mortalidade por suicídio durante a vida nos pacientes com transtornos afetivos é em torno de 7% nos homens e 1% nas mulheres (Blair –West et al., 2001).

Estudos clínicos com pacientes psiquiátricos sugerem que o risco do comportamento suicida aumenta na presença de uma história familiar de suicídio; uma afirmação que também tem apoio nos achados de estudos de gêmeos e de adoção. Pacientes com história familiar de suicídio tem, em mais de 50% dos casos o

diagnóstico primário de transtorno afetivo (Roy, 1983). Em pacientes com depressão, cerca de 5% revelam uma história de suicídio em familiares de primeiro grau, e cerca de 30% a 50% dos pacientes com depressão que têm história familiar positiva tentam, eles próprios, o suicídio. Uma história pregressa de tentativa de suicídio está frequentemente associada com uma tentativa de suicídio mais violenta. (Roy et al.,1999). O estudo com gêmeos tem mostrado também evidências de um fator genético para o comportamento suicida onde a concordância para o comportamento suicida foi maior entre gêmeos monozigóticos do que nos dizigóticos (Roy et al. 2001). Em estudos com adoção foi encontrado um maior risco de suicídio para os familiares biológicos de pessoas adotadas que cometeram suicídio quando comparadas aos familiares biológicos de indivíduos adotados do grupo controle. (Wender et al.,1986; Roy et al. 1999).

2.1. A comorbidade e o comportamento suicida

Existe consenso geral de que os transtornos psiquiátricos com abuso de drogas e dependência estão associados com maior risco de suicídio, especialmente em pacientes com transtornos maiores do humor. No entanto, os ensaios publicados até o momento não distinguem o risco maior pelo abuso ou pela dependência de drogas. O abuso de drogas se inicia na adolescência e pode desempenhar papel proeminente no aumento de 300% nos casos de suicídio nesta faixa etária. Nos jovens, o abuso de drogas pode estar associado com elevada frequência à depressão e transtorno bipolar. Além do transtorno do humor e do abuso de drogas, podem ser fatores de risco associados ao suicídio a deterioração social, profissional, doenças físicas e alterações nutricionais (Tondo et al. 1999).

Os resultados de uma pesquisa realizada por Tondo e colaboradores com 504 pacientes hospitalizados com transtorno de humor por tentativas de suicídio e abuso de

substâncias demonstraram que a literatura apoia a associação de abuso de álcool e de drogas com transtornos afetivos maiores e de algumas drogas com o comportamento suicida. Os novos achados desta pesquisa apoiam, no geral, estas duas associações. Os riscos de suicídio são semelhantes em homens e mulheres hospitalizados, estando associados com transtornos bipolares, tanto do tipo II quanto do tipo I (principalmente misto), assim como unipolares com o abuso de drogas e o efeito do tipo de agente utilizado. O abuso de drogas foi mais comum em homens com idade abaixo dos 30 anos com transtorno bipolar não misto. Os agentes mais utilizados foram o álcool (15%), a cocaína (4%) e a heroína (3%); o abuso de polisubstâncias ocorreu em 6% dos pacientes. Existe uma tendência para o paciente bipolar do tipo I, principalmente os não mistos, os quais têm um risco relativamente alto de abuso de drogas, de baixo risco para tentativas de suicídio, enquanto a maior parte dos dados indica que os transtornos depressivos ou disfóricos (bipolar tipo II, unipolar e bipolar tipo I, principalmente misto) podem ser especialmente letais, em termos de suicídio.

As diferenças nos riscos para abuso de drogas e comportamento suicida, em homens e em pacientes bipolares do tipo I, sugerem que o abuso de drogas e o transtorno de humor podem contribuir para o risco de suicídio com independência parcial, sendo fatores a serem estudados de modo isolado para avaliar a real participação de cada um.

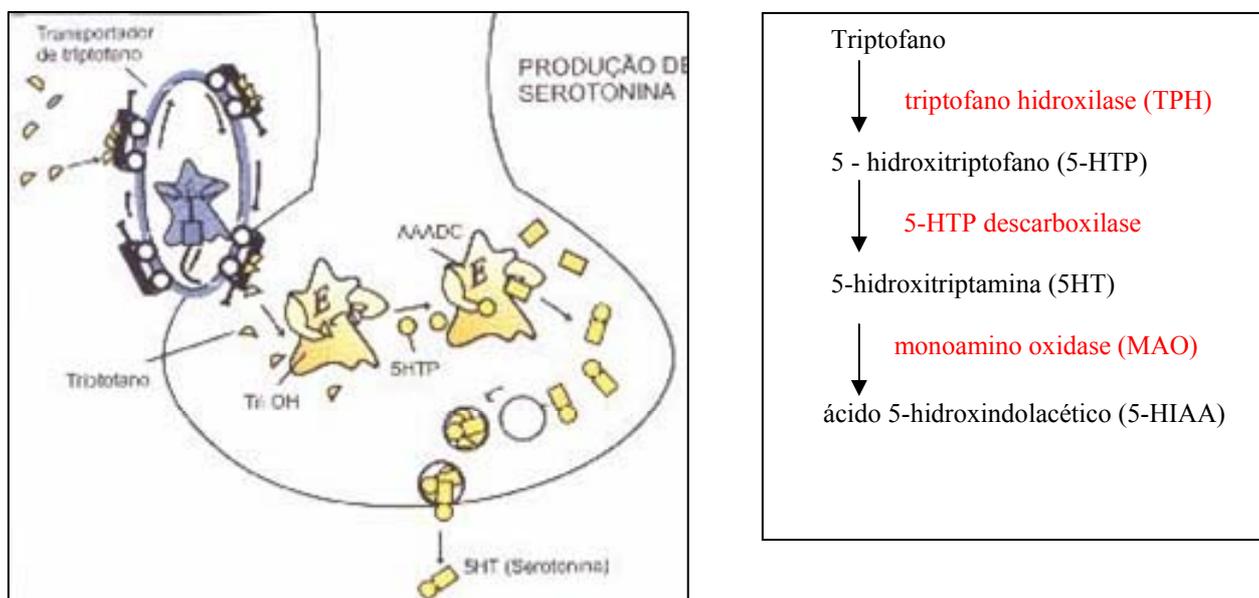
Leclubier (2001) afirma que a coexistência de mais de uma doença em pacientes no eixo I ou com doença simultânea nos Eixos I e II pelos critérios do Diagnostic and Statistical of Mental Disorders (DSM-IV, 1994) é extremamente freqüente nos pacientes que cometeram uma tentativa de suicídio. O número de diagnósticos comórbidos aumenta substancialmente o risco para comportamento suicida.

As doenças orgânicas aumentam o risco de atos suicidas e do suicídio, principalmente aquelas doenças que afetam o sistema nervoso central como a AIDS, epilepsia, doença de Huntington, traumatismo crânio – encefálico, insuficiência renal crônica e acidentes vasculares cerebrais conferem um maior risco de suicídio que outras doenças (Sher et al., 2001).

2.2. Serotonina e suicídio

O conhecimento das vias serotoninérgicas através da síntese e degradação da serotonina permitiu na compreensão da patofisiologia dos transtornos afetivos bem como dos mecanismos de ação dos antidepressivos. As proteínas e receptores envolvidos na via serotoninérgica desempenham um papel importante no comportamento suicida e podem ser visualizadas a seguir:

Figura 2. Via Serotoninérgica – Produção da Serotonina (Adaptado de Stahl, 2002).



Um fator neurobiológico importante, ao se considerar o limiar de um indivíduo para agir sob impulsos suicidas, é a função serotoninérgica cerebral. Esta atividade se mostrou mais baixa em pacientes que tentaram suicídio, pelos estudos de medição dos metabólitos da serotonina no líquido e pelos estudos de resposta da

prolactina à fenfluramina. É importante notar que quanto mais baixa a serotonina cerebral, mais grave é a tentativa de suicídio, havendo, portanto, correlação direta com a letalidade (Mann et al., 1999; Sher et al., 2001). Outro fato importante é que existe relação entre os baixos níveis cerebrais de serotonina e a agressividade, não se esquecendo que o suicídio pode ser entendido como uma auto-agressividade. A importância da genética no suicídio pode estar relacionada com a informação cromossômica para a síntese e secreção de serotonina. De modo interessante, o sexo feminino tem um nível médio mais elevado de serotonina cerebral que o sexo masculino, e menor incidência de suicídio. (Mann et al., 1999).

Os estudos pós-morte das vítimas de suicídio revelam redução da atividade da serotonina no córtex ventro-lateral pré-frontal, uma área reconhecidamente importante para o comportamento. Novas tecnologias de avaliação de neuroimagens, tais como o tomógrafo por emissão de pósitrons, oferecem uma oportunidade de visualizar a função da serotonina "in vivo" de modo direto. Estas tecnologias podem fornecer a possibilidade de uma intervenção terapêutica mais precoce e oportuna em pacientes com alto risco para suicídio (Mann et al., 1999; 2000; 2003).

2.3. A genética do suicídio e tentativas de suicídio

Nos últimos anos, a medicina tem se desenvolvido de maneira a incorporar tecnologias de ponta, como o uso da biologia molecular, e permitir o diagnóstico mais precoce e mais preciso de inúmeras doenças, assim como para auxiliar no entendimento de sua patogênese, permitindo o desenvolvimento de novos tratamentos ou prevenção mais eficazes. Os avanços no campo da biologia molecular permitiram o emprego de métodos mais sensíveis e rápidos na identificação genes candidatos associados a doenças mentais principalmente nos transtornos afetivos. Desta forma, a detecção de seqüências de DNA específicas encontradas via técnicas moleculares, são

de grande valia no diagnóstico clínico. Aqui cabe destacar a importância da técnica da reação em cadeia da polimerase (Polimerase Chain Reaction - PCR) que, com o uso de *primers* específicos, tem o potencial valor de amplificar o DNA e com isso permitir o diagnóstico e quem sabe, obter-se informações para uma avaliação prognóstica.

A identificação de genes responsáveis envolve uma pesquisa geral em todo o genoma humano. Uma alternativa para isso seria a identificação de genes candidatos como aqueles relacionados no sistema serotoninérgico. Genes candidatos são genes que codificam proteínas que têm ou se acredita que tenham um papel biológico no desenvolvimento de doenças.

Genes candidatos como o gene da enzima triptofano hidroxilase, dos receptores da serotonina a 5-HT1A, 5-HT2A e 5-HT1B e do gene transportador de serotonina (5-HTT) estariam relacionados às anormalidades serotoninérgicas observadas em pessoas com história de depressão maior e nos indivíduos com condutas suicidas sérias e naqueles que cometeram suicídio (Malone and Mann 1993; Mann 1998). Entre as alterações genéticas relacionadas às doenças psiquiátricas estão os polimorfismos. Entende-se por polimorfismo um segmento de DNA que têm mais de uma forma (ou alelo) sendo que a forma menos freqüente ocorreria em pelo menos 1% da população. Seria uma parte natural de uma variação genética e um gene polimórfico pode ou não estar relacionado a uma função alterada, ou seja, causar ou predisposição para uma doença.

Os estudos genéticos moleculares registraram polimorfismos no gene da enzima triptofano - hidroxilase, que está envolvido na síntese da serotonina. O alelo U parece proteger o indivíduo do suicídio, levando à produção e secreção de serotonina em grande quantidade, enquanto o alelo L parece ser responsável pela tendência ao suicídio e a menor síntese e secreção de serotonina. Muitos estudos têm investigado a

associação entre esse polimorfismo e atos suicidas com resultados, ainda controversos, mas a sua suposta participação nestes atos estaria relacionada ao um aumento da impulsividade e do comportamento agressivo- impulsivo (Roy et al. 1999).

Em relação aos genes relacionados aos receptores da serotonina 2A e 1B não foram descritos, nos estudos realizados, evidências de associação entre as variações genéticas desses genes com os atos suicidas (Turecki, 2001).

2.4. Gene transportador de serotonina e comportamento suicida

O gene transportador de serotonina (5-HTT) é um gene candidato maior para o comportamento suicida (Mann, 1998). Um polimorfismo funcional do gene 5- HTT é descrito como inserção/deleção de 44 pares de base (pb) na região polimórfica do gene 5-HTT (5-HTTLPR; sendo dois alelos: “long” [l] e “short” [s]; Heils et al. 1996). Desde o ano 1998 até 2004, diversos estudos têm sido realizados com o gene transportador da serotonina (5-HTT), pela revisão feita no MEDLINE. A maior parte dos estudos sobre a associação do 5-HTT e comportamento suicida, encontrou uma associação entre o alelo curto (“s”) com vítimas ou tentadores de suicídio comparados a controles. Entretanto em três estudos com vítimas de suicídio, a frequência do alelo L foi maior (Anguelova et al., 2003). Isso sugere que estudos mais detalhados com uma maior amostra de pacientes para compreender o mecanismo envolvido no sistema serotoninérgico, mais especificamente com o papel deste polimorfismo, e sua relação com o comportamento suicida.

3. HIPÓTESE DE PESQUISA

Considerando que pacientes deprimidos tentam o suicídio freqüentemente, e que alterações no sistema serotoninérgicos estão presentes nestes pacientes, as seguintes hipóteses foram testadas:

- 3.1. o gene transportador da serotonina está associado ao comportamento suicida.
- 3.2. o polimorfismo do gene transportador da serotonina pode conferir uma vulnerabilidade biológica a estes indivíduos que tentam o suicídio.

4.OBJETIVOS

4.1. Geral:

Verificar a frequência de um polimorfismo na região promotora do gene transportador da serotonina em pacientes que tentaram suicídio comparados com um grupo controle.

4.2. Específicos:

Calcular a frequência dos alelos L e S nos pacientes e no grupo controle.

Verificar se há associação entre a frequência do polimorfismo descrito e o diagnóstico psiquiátrico de depressão nos pacientes que tentaram o suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência do polimorfismo descrito e o diagnóstico psiquiátrico de abuso de álcool nos pacientes que tentaram o suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência do polimorfismo descrito e o diagnóstico psiquiátrico de abuso de drogas nos pacientes que tentaram o suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência do polimorfismo descrito e o número de tentativas de suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência do polimorfismo descrito e o tipo de tentativas de suicídio.

5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Esse estudo foi aprovado pela Comissão Científica e Comissão de Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob nº 02097, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob nº 4396 e pela Assessoria Científica do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre e todos os pacientes assinaram o termo de Consentimento Informado para a sua execução (Apêndices 1 e 2).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM – IV). 4.ed. Washington, 1994.

Anguelova M., Benkelfat C. and Turecki G. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior. *Molecular Psychiatry* 8, 646–653, 2003.

Blair-West G.W., Cantor C.H., Mellsop G.W., Eyeson-Annan M.L. Lifetime suicide risk in major depression: sex and age determinants. *Journal of Affective Disorder* 55, 171–178, 1999.

Freud S. Uma réplica às críticas a meu artigo sobre neurose de angústia (1895). In: *Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud, III*, Rio de Janeiro: Imago, 143-146, 1974.

Freud S. Conferência XXIII Luto e Melancolia. In: *Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud, XIV*, Rio de Janeiro: Imago, 275-291, 1974.

Freud S. Conferência XXIII Os caminhos da formação dos sintomas. In: *Obras Psicológicas Completas de Sigmund Freud, XVI*, Rio de Janeiro: Imago, 419-439, 1974.

Heils A., Teufel A., Petri S., Stober G., Riederer P., Bengel D., Lesch P. Allelic Variation of Human Serotonin Transporter Gene Expression. *Journal of Neurochemistry* 66 (6), 2621–2624, 1996.

Jamison K.R. *Quando a noite cai – Entendendo o Suicídio*. Rio de Janeiro: Gryphus, 2002.

Malone K.M., Haas G.L., Sweeney J.A., Mann J.J. Major depression and the risk of attempted suicide. *Journal of Affective Disorder* 34, 173–185, 1995.

Mann J.J. The neurobiology of suicide. *Nature Medicine* 4, 25–30, 1998.

Mann J.J., Oquendo M., Underwood M.D., Arango V. The Neurobiology of Suicide Risk: A review for the Clinician. *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (suppl 2), 7-11, 1999.

Mann J.J., Huang Y.Y., Underwood M.D., Kassir S.A., Oppenheim S., Kelly T.M., Dwork A.J., Arango V. A Serotonin Transporter Gene Promoter Polymorphism (5-HTTLPR) and Prefrontal Cortical Binding in Major Depression and Suicide. *Archives of General Psychiatry* 57, 729–738, 2000.

Mann J.J. Searching for Triggers of Suicide Behavior. *American Journal of Psychiatry* 161, 395 - 397, 2004.

Oquendo M., Wateraux C., Brodsky B., Parsons B. Haas G.L., Malone M., Mann J.J. Suicidal behavior in bipolar mood disorder: clinical characteristics of attempters and nonattempters. *Journal of Affective Disorders* 59, 107-111, 2000.

PRÁ-SABER: Informações de Interesse à Saúde (SIM - Sistema de Informação sobre Mortalidade) – Prefeitura Municipal de Porto Alegre, 1997, 1998 e 1999.

Roy A. Family history of Suicide. *Archives of General Psychiatry*, 40, 971-974, 1983.

Roy A., Nielsen D., Rylander G., Sarchiapone M. Segal N. Genetics of Suicide in Depression. *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (suppl 2), 12-17,1999.

Roy A. Psychiatric Emergencies. In: Kaplan, H.I.; Sadock, B.J. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*, 7 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2031-2040, 2000.

Roy A. and Segal N. Suicidal Behavior in twins: a replication. *Journal of Affective Disorder* 66, 71-74, 2001.

Stahl S.M. *Psicofarmacologia – Base Neurocientífica e Aplicações Práticas*, 2^a ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 2002.

Sher L., Oquendo M.A. and Mann J.J. Risk of suicide in mood disorders. *Clinical Neuroscience Research* 1, 337-344, 2001.

Solomon A. O Demônio do Meio – Dia - Uma Anatomia da Depressão. Rio de Janeiro: Objetiva, 2002.

Tondo L., Baldessarini R. J., 2001. Suicide: An Overview. Available at: <http://psychiatry.medscape.com/Medscape/psychiatry/ClinicalMgmt/CM.v03/public/index-CM.v03.html>

Turecki G., 2001. Suicidal behavior: is there a genetic predisposition? *Bipolar Disorders* 3, 335–349.

Van Heeringen K., 2003. The Neurobiology of Suicide and Suicidality. *Canadian Journal of Psychiatry* 48, 292–300.

Wender P., Rosenthal D., Shulsinger F., Ortmann J., Lunde I.L. Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorder. *Archives of General Psychiatry* 43, 923-926, 1986.

World Health Organization, 1999. Figures and facts about suicide. WHO, Geneva.

7. ARTIGOS

7.1. Associação do gene transportador da serotonina em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio

7.2. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism (HTTLPR) *

*Artigo elaborado conforme as normas da revista Psychiatry Research

**Associação entre o polimorfismo do gene transportador da serotonina em
pacientes brasileiros deprimidos que tentaram o suicídio**

Jair Segal^{a,b}, Clarissa Pujol^a, Gisele Gus Manfro^c, Sandra Leistner-Segal^{a,*}

- a Programa de Pós – Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.
- b Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Largo Theodore Herzl, s/nº; Porto Alegre, RS, Brasil.
- c Programa de Pós – Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria. Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Serviço de Psiquiatria do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

* Endereço para correspondência:

Dr. Sandra Leistner-Segal
Serviço de Genética Médica
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos 2350
CEP 90035-003
Porto Alegre, RS
Brasil
Telefone: 51 21018011
Fax: 51 21018010
e-mail: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Resumo

Introdução: Inúmeros estudos têm associado alterações no sistema serotoninérgico com doenças psiquiátricas como a depressão e atos suicidas. O gene transportador da serotonina tem um papel central na regulação da função sináptica serotoninérgica e possui um polimorfismo na região promotora constituindo-se como um candidato para estudos de associação do comportamento suicida. O objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a frequência dos alelos “l” e “s” do polimorfismo 5-HTTLPR em pacientes que tentaram suicídio com diagnóstico de depressão maior comparado ao grupo controle, avaliando, também, se há uma relação entre este polimorfismo e o comportamento suicida.

Métodos: A amostra foi composta de 84 pacientes deprimidos que tentaram suicídio e 152 controles doadores voluntários do Banco de Sangue. A região promotora do gene 5-HTT contendo o polimorfismo 5-HTTLPR foi amplificada através do método da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). 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 e uso da Escala de Intenção de Suicídio.

Resultados: Não houve diferenças significativas na frequência dos alelos e do genótipo nos sujeitos de pesquisa comparados ao grupo controle. Encontramos uma maior frequência de alelo “s” e do genótipo SS e LS em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. A razão de chance (odds ratio) para o genótipo SS e LS contra o outro genótipo (LL) foi de 1,301 (95% I.C.= 0.737-2.296). A razão de chance (OR) para o alelo “s” em comparação com o alelo “l” foi de 1,38 (95% I.C.= 0.780-1.661).

Conclusões: Nossos resultados sugerem que há um risco aumentado de suicídio nos pacientes deprimidos que possuem o genótipo SS e LS.

Unitermos: tentativa de suicídio, gene transportador da serotonina (5-HTT), região polimórfica do gene transportador da serotonina (5-HTTLPR), depressão

Introdução

O suicídio é hoje um grave problema de saúde pública em todo o mundo e, segundo a Organização Mundial de Saúde, no ano de 2000, aproximadamente 1 milhão de pessoas morreram por suicídio no mundo inteiro, sendo o número de tentativas de suicídio 10 a 20 vezes maior no mesmo período. A cada 40 segundos uma pessoa se suicida e a cada 3 segundos ocorre uma tentativa de suicídio em algum lugar do planeta. Hoje o suicídio é uma das três principais causas de morte entre jovens de 15-34 anos em todos os países.(WHO, 1999; 2002).

Diversas pesquisas mostraram que o suicídio geralmente aparece associado a doenças mentais, estando o diagnóstico de depressão maior presente em 40% dos casos (Turecki, 2001). O risco de mortalidade por suicídio durante a vida é em torno de 15% nas pessoas com depressão (Guze and Robins, 1970; Angst et al., 1999) estando também presente nos pacientes com doença bipolar onde o risco de suicídio é maior durante a fase depressiva da doença (Simpson and Jamison, 1999).

Alguns modelos têm sido propostos para explicar por que uma pessoa comete o suicídio durante um episódio depressivo e outra não. O modelo de diátese-estresse sugere que os eventos estressores mais relacionados a este comportamento são problemas de ordem interpessoal ou social, além das doenças psiquiátricas agudas e que as causas dessa vulnerabilidade ou diátese incluem as influências genéticas, experiências traumáticas precoces, doenças crônicas, abuso de substâncias e baixos níveis de colesterol (Mann,1998; Caspi et al., 2003).

Desde a década de setenta, inúmeros estudos bioquímicos têm mostrado uma associação entre a baixa atividade serotoninérgica e a agressividade, impulsividade e comportamento suicida. (Asberg et al.,1976). Há evidências de que o sistema serotoninérgico está em parte sob controle genético (Mann 1998; Van Heeringen, 2003). Assim, o risco de um

comportamento suicida, os atos agressivos, o alcoolismo e o abuso de substâncias teriam uma predisposição genética mediada por este sistema neurotransmissor (Mann, 1998; Mann et al. 1999a, 1999c, 2001).

O gene transportador da serotonina (5-HTT) localizado no cromossomo 17q11.1-q12 (Lesch, 1994) codifica uma proteína de membrana integral que tem um papel na recaptação deste neurotransmissor na fenda sináptica e tem sido apontado como um gene candidato para o comportamento suicida (Mann, 1998). Existem dois polimorfismos neste gene que têm sido pesquisados: um VNTR que corresponde a um número variável de repetições em *tandem* no intron 2 (Lesch et al., 1994) e o polimorfismo de tamanho de repetição (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*) que corresponde a uma inserção/ deleção de 44 pb na região promotora deste gene (5-HTTLPR), que origina 2 alelos (l- *long* e s-*short*). O alelo “l”, constituído de 528 pares de base, vem sendo relacionado a uma transcrição de duas a três vezes mais eficiente do gene transportador da serotonina quando comparado ao alelo “s” de 484 pares de base. (Heils et al., 1996; Lesch, 1996). Isso significa que o alelo “s” seria menos ativo resultando numa captação em níveis menores da serotonina na fenda sináptica.

Diversos estudos têm mostrado resultados contraditórios a respeito da associação entre o polimorfismo na região promotora e o comportamento suicida. (Arango et al., 2003). Alguns autores sugerem uma associação positiva entre o alelo “s” e o suicídio e as tentativas de suicídio (Bondy et al., 2000, Courtet et al., 2001). Outros estudos demonstraram que o alelo curto estava mais presente em pacientes com transtorno de humor (Bellivier et al., 2000) e em pacientes alcoolistas do sexo masculino com tentativas violentas de suicídio (Gorwood et al., 2000; Preuss et al., 2001). Baca-Garcia e colaboradores (2002) encontraram um aumento da frequência alelo “s” (ou diminuição da frequência do alelo “l”) em mulheres que tentaram o suicídio em comparação com os homens com esse comportamento e com um grupo controle.

Por outro lado, Du e colaboradores (1999) descreveram uma frequência significativamente maior do alelo longo (“l”) em 24 vítimas de suicídio com história de depressão comparada ao grupo controle. Dois estudos semelhantes com vítimas de suicídio encontraram uma maior proporção do alelo “l” (Fitch et al., 2001) e do genótipo LL em vítimas de suicídio (Hranilovic et al., 2003) embora sem diferenças estatisticamente significativas. Na mesma direção, Russ et al. (2000) encontraram um escore maior nos pacientes com genótipo LL nas escalas Hopelessness Scale e na Scale for Suicidal Ideation indicando um maior risco de suicídio.

Outros estudos, no entanto, não encontraram associação desse polimorfismo em indivíduos com tentativas de suicídio (Geijer et al. 2000, Rujescu et al. 2001).

O objetivo deste trabalho foi verificar a associação entre a frequência dos alelos “l” e “s” do polimorfismo 5-HTTLPR em pacientes que tentaram suicídio com diagnóstico de depressão maior comparado a um grupo controle, avaliando, também, se há uma relação entre estes e a vulnerabilidade ao comportamento suicida.

Material e Métodos

A população em estudo consistiu de 84 pacientes (48 homens e 36 mulheres) maiores de 18 anos (média de idade de $35,39 \pm 13$) 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 vida. 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. Foram excluídos da amostra 2 pacientes que não preencheram os critérios diagnósticos para depressão maior. A Escala de Intenção de Suicídio de Beck (SIS) foi aplicada nos 84 pacientes. A versão final do SIS inclui 15 itens com escore variando de 0 a 2. Alguns itens não são incluídos no escore total. (Beck et al., 1974).

As tentativas de suicídio foram classificadas como violentas ou não-violentas de acordo com os critérios propostos por Asberg et al. (1976). As tentativas de suicídio violentas (n=44) ocorreram por ferimentos por armas de fogo (n=09), queimaduras (n=10), enforcamento (n=01), ferimentos por objetos cortantes (n=06) ou penetrantes (n=02), envenenamento por substâncias químicas (n=10), queda de altura (n=04) e atropelamento (n=02), enquanto que a intoxicação medicamentosa (n=40) foi considerada tentativa de suicídio não - violenta.

A população controle consistiu de 152 doadores de sangue voluntários (109 homens e 43 mulheres) do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com média de idade de $35,65 \pm 10$ anos. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética institucional sob nº 02097 e todos os pacientes assinaram o termo de Consentimento Informado.

Análise genética

Extração de DNA genômico a partir de sangue

O DNA foi extraído a partir de 5 ml de sangue total coletado através de punção venosa periférica, conforme o método de precipitação por sais. (Miller et al.,1988). O sangue total foi colocado em tubo contendo EDTA e armazenado a -20°C para posterior extração de DNA.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A região promotora do gene 5-HTT contendo o polimorfismo 5-HTTLPR foi amplificada através do método da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Utilizando-se os primers descritos por Heils et al.(1996) que correspondem à posição de nucleotídeos

-1416 a -1397 5'-GGCGTTGCCGCTCTGAATGC-3' (forward, strp5) e

-910 a -888 5'-GAGGGACTGAGCTGGACAACCAC-3' (reverse, strp3).

A partir da obtenção de um produto amplificado foi realizada uma eletroforese em gel de agarose 1% para a identificação do alelo específico presente nestes fragmentos. O produto de PCR resulta de fragmentos de 484 pares de base (pb) que indica a presença de um alelo curto (“s”) e fragmentos de 528 pares de base (pb), a presença de um alelo longo (“l”).

Análise estatística

O cálculo do tamanho da amostra foi estimado considerando um poder de 80% e um nível de significância de 0,05 com diferença entre as prevalências de alelos de 0,68 na população estudada (pacientes) e 0,43 do grupo controle. Assim o número de pacientes estimados para o cálculo da prevalência foi de no mínimo 69 para cada grupo. As variáveis categóricas são apresentadas sob a forma de proporções e as variáveis contínuas através de médias e desvio - padrão. A frequência e distribuição dos alelos e dos genótipos nos pacientes e controles foram comparadas utilizando-se o teste do qui-quadrado(χ^2), teste t de Student, com o auxílio do software SPSS versão 10 e EPI INFO 2000. Foi adotado um efeito dominante - recessivo para o gene 5-HTT, assim os genótipos LL foram comparados com os genótipos LS e SS associados, baseados no trabalho de Lesch et al., 1996. Quando apropriado, os valores de p foram ajustados usando a correção de Yates. Os escores dos primeiros 15 itens do SIS foram analisados pelo software SPSS versão 10. Os genótipos foram testados para o Equilíbrio de Hardy-Weinberg .

Resultados

A amostra total constituiu-se de 236 indivíduos, sendo 152 controles e 84 pacientes com depressão maior segundo o DSM-IV que tentaram o suicídio.

Os dados sócio – demográficos e culturais bem como as frequências dos genótipos e dos alelos de pacientes e controles são mostrados na tabela 1.

Foi encontrado um maior risco de suicídio naqueles pacientes que possuíam um ou dois alelos curtos. Não foi encontrada uma diferença significativa na frequência do

polimorfismo 5-HTTLPR entre os pacientes estudados e o grupo controle, tanto no que diz respeito ao genótipo LL,LS ou SS (χ^2 0,940; $p= 0,625$) bem como na frequência do alelo curto (χ^2 0,45; $p= 0,50240$) conforme observado na Tabela 1.

Pacientes que tiveram tentativas violentas ($n=44$) não se diferenciaram do grupo que tentou o suicídio com meios não violentos($n=40$) em relação ao genótipo (χ^2 2,93; $p= 0,231$), assim como a frequência dos alelos não tiveram relação com tais tipos de tentativas (χ^2 2,48; $p= 0,115$). Na população em estudo encontrou-se que 31% dos casos apresentavam comorbidade com o alcoolismo e que o uso de bebidas alcoólicas concomitantemente ao ato suicida estava mais presente naqueles pacientes que realizaram tentativas violentas de suicídio (χ^2 5,96; $p= 0,015$) comparadas aos que tentaram com métodos não - violentos. Em 70,5% dos casos, as tentativas violentas de suicídio foram feitas por homens enquanto as não-violentas em 57,5% dos casos foram realizadas por mulheres. (χ^2 6,69; $p= 0,010$)

O escore médio total do SIS no grupo dos pacientes foi de $13,26 \pm 4,19$, não se encontrando diferenças estatisticamente significativas nos escores do SIS em relação aos diferentes genótipos. A distribuição genotípica para pacientes e controles não estava em equilíbrio de Hardy-Weimberg.

Discussão

O principal achado de nosso estudo revela que houve um maior risco de comportamento suicida nos pacientes deprimidos portadores do genótipo SS e LS que está de acordo com os resultados de diversos estudos com vítimas de suicídio relatados na literatura internacional que mostram uma associação positiva entre o alelo curto com o suicídio (Bondy et al., 2000; Lin and Tsai, 2004)) e com tentativas de suicídio (Courtet et al. 2004).

O uso de bebidas alcoólicas concomitantemente ao ato suicida está presente naqueles pacientes com tentativas violentas de suicídio. Essas foram realizadas por homens em 70,5% dos casos o que está de acordo com a literatura (Pirkola et. al., 2000). Há uma diferença em

relação ao risco de suicídio entre homens e mulheres, sendo que os homens, ao longo da vida, têm um risco de 7% comparado com 1% nas mulheres (Blair-West et al., 1999). Não houve, entretanto, associação entre o abuso de bebidas alcoólicas com o genótipo e com o alelo “s”. Sabe-se que o abuso de álcool é um fator de risco para o suicídio (Demirbas et al., 2003) e que pacientes alcoolistas com história prévia de atos suicidas, em comparação àqueles que não tem comportamento suicida prévio, apresentam maior probabilidade de suicídio. A maior ocorrência do uso de álcool nos pacientes com tentativas de suicídio violentas mostra que também devemos estar atentos a esta população onde a probabilidade de suicídio é maior do que no grupo que não tem história prévia conforme descrito na literatura. A comorbidade de doença afetiva com o abuso de substâncias está associado ao comportamento suicida, mas ela se torna ainda mais expressiva nos estados depressivos (Tondo et al., 1999).

Apesar de alguns estudos discordarem do fato de não encontrarmos diferenças significativas nas frequências dos genótipos e do alelo “s” entre os pacientes estudados e o grupo controle, este dado está de acordo aos achados em uma amostra de pacientes brasileiros com depressão maior, distímia e transtorno afetivo bipolar (Oliveira et al., 2000). A diferença verificada entre os estudos pode ser explicada pelo fato da distribuição dos alelos e dos genótipos poderem variar entre as diferentes raças e etnias (Gelenter et al., 1997) variando também o grau de associação deste polimorfismo com o comportamento suicida (Hranilovic et al., 2003). Os resultados conflitantes nos estudos da genética em psiquiatria têm sido atribuídos ao alto risco de falso-positivos e falso-negativos devido a vícios (vieses) relacionados a estratificações étnicas (Bellivier et al., 2002; Campi-Azevedo et al., 2003). Dessa forma é compreensível a possibilidade de haver interferência da estratificação étnica em nossos resultados. Mas é importante mencionar que o Brasil é uma das populações mais heterogêneas do planeta. Esse é o resultado de cinco séculos de miscigenação de povos de três continentes: o Europeu, o Africano e o Ameríndio que gerou a natureza trihíbrida da

população brasileira. Segundo os trabalhos de Parra e colaboradores (2003) no Brasil não se pode avaliar a ancestralidade genômica a nível individual, examinando-se apenas a cor da pele. O uso do Controle Genômico para estudos de associação (Devlin and Roeder, 1999) serve para avaliar a possível interferência étnica neste tipo de análise. De acordo com essa metodologia entendemos que não houve vício de estratificação étnica em nossos resultados.

O fato de termos encontrado uma maior frequência de tentativas de suicídio naqueles pacientes deprimidos que possuem um ou dois alelos curtos sugere que se trata de uma população “especial” que pode ter uma vulnerabilidade genética, corroborando a idéia do gene transportador da serotonina ser um gene de suscetibilidade ao comportamento suicida. A detecção desta população é importante, uma vez que medidas preventivas podem ser sugeridas para estes indivíduos.

Embora nossos resultados tenham sido significativos há limitações em nosso estudo (tamanho amostral e seleção do grupo controle) mas até o presente momento não se identificou um único gene ou grupo de genes que possa ser responsabilizado por tal comportamento ou qualquer outro tipo de doença ou sintomatologia psiquiátrica (Arango et al., 2003). Sabemos que o comportamento suicida bem como as doenças psiquiátricas têm origem multifatorial, onde fatores biológicos, genéticos, familiares e sociais estão integrados dentro de um modelo onde cada elemento tem uma pequena mas significativa participação como fator preditivo de risco. Dessa forma, tais estudos necessitam ser replicados em outras populações e com um número maior de participantes para uma melhor compreensão do papel da serotonina e os genes envolvidos em tais situações que poderá nos auxiliar na prevenção deste evento que causa tanta morbidade e aumento da mortalidade.

Tabela 1. Fatores demográficos e frequência dos alelos and genótipos em pacientes e controles.

| Variáveis* | Pacientes (n= 84) | Controles (n= 152) | χ^2 | Valor p |
|---------------------|------------------------------|-------------------------------|----------|----------------|
| Sexo | | | 5.16 | 0.023 |
| Homens | 48 (57.2) | 109 (71.7) | | |
| Mulheres | 36 (42,8) | 43 (28.3) | | |
| Raça | | | 5.30 | 0.076 |
| Branco | 64 (76.2) | 130 (85.5) | | |
| Misto | 15 (17.9) | 12 (07.9) | | |
| Negra | 05 (05,9) | 10 (06.6) | | |
| Estado civil | | | 16.05 | 0.001 |
| Casado | 45 (53.6) | 80 (52.6) | | |
| Solteiro | 20 (23.8) | 62 (40.8) | | |
| Separado | 18 (21.4) | 09 (5.9) | | |
| Viúvo | 01 (1,2) | 01 (0.7) | | |
| Escolaridade | | | 7.60 | 0.022 |
| Fundamental | 57 (67.9) | 75 (49.3) | | |
| Médio | 21 (25.0) | 62 (40.8) | | |
| Superior | 06 (7.1) | 15 (9.9) | | |
| Ocupação | | | 25.85 | < 0.001 |
| Empregado | 39 (46.4) | 110 (72.4) | | |
| Desempregado | 36 (42.9) | 42 (27.6) | | |
| Aposentado | 09 (10.7) | 0 (0.0) | | |
| Genótipo | | | 0.94 | 0.625 |
| LL | 26 (31.0) | 56 (36.8) | | |
| LS | 36 (42.8) | 57 (37.5) | | |
| SS | 22 (26.2) | 39 (25.7) | | |
| Alelo | | | 0.45 | 0.502 |
| l | 88 (52.4) | 169 (55.6) | | |
| s | 80 (47.6) | 135 (44.4) | | |

* Variáveis apresentadas como frequência (porcentagem)

Genótipo SS and LS vs genótipo LL: (χ^2 0.394; p= 0.363, OR=1.301, 95% CI=0.737-2.296)

Alelo s vs alelo l: (χ^2 0.45; p= 0.502, OR=1.138, 95% CI= 0.780-1.661)

Tabela 2. Tipo de tentativa de suicídio comparada ao uso de álcool, dependência de álcool, sexo e distribuição das frequências alélicas e genotípicas.

| Variáveis | Tipo de tentativa | | χ^2 | valor p |
|-----------------------------|-------------------|--------------|----------|---------|
| | Violenta | Não-violenta | | |
| Uso de álcool na TS | | | | |
| Uso de álcool | 26 (59.1) | 13 (32.5) | 5.96 | 0.015 |
| Sem uso de álcool | 18 (40.9) | 27 (67.5) | | |
| Sexo | | | | |
| Homens | 31 (70.5) | 17 (42.5) | 6.69 | 0.010 |
| Mulheres | 13 (29.5) | 23 (57.5) | | |
| Genótipo^a | | | | |
| LL | 10 (22.7) | 16 (40.0) | 2.93 | 0.231 |
| LS | 21 (47.7) | 15 (37.5) | | |
| SS | 13 (29.5) | 09 (22.5) | | |
| Alelo^b | | | | |
| l | 41 (46.6) | 47 (58.75) | 2.48 | 0.115 |
| s | 47 (53.4) | 33 (41.25) | | |

* Variáveis apresentadas como frequência (porcentagem)

Referências Bibliográficas

Anguelova M., Benkelfat C. and Turecki G., 2003. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior. *Molecular Psychiatry* 8, 646–653.

Angst J., Angst F. and Stassen H.H., 1999. Suicide Risk in Patients With Major Depressive Disorder. *Journal of Clinical Psychiatry* 60(suppl 2), 57-62.

Arango V., Huang Y., Underwood M.D., Mann J.J., 2003. Genetics of the serotonin system in suicidal behavior. *Journal of Psychiatric Research* 37, 375-386.

Asberg M., Traskman L., Thoren P., 1976. 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Archives of General Psychiatry*, 33, 1193–1197.

Baca-García E., Vaquero C., Diaz-Sastre C., Saiz-Ruiz J., Fernandez-Piqueiras J., de Leon., 2002. A Gender-Specific Association between the Serotonin Transporter Gene and Suicide Attempts. *Neuropsychopharmacology* 26 (5), 692–695.

Bellivier F., Szoke A., Henry C., Lacoste J., Bottos C., Nosten B., Hardy P., Rouillon F., Launay M., Laplanche J., Leboyer M., 2000. Possible Association between Serotonin Transporter Gene Polymorphism and Violent Suicidal Behavior in Mood Disorders. *Biological Psychiatry* 48, 319–322.

Bellivier F., Roy I., Leboyer M., 2002. Serotonin transporter gene polymorphisms and affective disorder-related phenotypes. *Current Opinion in Psychiatry*, 15, 49-58.

Blair-West G.W., Cantor C.H., Mellsop G.W., Eyeson-Annan M.L., 1999. Lifetime suicide risk in major depression: sex and age determinants. *Journal of Affective Disorder* 55, 171–178.

Bondy B., Erfurth A., Jonge S., Kruger M., Meyer H., 2000. Possible association of the short allele of the serotonin transporter promoter gene polymorphism (5-HTTLPR) with violent suicide. *Molecular Psychiatry* 5, 193–195.

Campi-Azevedo A.C., Boson W., De Marco L., Romano-Silva M.A., Corrêa H., 2003. Association of the serotonin transporter promoter polymorphism with suicidal behavior. *Molecular Psychiatry* 8, 899–900.

Caspi A., Sugden K., Moffitt T.E., Taylor A., Craig I.W., Harrington H., McClay J., Mill J., Martin J., Braithwaite A., Poulton R., 2003. Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* 301, 386-389.

Courtet P., Baud P., Abbar M., Boulenger J.P., Castelneau D., Mouthon D., Malafosse A., Buresi C., 2001. Association between violent suicidal behavior and the low activity allele of the serotonin transporter gene. *Molecular Psychiatry* 6, 338–341.

Courtet P., Picot M., Bellivier F., Torres S., Jollant F., Michelon C., Castelneau D. Astruc B., Buresi C., Malafosse A., 2004. Serotonin Transporter Gene May be Involved in Short Term Risk of Subsequent Suicide Attempts. *Biological Psychiatry* 55, 46-51.

Demirbas H., Çelik S., İlhan Ö.İ., Dogan Y.B., 2003. An examination of Suicide Probability In Alcoholic In-Patients. *Alcohol & Alcoholism* 38, 67-70.

Du L., Faludi G., Palkovits M., Demeter E., Bakish D., Lapierre Y., Sótonyi P., Hrdina P., 1999. Frequency of Long Allele in Serotonin Transporter Gene Is Increased in Depressed Suicide Victims. *Biological Psychiatry* 46, 196–201.

Fitch D., Lesage A., Seguin M., Tousignant M., Benkelfat C., Rouleau G.A, Turecki G., 2001. Suicide and the serotonin transporter gene. *Molecular Psychiatry* 6, 127–128.

Geijer T., Frisch A., Persson M.L., Wasserman D., Rockah R., Michaelovsky E., Apter A., Jonsson E.G., Nothen M.M., Weizman A., 2000. Search for association between suicide attempt and serotonergic polymorphisms. *Psychiatric Genetics* 10, 19–26.

Gelenter J., Cubells J.F., Kidd J.R., Pakstis A.J., Kidd K.K, 1997. Populations Studies of Polymorphisms of the Serotonin Transporter Protein Gene. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 88, 61-66.

Gorwood P., Batel P., Ades J., Hamon M., Boni C., 2000. Serotonin Transporter Gene Polymorphisms, Alcoholism, and Suicidal Behavior. *Biological Psychiatry* 48, 259–264.

Guze SB, Robins E., 1970. Suicide and primary affective disorders. *British of Journal Psychiatry*; 117, 437–438.

Heils A., Teufel A., Petri S., Stober G., Riederer P., Bengel D., Lesch P., 1996. Allelic Variation of Human Serotonin Transporter Gene Expression. *Journal of Neurochemistry* 66 (6), 2621–2624.

Hranilovic D., Stefulj J., Furac I., Kubat M., Balijsa M., Jernej B., 2003. Serotonin Transporter Gene Promoter (5-HTTLPR) and Intron 2 (VNTR) Polymorphism in Croatian Suicide Victims. *Biological Psychiatry* 54, 884-889.

Lesch K.P., Balling U., Gross J., Strauss K., Wollosin B.L., Murphy, D.L., Riederer P., 1994. Organization of the human serotonin transporter gene. *Journal of Neural Transmission* 95, 157-162.

Lesch K.P., Bengel D., Heils A., Sabol S.Z., Greenberg B.D., Petri S., Benjamin J., Muller C.R., Hamer D.H., Murphy D.L., 1996; Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274, 1527–1531.

Malone K.M., Haas G.L., Sweeney J.A., Mann J.J., 1995. Major depression and the risk of attempted suicide. *Journal of Affective Disorder* 34, 173–185.

Mann J.J., 1998. The neurobiology of suicide. *Nature Medicine* 4, 25–30.

Mann J.J., 1999a. Role of the Serotonergic System in the Pathogenesis of Major Depression and Suicidal Behavior. *Neuropsychopharmacology* 21, 99S–105S.

Mann J.J., Oquendo M., Underwood M.D., Arango V., 1999b. The Neurobiology of Suicide Risk: A review for the Clinician. *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (suppl 2), 7-11.

Mann J.J., Waternaux C., Haas G.L., Malone K.M., 1999c. Toward a Clinical Model of Suicidal Behavior in Psychiatric Patients. *American Journal of Psychiatry* 156,181–189.

Mann J.J., Huang Y.Y., Underwood M.D., Kassir S.A., Oppenheim S., Kelly T.M., Dwork A.J., Arango V., 2000. A Serotonin Transporter Gene Promoter Polymorphism (5-HTTLPR) and Prefrontal Cortical Binding in Major Depression and Suicide. *Archives of General Psychiatry* 57, 729–738.

Mann J.J., Brent D.A., Arango V., 2001. The Neurobiology and Genetics of Suicide and Attempted Suicide: A Focus on the Serotonergic System. *Neuropsychopharmacology* 24, 467-477

Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.S.,1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 16 (7), 1215.

Oliveira J.R.M., Carvalho D.R. Pontual D., Gallindo R.M., Sougey E.B., Gentil V., Lafer B., Maia L.G.S., Morais Jr M.A., Matioli S., Vallada H., Moreno R.A, Nishimura A., Otto P.A., Passos-Bueno M.R., Zatz M., 2000. Analysis of the serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR) in Brazilian patients affected by dystimia, major depression and bipolar disorder. *Molecular Psychiatry* 5(4), 348-349.

Pirkola S., Isometsä E.T., Heikkinen M.E., Lönnqvist J. K., 2000. Suicides of Alcohol Misusers and Non-Misusers in a Nationwide Population. *Alcohol & Alcoholism* 35, 70-75.

Preuss U.W., Koller G., Soyka M., Bondy B., 2001. Association between Suicide Attempts and 5-HTTLPR-S-allele in Alcohol-Dependent and Control Subjects: Further Evidence from a German Alcohol-Dependent Inpatient Sample. *Biological Psychiatry* 50, 636–639.

Rujescu D., Giegling I., Sato T., Moeller H.J., 2001. A polymorphism in the promoter of the serotonin transporter gene is not associated with suicidal behavior. *Psychiatric Genetics* 11, 169–172.

Russ MJ, Lachman HM, Kashdan T, Saito T, Bajmakovic K., 2000. Analysis of catechol-O-methyltransferase and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in patients at risk for suicide. *Psychiatry Research* 93: 73–78.

Simpson S.G., Jamison K.R., 1999. The Risk of Suicide in Patients With Bipolar Disorders. *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (suppl 2), 53-56.

Tondo L., Baldessarini R. J., Hennen J., Minnai G. P., . Salis P., Scamonatti L., Masia M., Ghiani C. Mannu P., 1999. Suicide Attempts in Major Affective Disorder Patients With Comorbid Substance Use Disorders. *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (suppl 2), 63-69.

Turecki G., 2001. Suicidal behavior: is there a genetic predisposition? *Bipolar Disorders* 3, 335–349.

Van Heeringen K., 2003. The Neurobiology of Suicide and Suicidality. *Canadian Journal of Psychiatry* 48, 292–300.

World Health Organization, 2002. *World Health Report. Health Systems: Improving Performance*. WHO, Geneva.

**Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with
the serotonin transporter polymorphism (HTTLPR)**

Jair Segal^{a,b}, Clarissa Pujol^a, Alan Birck^d, Gisele Gus Manfro^c, Sandra Leistner-Segal^{a,*}

- a Post graduate Program in Medical Sciences: Psychiatry. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil
- b Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Largo Theodore Herzl, s/n^o; Porto Alegre, RS, Brazil
- c Post graduate Program in Medical Sciences: Psychiatry. Universidade Federal do Rio Grande do Sul and Psychiatry Service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos 2350, 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil
- d Biostatistics consultant. Research Support Unit. Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre.

* Address for correspondence:

Dr. Sandra Leistner-Segal
Medical Genetics Service
Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Rua Ramiro Barcelos 2350
ZIP Code 90035-003
Porto Alegre, RS
Brazil
Phone: +55-51 21018011
Fax: +55-51 21018010
e-mail: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Abstract

A polymorphism in the serotonin transporter gene (5-HTTLPR) is being studied for association with suicidal behavior. We verified the relationship between the frequencies of the 5-HTTLPR alleles in 84 depressed patients with suicide attempts compared to 152 controls. We found a higher risk for suicide behavior among depressed patients bearing SS or LS genotypes.

Key words: suicide attempt, serotonin transporter gene (5-HTT), polymorphism, serotonin transporter gene linked polymorphic region (5-HTTLPR), depression

1. Introduction

Suicide is a serious public health problem worldwide, and several studies demonstrated that it usually appears associated with mental disorders, such as major depression in 40% of the cases (Turecki, 2001).

There is evidence that the serotonergic system is partly under genetic control. Thus, the risk for suicidal behavior and alcohol/substance abuse would have a genetic predisposition mediated by this neurotransmitter system (Mann et al. 1999).

The serotonin (5-HTT) transporter gene is located on chromosome 17q11.1-q12 (Lesch, 1994) and has been appointed as a candidate gene for suicidal behavior (Mann, 2001). A restriction fragment length polymorphism (RFLP) corresponding to a 44 base pairs insertion/deletion in the promoter region of this gene (5-HTTLPR), originates two alleles (l- long and s-short). The “l” allele has been associated with a two to three-fold more efficient transcription of the gene, compared to the “s” allele (Heils et al., 1996).

Anguelova et al. (2003), in a systematic review found an association between the “s” allele with suicide victims or attempters compared to controls. These results were not replicated in a recently meta-analysis due to differences in the methodology (Lin and Tsai, 2004). This analysis provided significant evidence supporting the association of the short allele with violent suicidal behavior in the psychiatric population.

We aimed to verify the association between the frequencies of the two alleles of the 5-HTTLPR polymorphism in depressed patients who attempted suicide, compared to controls.

2. Material and Methods

We studied 84 patients (48 males and 36 females) older than 18 years (mean age = 35.39 ± 13) 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 (Sheehan et al., 1998). The Beck's Suicidal Intention Scale (SIS) was used for the patients, including 15 items, each scored 0 to 2 (Beck et al., 1974).

Suicide attempts were classified as violent (n=44) or non-violent (n=40). Injuries by cutting (n=06), piercing objects (n=02), gunfire (n=09), poisoning by chemicals (n=10), burns (n=10), hanging (n=01), fall from heights (n=04) and car hit (n=02) were considered violent attempts, while all non-violent attempts were due to drug intoxications.

Controls consisted of 152 blood donors (109 male and 43 females) to the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Blood Bank, with mean age of 35.65 ± 10 years. This study was approved by the institutional Ethics Committee and all patients have signed Informed Consent.

Genetic studies consisted of amplification of the promoter region of the 5-HTT gene containing the s and l polymorphic alleles according to Heils et al. (1996).

In the statistical analysis, frequency and distribution of alleles and genotypes in patients and controls were compared by Chi-square (χ^2) and means by Student's t test. A dominant-recessive construct for the 5-HTT gene was done, so that the LL genotype was compared with the combined LS and SS genotypes, based on Lesch et al., 1996. Categorical data is presented as percentage and continuous data, as means and standard deviations. The statistical significance level adopted was 5%. Data was analyzed using the SPSS 10.0 (Statistical Package for Social Science).

3. Results

Sex distribution, race, sociocultural parameters and frequencies of alleles and genotypes in patients and controls are shown in Table 1. We found higher risk for suicide behavior among depressed patients being carriers of one or two short alleles. No significant difference in the frequency of the 5-HTTLPR polymorphism was found between patients and controls, both regarding genotypes and frequency of the short allele.

In 31% of the studied population, drug addiction (n=15) and alcoholism (n=26) were comorbidities. Alcohol abuse concomitantly to the suicidal act was encountered more often in patients with violent suicide (59.1%) compared to those who attempted suicide by non-violent means (32.5%) (χ^2 5.96, p= 0.015). In 70.5% of cases of violent suicide attempt the subjects were male, while in the non-violent group 57.5% were female (χ^2 6.69, p= 0.010). Regarding genotype frequency, patients with violent suicide attempts (LL 22.7%, LS 47.7%, SS 29.5%) were not different from those with non-violent attempts (LL 40%, LS 37.5%, SS 22.5%) (χ^2 2.93, p= 0.231). According to allele frequency, no correlations were found among patients with violent attempt (allele "l" 46.6%, allele "s" 53.4%) and non-violent attempt (allele "l" 58.75%, allele "s" 41.25%) (χ^2 2.48, p= 0.115). The SIS scores for the different genotypes were not statistically significant.

4. Discussion

The main finding of our study is the observation of a higher risk for suicide behavior among depressed patients carrying the SS or SL genotypes, according to the results of many studies reported in the literature (Lin and Tsai, 2004).

No significant difference in the frequency of the 5-HTTLPR polymorphism was found between patients and controls, both regarding genotypes and frequency of the short allele.

The conflicting results of genetic studies in psychiatry have been attributed to the high risk for biases related to ethnic stratification (Bellivier et al., 2002). The possible interference of ethnic differences in our results is understandable. Nevertheless, it is important to mention that, Brazilians are one of the most heterogeneous populations in the world, which is the result of five centuries of interethnic crosses of peoples from Europe, Africa and Amerindians, which generates the trihybrid nature of our population. Color of skin is a poor predictor of genomic ancestry and can lead to misclassification of ethnic origin (Parra et al., 2003). We evaluated the use of Genomic Control for Association Studies to check for possible ethnical factors interference in our results (Devlin and Roeder, 1999). According to the proposed methodology no ethnical influences were found in our study.

The increase of alcohol intake in patients with violent suicide attempts show that we must pay attention to this population, although there was no association between alcohol abuse and genotype and the “s” allele.

The fact that we have found an increased frequency of depressed patients with suicide attempts having one or two short alleles suggests that it is a special population that might have some genetic vulnerability, corroborating the idea that the serotonin transporter gene might be a susceptibility gene for suicidal behavior.

Such studies need to be replicated in other populations and with a larger number of participants, for a better comprehension regarding the roles of serotonin system and the genes involved in suicide attempt.

Table 1. Demographic data and frequency of alleles and genotypes in patients and controls.

| Variables* | Subjects (n=84) | Controls (n=152) | χ^2 | p-value |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|----------|----------------|
| Sex | | | 5.16 | 0.023 |
| Male | 48 (57.2) | 109 (71.7) | | |
| Female | 36 (42,8) | 43 (28.3) | | |
| Race | | | 5.30 | 0.076 |
| White | 64 (76.2) | 130 (85.5) | | |
| Mulatto | 15 (17.9) | 12 (07.9) | | |
| Black | 05 (05,9) | 10 (06.6) | | |
| Marital Status | | | 16.05 | 0.001 |
| Married | 45 (53.6) | 80 (52.6) | | |
| Single | 20 (23.8) | 62 (40.8) | | |
| Divorced/Separated | 18 (21.4) | 09 (5.9) | | |
| Widowed | 01 (1,2) | 01 (0.7) | | |
| Scholarship | | | 7.60 | 0.022 |
| Elementary school | 57 (67.9) | 75 (49.3) | | |
| High school | 21 (25.0) | 62 (40.8) | | |
| College | 06 (7.1) | 15 (9.9) | | |
| Job | | | 25.85 | < 0.001 |
| Employed | 39 (46.4) | 110 (72.4) | | |
| Unemployed | 36 (42.9) | 42 (27.6) | | |
| Retired | 09 (10.7) | 0 (0.0) | | |
| Genotype | | | 0.94 | 0.625 |
| LL | 26 (31.0) | 56 (36.8) | | |
| LS | 36 (42.8) | 57 (37.5) | | |
| SS | 22 (26.2) | 39 (25.7) | | |
| Allele | | | 0.45 | 0.502 |
| l | 88 (52.4) | 169 (55.6) | | |
| s | 80 (47.6) | 135 (44.4) | | |

* Variables presented as frequency (percentage)

Genotype SS and LS vs genotype LL: (χ^2 0.394; p= 0.363, OR=1.301, 95% CI=0.737-2.296)

Allele s vs allele l: (χ^2 0.45; p= 0.502, OR=1.138, 95% CI= 0.780-1.661)

Table 2. Type of suicide compared to alcohol usage, alcohol dependency, sex and distribution of allelic and genotypic frequencies.

| Variables* | Type of attempt | | χ^2 | p value |
|-----------------------------|-----------------|-------------|----------|---------|
| | Violent | Non-violent | | |
| Use of Alcohol in SA | | | | |
| Use of alcohol | 26 (59.1) | 13 (32.5) | 5.96 | 0.015 |
| No alcohol use | 18 (40.9) | 27 (67.5) | | |
| Sex | | | | |
| Male | 31 (70.5) | 17 (42.5) | 6.69 | 0.010 |
| Female | 13 (29.5) | 23 (57.5) | | |
| Genotype^a | | | | |
| LL | 10 (22.7) | 16 (40.0) | 2.93 | 0.231 |
| LS | 21 (47.7) | 15 (37.5) | | |
| SS | 13 (29.5) | 09 (22.5) | | |
| Allele^b | | | | |
| l | 41 (46.6) | 47 (58.75) | 2.48 | 0.115 |
| s | 47 (53.4) | 33 (41.25) | | |

* Variables presented as frequency (percentage)

Acknowledgements

This work received financial support from FIPE-HCPA (grant # 02-097). C. Pujol was supported with a BIC scholarship from FAPERGS.

References

- Anguelova M., Benkelfat C., Turecki G., 2003. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior. *Molecular Psychiatry* 8, 646–653.
- Beck A.T., Shuyler D., Herman I., 1974. Development of suicidal intent scales. In: Beck A.T. (Ed), *The Prediction of Suicide*, Charles Press, Philadelphia, PA, pp 45-56.
- Bellivier F., Roy I., Leboyer M., 2002. Serotonin transporter gene polymorphisms and affective disorder-related phenotypes. *Current Opinion in Psychiatry* 15, 49-58.
- Devlin B. and Roeder K., 1999. Genomic control for association studies. *Biometrics* 55, 997-1004.
- Heils A., Teufel A., Petri S., Stober G., Riederer P., Bengel D., Lesch P., 1996. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of Neurochemistry* 66 (6), 2621–2624.
- Lesch K.P., Balling U., Gross J., Strauss K., Wollosin B.L., Murphy, D.L., Riederer P., 1994. Organization of the human serotonin transporter gene. *Journal of Neural Transmission* 95, 157-162.

- Lin P.-Y and Tsai G., 2004. Association between serotonin transporter gene promoter polymorphism and suicide: result of a meta-analysis. *Biological Psychiatry* 55, 1023-1030.
- Mann J.J., Waternaux C., Haas G.L., Malone K.M., 1999. Toward a clinical model of suicidal behavior in psychiatric patients. *American Journal of Psychiatry* 156,181–189.
- Mann J.J., Brent D.A., Arango V.,2001. The Neurobiology and genetics of suicide and attempted suicide: A focus on the serotonergic system. *Neuropsychopharmacology* 24, 467-477
- Parra F.C., Amado R.C., Lambertucci J.R., Rocha J., Antunes C.M. and Pena S.D.J., 2003. Color and genomic ancestry in Brazilians. *PNAS*, 100 (1), 177-182.
- Sheehan D.V., Lecrubier Y., Sheehan K.H., Amorim P., Janavs J., Weiller E., Hergueta T., Baker R., Dumbar G.C. 1998. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *Journal of Clinical Psychiatry* 59 (suppl 20), 22-23.
- Turecki G., 2001. Suicidal behavior: is there a genetic predisposition? *Bipolar Disorders* 3, 335–349.

Considerações Finais

O comportamento suicida tem sido o foco de atenção de diversos pesquisadores ao redor do mundo devido a sua impressionante frequência. Mesmo já havendo definições sobre os fatores de risco e proteção do suicídio, estes ainda se constituem insuficientes na prevenção e no tratamento do problema. 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 prevenível. Todos os esforços têm sido feitos para a pesquisa deste comportamento. A Organização Mundial da Saúde vêm se mostrando atenta ao fato, estimulando projetos de pesquisa e prevenção. O desenvolvimento de novas tecnologias de avaliação como os estudos de neuroimagens, do tomógrafo por emissão de pósitrons, dos estudos bioquímicos e genéticos nos oferecem meios para uma melhor compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos no suicídio e nas tentativas de suicídio. Estas tecnologias podem fornecer a possibilidade de uma intervenção terapêutica mais precoce e oportuna em pacientes com alto risco para suicídio.

Em um país como o nosso, mesmo em desenvolvimento, a pesquisa se mostra viável e relevante visto que incidência anual de suicídio no Brasil e em especial no Rio Grande do Sul se aproxima da incidência dos países desenvolvidos. Além dos vários estressores sociais como o desemprego, temos o alcoolismo, a dificuldade de acesso ao atendimento médico e principalmente psiquiátrico como fatores que podem aumentar nosso risco a tal comportamento. Além disso, em um país com as características do Brasil é difícil avaliar a distribuição sem considerar as diferenças étnicas e a miscigenação conferindo um grau de heterogeneidade variável entre as regiões. Vários estudos referentes ao polimorfismo do gene transportador da serotonina têm resultados diferentes entre diferentes grupos étnicos ao redor do mundo.

O fato de termos encontrado uma associação do alelo “s” em sujeitos deprimidos que tentaram o suicídio sugere que se trata de uma população “especial” que pode ter uma vulnerabilidade genética, corroborando a idéia do gene transportador da serotonina ser um gene de suscetibilidade ao comportamento suicida. A detecção desta população é importante, uma vez que medidas preventivas podem ser sugeridas para estes indivíduos. A maior ocorrência do uso de álcool nos pacientes com tentativas de suicídio violentas mostra que também devemos estar atentos a esta população onde a probabilidade de suicídio é maior do que no grupo que não tem história prévia. É evidente que mais estudos precisam ser realizados, mas esse trabalho mostra o quanto devemos estar atentos. A pesquisa com genes candidatos pode ser um precioso aliado para a prevenção do comportamento suicida, dos quadros depressivos e comorbidos.

9. Divulgação parcial dos resultados

9.1 Eventos

IX Jornada de Psiquiatria da Região Sul, 2003: “Aspectos Moleculares do suicídio: análise do gene transportador da serotonina”.

23^a Semana Científica do HCPA, 2003: “Aspectos Moleculares do suicídio: análise do gene transportador da serotonina”.

APÊNDICE A
Termo de Consentimento Informado

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Informado

Projeto de Pesquisa: “ASPECTOS MOLECULARES DO SUICÍDIO: ANÁLISE DO GENE TRANSPORTADOR DA SEROTONINA”

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 10 ml 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.

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

O presente estudo não se propõe a trazer benefícios diretos e imediatos aos pacientes investigados. Mas o estudo pode contribuir para uma melhor compreensão a respeito do suicídio, que no futuro, leve a uma melhor definição do diagnóstico, do tratamento e do prognóstico dos pacientes e ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais efetivas para esta situação.

Recusa ou Descontinuação da participação

Eu entendo que a participação neste estudo é voluntária e que posso, a qualquer momento, retirar meu consentimento e interromper minha participação. A recusa em participar ou a desistência não ocasionará nenhum prejuízo aos cuidados médicos que estou

recebendo nem está condicionado a continuidade 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: Dr. Jair Segal, psiquiatra do HPS (Fone: 32897999).

Anexo A

PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO PARA O SUICÍDIO

Anexo A – Protocolo de Investigação para o Suicídio (Elaborado por Jair Segal)**Dados Básicos da Identificação:**

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:

Anexo B

MINI INTERNACIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW