

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS E ASPECTOS COMPORTAMENTAIS
RELACIONADOS À DEPRESSÃO**

Samara Marques Dos Reis

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (Genética e Biologia Molecular).

Orientador: Dr. José Artur Bogo Chies

Coorientador: Dr. Andrés Delgado Canedo

Porto Alegre

2023

Dedico esta tese aos meus filhos
Mariana e Davi, ao meu esposo Leandro e
meus pais, que sempre apoiaram minha
carreira científica.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que contribuíram para a conclusão desta tese. Seus apoios, orientações e incentivos foram inestimáveis ao longo de minha jornada acadêmica. Neste momento, gostaria de dedicar algumas palavras de agradecimento às pessoas e instituições que foram fundamentais nessa conquista.

Primeiramente, gostaria de agradecer ao meu orientador José Arthur por sua orientação excepcional, expertise na área e paciência durante todo o processo de pesquisa. Suas valiosas sugestões e feedbacks construtivos foram fundamentais para aprimorar minha compreensão e desenvolver meu trabalho de maneira eficiente.

Ao meu coorientador Andrés, por esses 12 anos de parceria, orientação e ensinamentos. Sei o quanto a sua ajuda foi fundamental nessa caminhada acadêmica. Serei imensamente grata por todo carinho, atenção e ensinamentos.

Agradeço aos membros da banca examinadora por dedicarem seu tempo e experiência para avaliar minha tese. Suas observações e questionamentos enriqueceram o trabalho, proporcionando uma visão mais ampla e crítica do assunto abordado.

Agradeço também aos professores, coordenadores e demais funcionários, em especial o Elmo, que forneceram recursos e suporte necessário para a realização deste estudo. Sua dedicação e comprometimento com a excelência acadêmica foram essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus colegas e amigos do Serviço de Provisãoamento do Hospital de Guarnição de Alegrete, Flávio Silva, Elda, Suzete, Doca, Machado, Bruno, César e Guilherme, que colaboraram para que a minha ausência não fosse sentida, auxiliaram-me no início do Doutorado, o meu muito obrigada!

Ao Coronel Otávio, Coronel Burgarelli e Coronel Weber que permitiram uma flexibilização nos meus horários de trabalho. Gratidão por tudo, e que possa auxiliar ao próximo assim como eles me ajudaram.

À Fabiane e ao Clodoaldo que me ajudaram na coleta dos dados, e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos pacientes do CAPS II, e pessoas que participaram espontaneamente da pesquisa. A equipe do CAPS II que me acolheu e auxiliou na realização dessa pesquisa. Às minhas colegas Ana e Charlene que auxiliaram de diversas formas, principalmente com apoio e carinho.

À Iara, minha tia do coração, que disponibilizou sua casa para minha estadia durante as

aulas, sempre pronta a me ajudar, deu todo seu apoio e carinho durante toda a minha vida acadêmica. É um exemplo de mulher, honestidade e humanidade, em quem me espelho.

Ao meu amado esposo Leandro, que me estimulou e auxiliou nessa caminhada. Sempre suprimindo minha falta com nossos filhos.

Não posso deixar de mencionar meus pais e filhos (Mariana e Davi), cujo amor, encorajamento e compreensão foram inabaláveis. Suas palavras de estímulo e apoio moral foram a motivação necessária nos momentos mais desafiadores.

A todos vocês, meu sincero agradecimento. Sem a ajuda de cada um de vocês, este trabalho não teria sido possível. Estou profundamente grata por ter tido a oportunidade de realizar essa pesquisa e contribuir para o conhecimento em minha área de estudo.

“A persistência é o caminho do êxito”.

Charles Chaplin

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

CEP: Comitê de Ética e Pesquisa

CID: Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde

DNA: Ácido desoxirribonucleico

GC: Glicocorticóide

GWA: *Genome-wide association*

HPA: Hipotálamo-hipófise-adrenal

HPRC: Consórcio de Referência do Pangenoma Humano

IMC: Índice de massa corporal

NCBI: National Center for Biotechnology Information

NR3C1: Nuclear Receptor Subfamily 3, Group C, Member 1

OMS: Organização Mundial da Saúde

5-HT: Serotonina

SLA6C2: Solute Carrier Family 6 Member 2

SLA6C3: Solute Carrier Family 6 Member 3

SN: Substância Nigra

SNP: Polimorfismo de nucleotídeo único

TCL: Termo de consentimento livre e esclarecido

TPH: Triptofano hidroxilase

TPH-2: Triptofano Hidroxilase-2

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Biossíntese da Serotonina	20
Figura 2 - Síntese da Dopamina	22

RESUMO

Esta tese aborda o tema polimorfismos genéticos e aspectos comportamentais relacionados à depressão, através de três manuscritos que abordam essa temática. Nessa perspectiva, os seguintes temas foram discutidos, o primeiro manuscrito desenvolveu uma abordagem de pesquisa para identificar marcadores potenciais de predisposição à doença (depressão), usando a correlação entre os dados epidemiológicos e as frequências de polimorfismos na população. Três grupos de genes foram avaliados para testar essa premissa, sendo: variantes relacionadas à depressão encontradas através da metodologia GWAS; seis genes não relacionados à depressão e quatro genes relacionados com depressão em estudos caso-controle de genotipagem (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* e *SLC6A3*). Em termos das variantes relacionadas à depressão nos ensaios de GWAS, nove dos 82 SNPs avaliados demonstraram uma correlação positiva entre a frequência alélica e genotípicas destes com as taxas de depressão obtidas a partir de dados epidemiológicos da Organização Mundial da Saúde (OMS). Nenhum dos 286 SNPs mapeados nos genes não relacionados com depressão (grupo neutro) foi correlacionado com as taxas de depressão, como esperado. Em termos do grupo denominado “prova de conceito”, dois SNPs do gene *TPH2*, 26 SNPs do gene *NR3C1* e quatro SNPs do gene *SLC6A3* mostraram-se estatisticamente relacionados com as taxas de depressão de estudos epidemiológicos. Essas correlações, junto aos dados da literatura envolvendo esses SNPs, apoiam esta estratégia como um método complementar para identificar possíveis variantes causadoras da doença. No que se refere ao segundo manuscrito, esse relacionou o aspecto nutricional e o estilo de vida de pacientes depressivos com os sintomas apresentados, por meio de um estudo caso-controle. A amostra foi composta por 389 indivíduos (217 depressivos e 172 controles) com média de idade de $45,6 \pm 15,6$ anos (variando de 16 a 83 anos), sendo a maioria do sexo feminino (78,1%). Nos resultados obtidos, a maioria dos pacientes com depressão apresentou sintomas graves de depressão. A depressão associou-se com maior índice de massa corporal (IMC), obesidade, menor consumo de álcool e maior tabagismo. No terceiro manuscrito, ainda em fase parcial, exploramos a influência de uma dieta deficiente em triptofano e polimorfismos do gene *TPH2* no desenvolvimento da depressão. Os dados preliminares sugerem uma associação entre uma dieta com baixo teor de triptofano e o desenvolvimento e sintomatologia da depressão. Estudos subsequentes envolverão a genotipagem de três SNPs do gene da Triptofano Hidroxilase 2 (*TPH2*) para avaliar seu papel no desenvolvimento da patologia. Essa pesquisa revela uma abordagem interdisciplinar para entender a depressão, explorando não apenas fatores genéticos, mas também aspectos nutricionais e de estilo de vida em relação à condição. Relacionando os dados obtidos, nossos resultados colaboram com hipótese que variantes genéticas e fatores nutricionais desempenham um papel importante na depressão, aportando novos dados para que pesquisas que investiguem estas relações, de forma mais aprofundada, possam ajudar na diminuição dos sintomas desta doença.

Palavras-chave: depressão; variantes; polimorfismos; projetos genoma; bancos de dados; estado nutricional; estilo de vida; Triptofano Hidroxilase 2.

ABSTRACT

ABSTRACT

This thesis addresses the topic of genetic polymorphisms and behavioral aspects related to depression, through three manuscripts dealing with that theme. In this sense, the following topics were discussed: the first manuscript developed a research approach to identify potential markers of predisposition to the disease (depression), using the correlation between the epidemiological data and the frequencies of polymorphisms in the population. Three groups of genes were evaluated to test this premise, namely: variants related to depression found through the GWAS methodology; six genes not related to depression; and four genes related to depression in genotyping case-control studies (TPH2, NR3C1, SLC6A2 and SLC6A3). In terms of the variants related to depression in the GWAS trials, nine of the 82 SNPs evaluated showed a positive correlation of their allele and genotypic frequencies with the depression rates obtained based on epidemiological data from the World Health Organization (WHO). As expected, none of all 286 SNPs mapped in the genes not related to depression (Neutral Group) was correlated to the depression rates. In terms of the group called "Proof of Concept", two SNPs from the TPH2 gene, 26 SNPs from the NR3C1 gene and four SNPs from the SLC6A3 gene proved to be statistically related to the depression rates found in epidemiological studies. Along with the data from the literature involving these SNPs, these correlations support this strategy as a complementary method to identify possible variants causing the disease. Referring to the second manuscript, it related depressive patients; nutritional aspects and lifestyles to the symptoms presented, by means of a case-control study. The sample consisted of 389 individuals (217 depressed and 172 controls) with a mean age of 45.6 ± 15.6 years old (varying from 16 to 83), and mostly female (78.1%). In the results obtained, most of the patients with depression presented severe symptoms of the disease. Depression was associated with a higher Body Mass Index (BMI), obesity, lower alcohol consumption and intensified smoking habit. In the third manuscript, still in a partial phase, we explored the influence of a diet low in tryptophan and TPH2 gene polymorphisms on the development of depression. The preliminary data suggest an association between a diet with low tryptophan content and development of depression symptoms. Subsequent studies will involve genotyping three SNP from the Tryptophan Hydroxylase 2 (TPH2) gene to assess their role in development of the pathology. This research reveals an interdisciplinary approach to understand depression, exploring not only genetic factors but also nutritional and lifestyle aspects related to the condition. By relating the data obtained, our results collaborate with the hypothesis that genetic variants and nutritional factors play an important role in depression, contributing new data for research studies that investigate these relationships more in depth may assist in reducing the symptoms of this disease.

Keywords: depression; variants; polymorphisms; genome projects; databases; nutritional status; lifestyle; Tryptophan Hydroxylase 2

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO E ESTUTURAÇÃO DA TESE	15
CAPITULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	17
1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	18
1.1 DEPRESSÃO	18
1.1.1 Depressão: prevalência, definição e causas	18
1.2 NEUROTRANSMISSORES E GLICOCORTICOIDES E SUA RELAÇÃO COM A DEPRESSÃO	19
1.2.1 A Serotonina e a depressão	19
1.2.2 Dopamina e deperessão	21
1.2.3 Glicocorticoides e depressão	23
1.3 GENÉTICA DA DEPRESSÃO	23
1.3.1 Polimorfismos da depressão	24
1.3.1.1 Gene <i>NR3C1</i>	24
1.3.1.2 Gene <i>SLC6A2</i>	24
1.3.1.3 Gene <i>SLC6A3</i>	25
1.3.1.4 Gene <i>TPH2</i>	25
1.4 BANCO DE DADOS DE POLIFORMISMOS GENÉTICOS	26
2 OBJETIVOS	29
2.1 OBJETIVO GERAL.....	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
 CAPÍTULO 2 - ARTIGO PUBLICADO NO PERIÓDICO BIOMEDINFORMATICS	 30
 CAPÍTULO 3 -ARTIGO SUBMETIDO E ACEITO PERIÓDICO <i>BRAZILIAN JOURNAL OF HEALTH REVIEW</i>	 43
 CAPÍTULO 4 - ARTIGO EM PREPARAÇÃO QUE SERÁ SUBMETIDO AO PERIÓDICO <i>JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION</i>	 61
 CAPÍTULO 5 - DISCUSSÃO, PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO	 74
5 DISCUSSÃO E PERSPECTIVAS	75
6 CONCLUSÃO	77

REFERÊNCIAS	79
APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL.....	87
APÊNDICE B – RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24HS	88
APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR	89
ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA E PESQUISA	93
ANEXO B – ASPECTOS ÉTICOS (TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO)	115
ANEXO C– INVENTÁRIO DE BECK II (BDI-II).....	117

APRESENTAÇÃO E ESTUTURAÇÃO DA TESE

APRESENTAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO DA TESE

A presente tese foi dividida em cinco capítulos principais. O **Capítulo I** traz uma introdução aos temas que serão abordados nesta tese, além de listar os objetivos do trabalho. Os resultados que fazem parte desta tese estão apresentados sob a forma de manuscritos, os quais se encontram nos **Capítulos II, III e IV** deste trabalho.

O **Capítulo II** apresenta um manuscrito, já publicado que teve como tema uma abordagem de pesquisa para identificar marcadores potenciais de predisposição à doença (depressão). Nessa análise, foi utilizada a correlação entre os dados epidemiológicos de depressão obtidas da base de dados da Organização Mundial da Saúde e as frequências de polimorfismos na população mundial obtidas de bases de dados de sequenciamento do genoma humanos em indivíduos de diferentes populações mundiais.

Na sequência, o **Capítulo III** apresenta uma publicação que aborda o perfil nutricional e estilo de vida de pacientes depressivos, por meio de um estudo caso-controle, no qual foram avaliados pacientes depressivos do Centro de Apoio Psicossocial de Alegrete e grupo controle pareado. Esse manuscrito foi aceito para publicação.

O **Capítulo IV** apresenta um manuscrito em construção, no qual que as últimas análises ainda não foram realizadas. A seção materiais e métodos, resultados, discussão e referências bibliográficas, encontram-se nos manuscritos.

Por fim, no **Capítulo V** são apresentadas as discussões, perspectivas e conclusão deste trabalho, objetivando conectar as diversas abordagens ao longo desta tese. Além disso, o item referências bibliográficas refere-se somente às bibliografias citadas no capítulo I. Nos **Anexos A e B** são apresentados os aspectos éticos, como parecer do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) e Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE); **Apêndices A, B e C** apresentam os questionários aplicados na pesquisa.

CAPITULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 DEPRESSÃO

1.1.1 Depressão: prevalência, definição e causas

A depressão é um transtorno mental comum, que afeta cerca de 300 milhões de pessoas no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (OMS, 2017). Ferrari e colaboradores (2013) encontraram uma prevalência média global de 4,4% para a depressão ao longo da vida. As taxas variaram entre 3,1% e 9,3% em diferentes regiões do mundo. No Brasil, uma pesquisa nacional realizada por Brito e colaboradores (2022) estimou que a prevalência da depressão ao longo da vida é de aproximadamente 10,2%.

A OMS (2017) alerta que a depressão é a principal causa de incapacidade em todo o mundo e colabora significativamente para a carga global de doenças. A patologia acomete a saúde mental, emocional e física dos indivíduos depressivos, interferindo em sua capacidade de realizar atividades cotidianas e ter uma qualidade de vida adequada.

Essa doença é considerada multifatorial, em um modelo chamado bio-psico-social, que é causado por uma interação complexa entre fatores biológicos, incluindo fatores genéticos e desequilíbrios químicos no cérebro, fatores psicológicos, incluindo padrões de pensamento negativo e eventos estressantes da vida e fatores sociais, como a falta de suporte social e condições socioeconômicas desfavoráveis (MCGuffin; Rivera, 2015; Penninx *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015).

A Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CID-11), (CID-11, 2019) caracteriza a depressão em dois tipos:

6A70 transtorno depressivo episódio único:

é caracterizado pela presença ou história de um episódio depressivo quando não há nenhuma história de episódios depressivos anteriores. Um episódio depressivo é caracterizado por um período de humor quase diariamente deprimido ou diminuição do interesse em atividades com duração de pelo menos duas semanas acompanhada de outros sintomas tais como dificuldade de concentração, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada, desesperança, pensamentos recorrentes de morte ou suicídio, alterações no apetite ou no sono, agitação ou retardo psicomotor, e reduzido de energia ou fadiga. Nunca houve quaisquer episódios maníacos, hipomania, ou mistas anteriores, o que indicaria a presença de um transtorno bipolar. Exclusões: transtorno depressivo recorrente (6A71) transtorno de ajustamento (6B43) Bipolar ou transtornos relacionados (BlockL2-6A6).

6A71 transtorno depressivo recorrente:

é caracterizada por uma história ou pelo menos dois episódios depressivos separados por pelo menos vários meses sem significativa perturbação do humor. Um episódio depressivo é caracterizada por um período de humor quase diariamente deprimido ou diminuição do interesse em atividades com duração de pelo menos duas semanas acompanhada de outros sintomas tais como dificuldade de concentração, sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inadequada, desesperança, pensamentos recorrentes de morte ou suicídio, alterações no apetite ou no sono, agitação ou retardo psicomotor, e reduzido de energia ou fadiga. Nunca houve quaisquer episódios maníacos, hipomania, ou mistas anteriores, o que indicaria a presença de um transtorno bipolar. inclusões: transtorno depressivo sazonal exclusões: transtorno de ajustamento (6B43) Bipolar ou transtornos relacionados (BlockL2-6A6) transtorno depressivo episódio único (6A70).

Os sintomas associados à depressão incluem tristeza persistente, sentimentos negativos em relação a si mesmo, diminuição da satisfação com a vida, dificuldade em estabelecer e manter vínculos emocionais, episódios frequentes de choro, perda de interesse e prazer nas atividades, alterações no apetite, distúrbios do sono, redução da libido, fadiga e lentidão (Ferrari *et al.*, 2013; Fleck, 2009; Mascella, 2013).

1.2 NEUROTRANSMISSORES E GLICOCORTICOIDES E SUA RELAÇÃO COM A DEPRESSÃO

Os neurotransmissores são mensageiros químicos que enviam sinais através da fenda sináptica entre as células nervosas encontradas em todo o corpo humano. Uma das causas para reduzir, distorcer ou interromper a transmissão de sinais do sistema nervoso é a alteração dos níveis de neurotransmissores (Guyton; Hall, 2014).

De acordo com Araújo *et al.* (2020), a causa química da depressão se baseia na diminuição das aminas biogênicas cerebrais como a serotonina, responsável pelo estado ansioso, obsessivo e compulsões, a dopamina, que reduz a atenção e motivação e a noradrenalina, que aumenta a energia para atividades diárias, dentre outras.

1.2.1 A Serotonina e a depressão

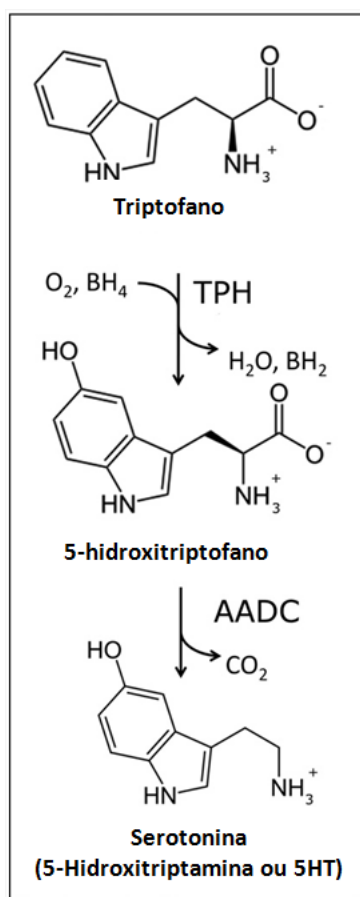
A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é um neurotransmissor importante no sistema nervoso central, envolvido em diversas funções, como regulação do humor, do sono, aprendizagem, do controle da temperatura corporal, entre outras. A sua síntese é realizada pela enzima triptofano hidroxilase (TPH), que é responsável pela conversão do triptofano em 5-

hidroxitriptofano (5-HTP), ou precursor da serotonina. Dessa forma, a enzima TPH é considerada o regulador chave da biossíntese de serotonina no cérebro (Duman; Voleti, 2012).

A fisiologia da 5-HT é complexa, sendo esta molécula ao mesmo tempo, um neurotransmissor e um neuromodulador (Veenstra *et al.*, 2000). Ela é sintetizada e armazenada em diversos sítios do organismo (Guyton; Hall, 1998) e age como inibidora das vias da dor, no controle do humor e do sono (Amireault; Sibon; Côte, 2013).

No sistema nervoso central, a transmissão serotoninérgica é regulada através da recaptura da serotonina pelo seu transportador (Ni; Watts, 2006). Torrente e colaboradores (2012) descreveram que a reação de síntese de 5-HT é catalisada pela enzima triptofano hidroxilase que converte a L-triptofano em 5-hidroxitriptofano (5HT), conforme a Figura 1.

Figura 1 - Biossíntese da Serotonina



Fonte: Adaptado de Torrente; Gelenberg; Vrana, 2012

De acordo com Walther e colaboradores (2003), a triptofano hidroxilase (TPH) é a enzima limitante da velocidade na via de biossíntese da serotonina e desempenha uma função importante na sua regulação. Até 2003 uma única isoforma da proteína TPH havia sido relatada

para os vertebrados, expressando-se em tecidos periféricos. Contudo, posteriormente foi descoberta uma nova forma de TPH específica do cérebro, que foi chamada TPH2.

Pesquisas mostram uma relação direta entre a depressão e a diminuição da captação do neurotransmissor serotonina e os níveis de triptofano, aminoácido aromático essencial que atua como precursor para a produção de 5-hidroxitriptanina. Tanto o triptofano quanto as enzimas envolvidas nesta via metabólica, tem um papel importante na captação de serotonina (Fernstrom, 1985; Feder *et al.*, 2011; Rossi; Tirapegui, 2004).

O transporte de triptofano para o cérebro não se relaciona apenas com sua concentração sanguínea, mas também com sua concentração relativa a dos aminoácidos neutros. Assim, concentrações dietéticas baixas de triptofano são associadas ao consumo elevado de aminoácidos que competem pelo transporte através da barreira hematoencefálica, reduzindo o conteúdo de 5-HT no cérebro e alterando certos comportamentos associados à serotonina (Rapport; Green; Page, 1948).

As principais fontes alimentares do triptofano são os alimentos de origem animal e vários estudos demonstram que a síntese de serotonina cerebral pode ser modulada dieteticamente através da oferta de macronutrientes (Rossi; Tirapegui, 2005; Fernstrom *et al.*, 2013; Lindseth; Heland; Caspers, 2015).

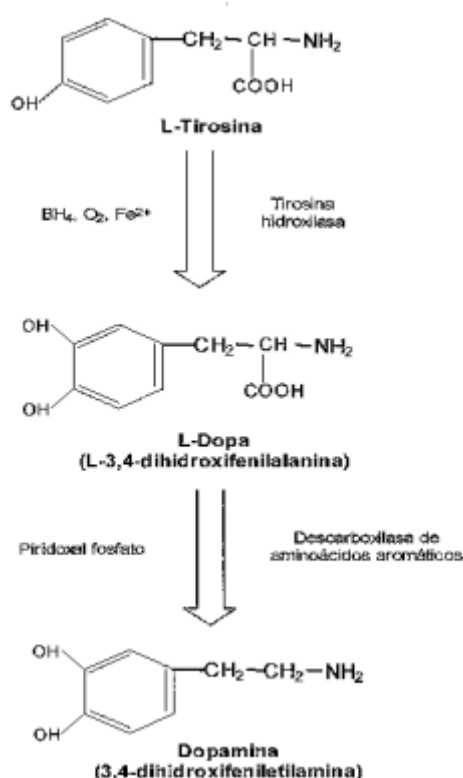
Entre os alimentos que possuem quantidade alta de triptofano podem ser citados: ovos, leite, carne vermelhas e peixes (origem animal); e soja, batata, cereais, brócolis, couve-flor, berinjela, kiwi, ameixa, banana, nozes e tomates (origem vegetal) (Peters, 1991).

1.2.2 Dopamina e deperessão

A dopamina é um neurotransmissor monoaminérgico, sendo uma catecolamina encontrada em abundância no cérebro, é sintetizada por neurônios mesencefálicos na substância nigra (SN) e na área tegmental ventral, e sua principal via de sinalização é chamada de via mesolímbica e impulsiona comportamentos gratificantes ao ativar o sistema de recompensa do cérebro (Kaufmann *et al.*, 2021). Por esse motivo, esse neurotransmissor está diretamente envolvido na etiologia de vários distúrbios neuropsiquiátricos, como depressão, esquizofrenia, transtorno de humor e déficit de atenção e doença de Parkinson (Healy-Stoffel, 2018).

Por pertencer à família das catecolaminas, que são compostos derivados da tirosina, a dopamina é produzida pelo cérebro pela conversão do aminoácido tirosina em L-DOPA, com auxílio da enzima tirosina hidroxilase (TH), sendo em seguida descarboxilada para formar a dopamina, conforme a Figura 2 (Bahena-Trujillo; Flores; Arias-Montanho, 2000).

Figura 2 - Síntese da Dopamina



Fonte: Adaptado de Bahena-Trujillo; Flores; Arias-Montanho, 2000

A ação dos receptores dopaminérgicos influencia a motivação ao se conectarem aos receptores D1 e D2. Ao estimular receptores D1, a dopamina age de forma excitatória, e aumenta o sinal neuronal. Já ao se ligar aos receptores D2, apresenta um efeito inibitório, bloqueando a sinalização neuronal (Hubner, 2021).

O sistema dopaminérgico desempenha um papel significativo na regulação da saciedade, dos comportamentos de procura de alimentos e do impulso motivacional para comer, uma vez que o consumo alimentar de carboidratos, lipídeos e proteínas está diretamente relacionado com a biodisponibilidade de aminas biogênicas, como dopamina, serotonina e norepinefrina, que aceleram os processos fisiológicos críticos no corpo (Wise, 2013).

As principais fontes alimentares de tirosina, precursor da dopamina, são queijo, soja, carne bovina, cordeiro, porco, peixe, frango, nozes, ovos, laticínios, feijão e grãos integrais (Kühn *et al.*, 2019).

1.2.3 Glicocorticoides e depressão

Os glicocorticoides (GC) são produzidos e secretados pelas glândulas suprarrenais e desempenham papéis importantes em muitos órgãos e sistemas. Participam na regulação fisiológica e adaptação às situações estressantes. O mesmo se aplica ao ajuste da amplitude da resposta defensiva. Sua concentração circulante é regulada pela adaptação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), que é influenciado por fatores como ciclo circadiano, estresse e feedback negativo (Faria; Longui, 2006).

Nas últimas décadas, pesquisas mostraram a relação entre a alteração HPA e a depressão, onde o GC aumentam a sensação de medo, angústia, aumentando os sintomas depressivos (Alheira; Brasil, 2005).

Os GCs atingem o seu pico de concentração nas primeiras horas da fase de alimentação, que ocorre no início da noite em roedores e no início da manhã em humanos (Spiga *et al.*, 2014). Os GCs retêm os níveis de glicose no sangue durante períodos de estresse ou jejum e entram em programas metabólicos entre diferentes órgãos (Patel; Williams-Dautovich; Cummins, 2014). Estudo de Quagliarini e colaboradores (2019), realizado em camundongos, demonstrou que uma dieta hiperlipídica aumenta a resposta hormonal diurna dos GCs.

1.3 GENÉTICA DA DEPRESSÃO

Fatores genéticos desempenham uma função significativa no desenvolvimento da depressão, como indicado por pesquisas de famílias e pesquisas em gêmeos, que determinaram o componente genético como responsável por aproximadamente 40% da predisposição para desenvolver depressão (Lafer; Vallada Filho, 1999).

Uma revisão sobre estudos com gêmeos demonstrou que a depressão pode ter origem familiar e sugeriu uma hereditariedade de 37%; no entanto, este transtorno complexo tem fortes influências ambientais e psicossociais que, junto aos fatores genéticos, podem desencadear a patologia atuando sinergicamente (Sullivan *et al.*, 2000).

Diversos métodos têm sido usados para identificar genes envolvidos na depressão. Estudos de *Genome-wide association* (GWAS) identificaram variantes genéticas associadas à doença e os genes envolvidos. A metodologia GWAS começou a fornecer variantes potencialmente associadas à doença; à medida que o número de pacientes testados aumentava e, atualmente, após atingir o número de 322.580 pacientes analisados, 17 loci potenciais foram sugeridos (Howard *et al.*, 2019).

A partir desse aumento de dados, Ormel *et al.* (2019), destacaram vários desafios para estudar

variantes associadas à depressão, analisaram GWAS para depressão que avaliaram mais de 80 loci e entre eles a necessidade de priorizar genes causais e a importância da frequência alélica dos genes envolvidos, principalmente para estabelecer a arquitetura genética da depressão.

1.3.1 Polimorfismos da depressão

Estima-se que a variação genética entre humanos seja de tão somente 0,5% (similaridade de 99,5%) (Levy *et al.*, 2007). Essas variações genéticas são conhecidas como polimorfismos e podem incluir adição, deleção ou alteração de bases nos genes, ocorrendo em sequências codificadoras ou não-codificadoras, causando modificações qualitativas e/ou quantitativas nas proteínas. Um dos tipos de alterações mais frequentes nas moléculas de DNA (ácido desoxirribonucleico), o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP), tem sido extensivamente estudado em termos de seu potencial papel no desenvolvimento de doenças (Pierce, 2009).

A função dos genes mais pesquisados na depressão e seus polimorfismos associados à doença estão descritos a continuação.

1.3.1.1 Gene *NR3C1*

O gene *NR3C1* (Nuclear Receptor Subfamily 3, Group C, Member 1) codifica um receptor de GR que atua como fator de transcrição, desempenha um papel decisivo na resposta do organismo ao estresse e na regulação do eixo HPA, a partir da regulação da expressão de vários genes envolvidos no sistema endócrino e no sistema nervoso central (Siamatras; Stratakis, 2017).

As alterações no HPA têm sido implicadas na patogênese da depressão (Juruena; Clearea; Pariante, 2004; Lahti, *et al.*, 2011) e variantes genéticas do gene *NR3C1*, incluindo polimorfismos que afetam a sensibilidade do receptor de glicocorticoide, têm sido alvo de vários estudos (Borçoi *et al.*, 2021; Castelo-Branco *et al.*, 2022). Dentre outras variantes genéticas específicas, o SNP rs41423247, que resulta em uma diminuição da sensibilidade do receptor de glicocorticoide, foi associado com o risco aumentado de depressão em dois estudos (Won *et al.*, 2016; Zobel *et al.*, 2008).

1.3.1.2 Gene *SLC6A2*

O gene *SLC6A2* (Solute Carrier Family 6 Member 2) codifica o transportador da noradrenalina, está localizado no cromossomo 16q12.2, e é responsável pela recaptação de

noradrenalina pelo nervo pré-sináptico (Bruss *et al.*, 1993). Muitos estudos sugerem a associação entre o polimorfismo de *SLC6A2* e a depressão, pois a noradrenalina é neurotransmissor envolvido em funções comportamentais e regulação de humor (Hahn *et al.*, 2008; Dong; Wong; Licínio, 2009; Kim *et al.*, 2014). Dentre as variantes estudadas destacam-se rs1362621 e rs5564 com risco de depressão e remissão da doença (Dong; Wong; Licínio, 2009), e rs2242446, rs28386840 e rs5569, associação com o desenvolvimento de depressão e risco de suicídio (Kim *et al.*, 2014).

1.3.1.3 Gene *SLC6A3*

O gene *SLC6A3* (Solute Carrier Family 6 Member 3) codifica o transportador de dopamina, o qual desempenha um papel crucial na regulação da neurotransmissão dopaminérgica, e situa-se no cromossomo 5p15.33. A dopamina desempenha um papel importante na regulação do humor e da motivação, e qualquer alteração em sua função pode contribuir para os sintomas depressivos. (National Center for Biotechnology Information-NCBI, 2023).

Estudos revelaram uma possível associação entre a disfunção do gene *SLC6A3* e o desenvolvimento de distúrbios neuropsiquiátricos (Dong; Wong; Licínio, 2009; Yin *et al.*, 2015). Avaliou-se também, a depressão e remissão da doença, sendo rs8179029 e rs2550936 as principais variantes estudadas (Dong; Wong; Licínio, 2009).

1.3.1.4 Gene *TPH2*

O gene *TPH2* (Triptofano Hidroxilase-2) está localizado no cromossomo 12q21.1, codifica um membro da família hidroxilase de ácidos aromáticos dependentes de pterina. A proteína codificada ativa a primeira etapa, considerada a etapa limitante, na síntese do neurotransmissor serotonina (Cichon *et al.*, 2008).

Diversos estudos relatam a relação dos polimorfismos desse gene com a depressão, entre os quais podemos citar as variantes rs1386494 rs1386495 rs7305115 na pesquisa de Nazree *et al.* (2015); ou rs4570625, rs17110747, rs120074175, rs4290270, rs120074175 e rs4290270 que podem estar significativamente associados à depressão, a partir de metá-análise (Liu *et al.*, 2022). Além destes outros trabalhos também tentaram entender a associação de polimorfismos da enzima TPH2 e a depressão (Shen *et al.*, 2011; Illi *et al.*, 2009).

Dentro desta estratégia de avaliar polimorfismos do gene TPH2 em pacientes depressivos, Pereira e colaboradores (2011), pesquisaram a população brasileira, na qual investigaram a associação de oito SNPs com a depressão de início tardio em 84 pacientes ambulatoriais com depressão e 79 indivíduos do grupo controle, indicando uma associação entre o genótipo CT do SNP rs4565946 e a redução do risco de desenvolver depressão tardiamente. Quanto ao SNP rs11179000, os autores sugeriram que tanto o genótipo homocigoto AA quanto o alelo A aumentam o risco de depressão tardia (Pereira *et al.*, 2011). Por outro lado, também foi observada a associação entre o SNP rs17110747 e a depressão maior, ressaltando que a associação é significativa entre o alelo G e a depressão maior na população chinesa (Tsai *et al.*, 2009).

1.4 BANCO DE DADOS DE POLIFORMISMOS GENÉTICOS

A novas metodologias que permitem a detecção e análise de polimorfismos de DNA por sequenciamento massivo, modificaram os estudos sobre a genética humana. Do ponto de vista da ciência aplicada, um dos maiores impactos dos estudos de polimorfismo é a possibilidade de identificar variantes genéticas envolvidas em doenças. Contudo, eles também são muito importantes para distinguir pequenas diferenças dentro de uma população ou entre populações distintas (Barreiro *et al.*, 2008).

Na atualidade, os polimorfismos populacionais são organizados em bancos de dados genéticos disponíveis de forma gratuita para a comunidade científica. Existem algumas bases de dados, entre as quais podem ser citados o projeto 1000 Genomas e HapMap, que fornecem informações sobre variantes genéticas humanas, contendo SNPs e variações estruturais. Esses mesmos bancos de dados podem também ser acessados e consultados quanto ao índice de desequilíbrio de ligação entre as variantes genéticas (1000 Genomes Project Consortium *et al.*, 2013; Carr; Alfirevic; Pirmohamed, 2014).

O Projeto 1000 Genomas foi o primeiro projeto a sequenciar os genomas de um grande número de indivíduos (pelo menos 1.000), e teve como finalidade organizar polimorfismos, organizando as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas de SNPs em diferentes populações para fornecer um recurso abrangente sobre a variação genética humana. Como resultados desse estudo foi possível conhecer a localização de uma grande quantidade de variantes genéticas, estimar as suas frequências em diferentes grupos populacionais humanos, detectar genótipos e fornecer dados precisos de haplótipos para estes polimorfismos de DNA

humano em diversas populações (Siva, 2008; The 1000 Genomes Project Consortium *et al.*, 2010).

Sendo uma das base de dados mais importante, o Projeto 1000 Genomas é frequentemente usado em estudos do tipo GWAS (The 1000 Genomes Project Consortium *et al.*, 2010). Os estudos do tipo GWAS testam as variantes genéticas nos genomas de muitos indivíduos para identificar associações genótipo-fenótipo e revolucionaram os estudos da genética de doenças complexas. No entanto, este método é caro e demorado, e frequentemente seus resultados não podem ser diretamente extrapolados para o entendimento da patologia estudada, necessitando de confirmação pela avaliação de diferentes populações. A maioria dos estudos do tipo GWAS é conduzida com indivíduos de uma população específica ou com antecedentes geneticamente relacionados e, conseqüentemente, esses estudos são afetados por vieses inerentes à estratificação populacional (Cardon; Palmer, 2003). Ao mesmo tempo, esta metodologia é usada para identificar correlações entre variantes genéticas e características, mas, nem sempre fornece significados biológicos, uma vez que nem sempre é conhecida a relação entre uma variante genética e um determinado fenótipo. Isso torna mais difícil estabelecer uma conexão direta entre um gene e a característica afetada (Visscher *et al.*, 2017).

Recentemente, o Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano financiou o Consórcio de Referência do Pangenoma Humano (HPRC), com o objetivo de sequenciar e montar genomas de indivíduos de populações diferentes e melhor compreender o cenário genômico das diversas populações humanas (Human Pangenome, 2023).

O HPRC visa construir um genoma humano de referência mais completo com uma representação gráfica da diversidade do genoma global de telômero a telômero (Wang *et al.*, 2022).

A utilização do rascunho do Pangenoma diminuiu os erros de descoberta de pequenas variantes em 34% e aumentou o número de variantes estruturais detectadas por haplótipo em 104%, em comparação com fluxos de trabalho baseados na montagem GRCh38 do genoma humano, que permitiram a tipagem da grande maioria dos alelos de variantes estruturais por amostra (Liao *et al.*, 2023).

No presente estudo, dados epidemiológicos sobre depressão maior obtidos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e bancos de dados variantes, como o Projeto 1000 Genomas foram usados para avaliar uma hipótese na baseada na seguinte premissa: se a depressão tem um componente genético forte, as variantes genéticas associadas à depressão, em populações humanas com altas taxas de depressão, deveriam estar elevadas; enquanto que as variantes genéticas não associadas à depressão não deveriam mostrar diferenças entre esses

grupos populacionais. Em contrapartida, populações com baixas taxas de depressão também deveriam apresentar baixas frequências de variantes genéticas já associadas à doença. Para avaliar esta hipótese, como prova de conceito, escolhemos quatro genes (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* e *SLC6A3*) que já haviam sido genotipado em estudos de caso-controle envolvendo depressão.

Se a hipótese estiver correta (ou seja, se as variantes genéticas associadas à depressão estiverem super-representadas em populações humanas com elevadas taxas de depressão), então esta estratégia de estudo forneceria uma nova metodologia para colaborar no estudo de doenças genéticas multifatoriais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- a) Associar polimorfismos genéticos do gene *THP2*, *NR3C1*, *SLC6A2* e *SLC6A3* com aspectos epidemiológicos e comportamentais relacionados à depressão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Tabular as frequências alélicas e genotípicas dos diferentes polimorfismos do gene *THP2* em populações descritas nos bancos de dados 1000 genomas;
- b) Correlacionar a prevalência de depressão em diferentes populações mundiais com as frequências alélicas e genotípicas dos diferentes polimorfismos do gene *THP2*, *NR3C1*, *SLC6A2* e *SLC6A3* em populações correlatas;
- c) Identificar marcadores potenciais de predisposição à doença (depressão) usando a correlação entre os dados epidemiológicos e as frequências de polimorfismos na população.
- d) Avaliar aspectos nutricionais e estilo de vida de pacientes depressivos, correlacionando-se com os sintomas apresentados:
 - analisar polimorfismos associados à depressão;
 - avaliar a ingestão de triptofano na dieta de pacientes depressivos;
 - correlacionar o polimorfismo da enzima TPH2 e a dieta.

**CAPÍTULO 2 - ARTIGO PUBLICADO NO PERIÓDICO
BIOMEDINFORMATICS**



Uncovering Disease-Related Polymorphisms Through Correlations between SNP Frequencies, Population and Epidemiological Data

Reis, S.M.D.; Bugs, C.A.; Chies, J.A.B.; Cañedo, A.D. Uncovering Disease-Related Polymorphisms through Correlations between SNP Frequencies, Population and Epidemiological Data. *BioMedInformatics* 2023, 3, 467-477.

<https://doi.org/10.3390/biomedinformatics3020032>

Article

Uncovering Disease-Related Polymorphisms through Correlations between SNP Frequencies, Population and Epidemiological Data

Samara Marques Dos Reis ^{1,2} , Cristhian Augusto Bugs ¹, José Artur Bogo Chies ^{2,*}  and Andrés Delgado Cañedo ¹

¹ Centro de Pesquisa em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel 96460, Rio Grande do Sul, Brazil

² Laboratório de Imunobiologia e Imunogenética, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 15053, Rio Grande do Sul, Brazil

* Correspondence: jabchies@terra.com.br; Tel.: +55-51-999-603-008

Abstract: Background: According to GWAS, which analyzes large amounts of DNA variants in case-control strategies, the genetic differences between two human individuals do not exceed 0.5%. As a consequence, finding biological significance in GWAS results is a challenging task. We propose an alternative method for identifying disease-causing variants based on the simultaneous evaluation of genome variant data acquired from public databases and pathology epidemiological data. This method is grounded on the following premise: If a particular pathology is common in a community, genetic variants that confer susceptibility to that pathology should also be common in that population. Methods: Three groups of genes were evaluated to test this premise: variants related to depression found through GWAS, six genes unrelated to depression, and four genes already genotyped in case-control studies involving depression (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* and *SLC6A3*). In terms of GWAS depression-related variants, nine of the 82 SNPs evaluated showed a favorable correlation between allele frequency and epidemiological data. As anticipated, none of the 286 SNPs were correlated in the neutral group. In terms of proof of concept, two *TPH2* variants, 26 *NR3C1* variants and four *SLC6A3* variants were found to be related to depression rates and epidemiological statistics. Conclusions: Together with data from the literature involving these SNPs, these correlations support this strategy as a complementary method for identifying possible disease-causing variants.

Keywords: depression; variants; polymorphisms; genome projects; biobank; databases



Citation: Reis, S.M.D.; Bugs, C.A.; Chies, J.A.B.; Cañedo, A.D. Uncovering Disease-Related Polymorphisms through Correlations between SNP Frequencies, Population and Epidemiological Data. *BioMedInformatics* **2023**, *3*, 467–477. <https://doi.org/10.3390/biomedinformatics3020032>

Academic Editors: Alexandre G. De Brevern and Jörn Lötsch

Received: 27 February 2023

Revised: 28 April 2023

Accepted: 10 May 2023

Published: 13 June 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Several molecular approaches to detection and analysis of DNA variants that have been developed in recent years have altered the dynamics of genetic studies, enabling the identification of slight differences both within and between human population groups. In medical approaches, the study of genetic variation comparing cases and controls allows for identifying specific genetic variants associated with diseases, which can be used as biomarkers for early diagnosis or to monitor progression of the disease [1]. A vast amount of information regarding human DNA variants is currently stored in genetic databases accessible to the scientific community. The 1000 Genomes Project stands out among these databases because it provides access to information about human genetic variants, such as single nucleotide polymorphisms (SNPs) and structural variations. This database also allows for an evaluation of genetic variant linkage disequilibrium. High-coverage (30X) allelic and genotypic frequencies were available for 2054 individuals from 26 human populations around the world [2–5] until August 2020, when 698 additional samples were added [6]. The 1000 Genomes Project was designed to create public genome-wide databases

and is frequently used in conjunction with genome-wide association studies (GWAS), a broader method that identifies SNPs associated with disease susceptibility or resistance by genotyping hundreds of thousands of loci using a case-control strategy [7,8].

Currently, a number of monogenic diseases are readily diagnosed, allowing for prompt and precise treatment recommendations. Nonetheless, a significant number of diseases have a complex genetic component, indicating a multifactorial etiology [9].

Depression is one of the complex diseases for which GWAS approaches have already provided some information about potential variants and loci associated with the disease, and more consistent results are obtained as the number of patients tested grows. Despite this, the identification of more than 80 loci associated with depression provides a number of challenges to the study of depression-associated variants [10,11]. Among them are the need to prioritize causal genes and the significance of allelic frequency, primarily for establishing the genetic architecture of depression. In addition, GWAS cannot explain specific biological characteristics of the disease, such as the physiological mechanisms beyond a given association; thus, additional approaches are necessary to meet such demands.

Taking into account the vast amount of information on human DNA variants and global epidemiological data available in various databases and databanks pertaining to a variety of pathologies, we propose the following evaluation: If a given pathology is highly prevalent in a particular population, then genetic variants conferring susceptibility to this disease should also be prevalent in that population.

In the current study, our hypothesis is examined utilizing data on major depression (OMIM 608516) from the World Health Organization (WHO) and variant databases such as the 1000 Genomes Project. As already mentioned, genetic variants associated with depression in the genetic variant database should be overrepresented in human populations with high depression rates, whereas genetic variants not associated with depression should not show differences between these population groups. In contrast, populations with low depression rates should also have low frequencies of genetic variants already associated with the disease. As a proof of concept, we chose four genes (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* and *SLCA3*) that had previously been genotyped in case-control studies involving depression. If our hypothesis is correct (i.e., if genetic variants associated with depression are overrepresented in human populations with high depression rates), then this new method would provide evidence for this claim.

2. Materials and Methods

2.1. Choosing Allelic Variants and Obtaining Their Frequencies for Different Human Populations

Three groups of genes were analyzed to assess the correlation hypothesis: (a) variants associated with depression identified in genome-wide association studies (GWAS), from Howard, Amare, Wray and Hyde [11–14]; (b) variants in genes not previously associated with depression (*ACT*, *B2M*, *EEF2*, *GAPDH*, *PLEK2* and *PP1A*); and (c) variants in four genes already examined in case-control studies involving depression (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* and *SLCA3*). Using the Variant Annotation package in R software to process the VCF files [15], allele and genotype frequencies of these variants were obtained for different populations available through the 1000 Genomes Project (<https://www.internationalgenome.org/>) accessed on 5 May 2021.

2.2. Statistical Analysis

Using R software, the allelic and genotype frequencies of each population were subjected to Pearson's correlation test against the depression rates inferred for each population. The depression rates for each human population were obtained from the World Health Organization [16].

The analysis was performed with a 99% confidence level ($p \leq 0.01$). Due to linkage disequilibrium (LD), the SNPs tested were not entirely independent; therefore, p -value correction was not applied. In this way, the potential inherent uncertainties resulting from multiple tests were taken into account when interpreting the results.

The maximum allele frequency (MAF) was calculated using three models: first, the maximum allele frequency was exaggerated when a monogenic recessive model with complete penetrance was considered, where $MAF = (\text{depression rate})$. We also considered the Whiffin et al. [17] model, which considers $MAF < 0.10$, and the Sullivan et al. [18] model, which considers $MAF < 0.01$. The hypothesis testing is described in the flowchart presented in Figure 1.

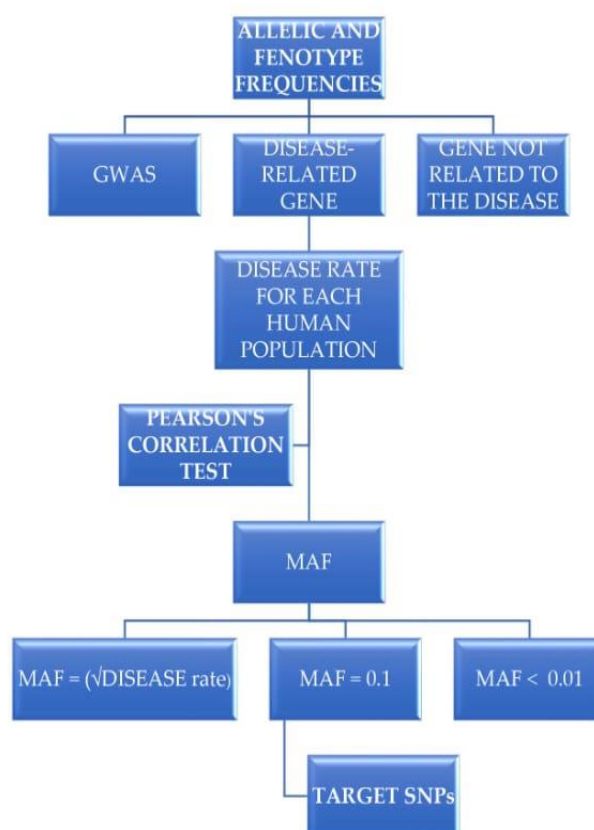


Figure 1. Flowchart representing the hypothesis testing. MAF = maximum allele frequency, used to filter SNPs after Pearson's correlation test.

2.3. Linkage Disequilibrium

The genetic SNPs that showed a correlation with depression were evaluated using the LDlink (<https://ldlink.nci.nih.gov/>), accessed on 20 July 2021, online suite tools [19]. To evaluate SNPs with complete linkage, they were submitted to the LDHap tool with all populations selected for analysis. The SNPs that did not demonstrate complete linkage were evaluated in pairs using LDpair with the All Populations option selected. The association of these SNPs with GWAS-studied traits was then evaluated using LDassoc [20], and the association with changes in gene expression was assessed using LDexpress, selecting all tissues in all populations and setting an R^2 value > 0.3 , $p < 0.1$, and linkage with SNPs located up to 50,000 bases. SNPclip was then used to evaluate the presence of SNPs potentially associated with depression in commercial genotyping platforms.

3. Results

3.1. The Correlation Approach Detected Significant Variants in GWAS-Associated Data But Not in the Postulated Unrelated Genes

Using the correlation method, a total of 82 SNPs in genes potentially associated with depression were tested against depression rates. Nine of these eighty-two SNPs (10.97%) correlate positively with the depression rates in the different populations. After stratification according to different maximum allele frequency (MAF) models, one SNP presented a positive correlation with depression, with an allele frequency between 0.01 and 0.10 (rs17727765), and another eight SNPs showed correlations with depression, with allele frequencies ranging from 0.10 to 0.33. Table 1 provides specific details about the SNPs that correlate. Table S1 presents the correlation values for all variants associated with depression in GWAS.

Table 1. Distribution of allele frequencies corresponding to the GWAS variants correlated with depression.

Alternative Allele Frequency	Total	sigRR	sigAA	SNP (Allele Frequency/Correlation <i>p</i> -Value) *
<0.01	0	0	0	-----
0.01–0.1	4	0	1	rs17727765 (AFr = 0.03, <i>p</i> = 0.004);
0.1–0.33	22	0	4	rs7200826 (AFr = 0.15, <i>p</i> = 0.003); rs112348907 (AFr = 0.27, <i>p</i> = 0.007); rs2422320 (AFr = 0.29, <i>p</i> = 0.0002); rs2422321 (AFr = 0.29, <i>p</i> = 0.0001)
0.33–0.66	38	0	0	-----
0.66–0.9	18	4	0	rs10929355 (AFr = 0.69, <i>p</i> = 0.010); rs4904738 (AFr = 0.71, <i>p</i> = 0.002); rs7044150 (AFr = 0.84, <i>p</i> = 0.003); rs1354115 (AFr = 0.81, <i>p</i> = 0.004)
0.9–0.99	0	0	0	-----
>0.99	0	0	0	-----

* SNPs filtered by the frequency of the allele associated with depression rates. AFR = Allele frequency of the correlated allele.

To evaluate variants of genes not previously associated with depression, we chose genes frequently used as normalizers in studies of relative gene expression: *ACTB* (21 SNPs), *B2M* (36 SNPs), *EEF2* (68 SNPs), *GAPDH* (39 SNPs), *PLEK2* (121 SNPs) and *PPIA* (121 SNPs). Using the allele and genotype frequencies of these 331 variants, the correlation test reveals that none of them are associated with depression rates. Table S2 displays the results of the correlation test using variants of these genes.

3.2. Proof of Concept: The *TPH2*, *NR3C1* and *SLC6A3*, but Not the *SLC6A2* Gene Variants, Were Associated with Depression

The correlation method was applied to variants of four genes previously investigated in case–control studies in relation to depression. The correlation between 550 variants of the *TPH2* gene and depression rates in human populations from around the world was examined. According to the results, shown in Table S3, two SNPs showed a positive correlation (0.4%). As shown in Table 2, one SNP (rs7298203) could be correlated with depression if MAF < 0.1, and one SNP (rs4760820) could be potentially correlated if MAF < 0.3 is considered.

The evaluation of 562 variants of the *NR3C1* gene is detailed in Table S4. As shown in Table 3, 26 SNPs (4.6%) correlated with depression, with 11 SNPs presenting MAF 0.1 and 15 SNPs potentially correlating using the most permissive model after maximum allele frequency filtering, with MAF 0.3.

Four *SLC6A3* gene SNPs (1.1%) were associated with depression (rs13189021, rs10052016, rs62331084 and rs10053602); in all cases, the frequencies of the alleles involved were within the most permissive model (MAF < 0.33), as shown in Table 4. The information regarding the *SLC6A2* and *SLC6A3* gene variants is shown in Tables S5 and S6, respectively.

Table 2. Distribution of the allele frequency corresponding to the *TPH2* gene variants correlated with depression.

Alternative Allele Frequency	Total	sigRR	sigAA	SNP (Allele Frequency/Correlation <i>p</i> -Value) *
<0.01	103	0	0	-----
0.01–0.1	162	0	0	-----
0.1–0.33	101	0	1	rs4760820 (AFr = 0.179, <i>p</i> = 0.002);
0.33–0.66	122	0	5	-----
0.66–0.9	57	0	0	-----
0.9–0.99	3	1	0	rs7298203 (AFr = 0.974, <i>p</i> = 0.008)
>0.99	0	0	0	-----

* SNPs filtered by the allele frequencies of the allele correlated with depression rates, according to the models reported in the “Materials and methods” section.

Table 3. Distribution of the allele frequency corresponding to the *NR3C1* gene variants correlated with depression.

Alternative Allele Frequency	Total	sigRR	sigAA	SNP (Allele Frequency/Correlation <i>p</i> -Value) *
<0.01	225	2	3	-----
0.01–0.1	167	0	11	rs116798177 (AFr = 0.02, <i>p</i> = 0.004); rs142327762 (AFr = 0.04, <i>p</i> = 0.002); rrs61752263 (AFr = 0.04, <i>p</i> = 0.002); rs55817235 (AFr = 0.04, <i>p</i> = 0.002); rrs56150733 (AFr = 0.04, <i>p</i> = 0.002); rs72801051 (AFr = 0.05, <i>p</i> = 0.002); rrs72801054 (AFr = 0.05, <i>p</i> = 0.002); rs141755899 (AFr = 0.05, <i>p</i> = 0.002); rrs72801080 (AFr = 0.05, <i>p</i> = 0.002); rs10515522 (AFr = 0.05, <i>p</i> = 0.002); rrs72802806 (AFr = 0.09, <i>p</i> = 0.010) rs258814 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.004); rs13155635 (AFr = 0.28, <i>p</i> = 0.010); rs860457 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.006); rs852979 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.007); rs852982 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.004); rs190488 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.007); rs33380 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.01); rs34158792 (AFr = 0.23, <i>p</i> = 0.020); rs61752282 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.01); rs111440401 (AFr = 0.15, <i>p</i> = 0.008); rs1866388 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.009); rs10053679 (AFr = 0.22, <i>p</i> = 0.012); rs41423247 (AFr = 0.25, <i>p</i> = 0.001); rs11747997 (AFr = 0.21, <i>p</i> = 0.009);
0.1–0.33	126	0	14	-----
0.33–0.66	27	0	0	-----
0.66–0.9	6	1	0	rs1837262 (AFr = 0.77, <i>p</i> = 0.01)
0.9–0.99	11	0	0	-----
>0.99	0	0	0	-----

* SNPs filtered by the allele frequencies of the allele correlated with depression rates, according to the models reported in the “Materials and methods” section.

Table 4. Distribution of the allele frequency corresponding to the *SLC6A3* gene variants correlated with depression.

Alternative Allele Frequency	Total	sigRR	sigAA	SNP (Allele Frequency/Correlation <i>p</i> -Value) *
<0.01	40	0	0	-----
0.01–0.1	183	0	0	-----
0.1–0.33	80	0	4	rs13189021 (AFr = 0.08, <i>p</i> = 0.001); rs10052016 (AFr = 0.18, <i>p</i> = 0.002); rs62331084 (AFr = 0.09, <i>p</i> = 0.003); rs10053602 (AFr = 0.18, <i>p</i> = 0.007);
0.33–0.66	66	0	0	-----
0.66–0.9	5	0	0	-----
0.9–0.99	2	0	0	-----
>0.99	1	0	0	-----

* SNPs filtered by the allele frequencies of the allele correlated with depression rates, according to the models reported in the “Materials and Methods” section.

3.3. Linkage Disequilibrium and Variant Effects on Traits and Gene Expression

According to the analysis, the correlation between the *TPH2* SNPs (rs7298203 and rs4760820) and depression rates (rs7298203 and rs4760820) was not strong (R^2 : 0.0052). According to the LDtrait Tool, none of the variants discovered to be linked to diseases in GWAS studies are associated with disease (R^2 : 0.0052). Although the rs4760820 variant is present on 25 of the 55 platforms analyzed with the SNPchip tool, the rs7298203 variant is absent from every platform.

When the variants of the *NR3C1* gene correlated with depression were evaluated with the LDhap tool, two blocks with complete linkage ($D' = 1.0$ and $R^2 = 1.0$), herein called Block 1 (rs10053679, rs34158792, rs860457, rs852979, rs258814, rs852982, rs190488, rs33380, rs61752282, rs1866388, rs11747997, rs1837262) and Block 2 (rs142327762, rs61752263, rs55817235, rs56150733, rs72801051, rs72801054, rs141755899, rs72801080, rs10515522) were revealed, as shown in Table 5. These blocks have a high D ($D = 1.0$) but a low R^2 (0.1642) value between them. Block 2 alleles with a lower frequency (0.044) are completely linked to Block 1 alleles with a lower frequency (0.221).

Table 5. Linkage disequilibrium of the variants correlated with depression.

Gene	Linkage SNPs	
<i>TPH2</i>	----	
<i>NR3C1</i>	Block 1	rs10053679, rs34158792, rs860457, rs852979, rs258814, rs852982, rs190488, rs33380, rs61752282, rs1866388, rs11747997, rs1837262
	Block 2	rs142327762, rs61752263, rs55817235, rs56150733, rs72801051, rs72801054, rs141755899, rs72801080, rs10515522
<i>SLC6A3</i>	rs10052016; rs10053602	

Among the five variants outside these two blocks, rs111440401 displays high linkage disequilibrium with Block 1 variants (D' : 0.9984 and R^2 : 0.6589), and rs72802806 displays linkage with Block 2 variants ($D' = 0.843$ and $R^2 = 0.356$). Other variants (rs116798177, rs72802806, rs13155635, rs111440401 and rs41423247) were neither highly linked to variants of these two blocks nor to variants of the other block.

To analyze the association between *NR3C1* gene variants and variations in gene expression, the LDexpress tool was applied to one variant from each block and five variants outside the blocks. rs111440401 and the Block 1 variant were associated with alterations in *NR3C1* gene expression in the arteries and aorta. Concerning the rs41423247, rs13155635 and rs72802806 variants, the alleles associated with depression are associated with changes in the *NR3C1* expression level in the esophagus and mucosa. The Block 2 variants were unrelated to *NR3C1* expression changes.

The LDtrait evaluation revealed that the variants in Block 1 were associated with variations in hematocrit or hemoglobin concentrations, whereas no association was found for the Block 2 variants.

The rs111440401 variant, which was absent from all platforms evaluated with the SNPchip tool, could not be directly associated with trait or gene expression using the LDLink suite tools. The rs72802806 variant was associated with globulin-binding sex hormone levels, but it could only be evaluated on eight of the 55 platforms analyzed with SNPChip.

The analysis of *SLC6A3* variants revealed that rs10052016 and rs10053602 are completely linked, as shown in Table 5. The linkage disequilibrium between rs62331084 and rs13189021 is low, as with rs10052016/rs1003602. In addition, neither rs62331084 nor rs13189021 was associated with altered gene expression levels. On the other hand, rs10052016/rs10053602 inhibit the testicular expression of *SLC6A3*.

None of *SLC6A3* variants was directly involved with traits in the GWAS catalog according to the LDtrait tool, and the SNPchip tool showed that each of the four variants can only be evaluated in a few of the 59 platforms consulted; at the same time, the platforms that allow the analysis of rs10052016/rs10053602 (six and three platforms, respectively)

do not allow the analysis of rs13189021 (seven platforms) and rs62331084 (four platforms), and vice versa.

4. Discussion

Development of the Human Genome Project allowed for innovations in medical research, resulting in improved approaches to diagnosis, better understanding of the genetic basis of disease, and the creation of more effective treatments [21]. In this new medical context, understanding the genetic variation of individuals should be regarded as a crucial tool for both easing the quest for accurate and early disease diagnosis and driving the development of novel disease treatments.

Although the diagnosis and treatment of monogenic diseases are comparatively straightforward, this is not the case for diseases with multifactorial etiologies and complex genetic traits [9]. Currently, genome-wide association studies (GWAS) are the most prevalent technique for assessing such complex diseases. However, such research is quite costly and time-consuming, and its results cannot be extrapolated to other human populations. The majority of GWAS studies are conducted using individuals from a specific population or populations with a genetically related background. Consequently, these studies are frequently affected by the inherent bias of population stratification [22]. Therefore, a large sample size is required to obtain statistically significant results. Using 135,458 cases and 344,901 controls, a genome-wide association meta-analysis identified 44 independent and significant loci related to major depressive disorder [12]. In this regard, such methods are both costly and time-consuming.

GWAS is also used to identify correlations between genetic variants and traits, but it does not always provide obvious biological explanations, because a direct link between a genetic variant and a specific trait is not always known. This makes it more difficult to establish a direct connection between a gene and a particular mechanism or characteristic [23]. Therefore, complementary approaches to GWAS studies are welcome, such as using maximum allele frequency [17] and gene ontology or pathway-based tests [24].

In this research, we evaluated the logic underlying a complementary method for identifying DNA variants that may be associated with a particular phenotype. The proposal is predicated on the premise that if a given pathology is highly prevalent in a specific population, then genetic variants conferring susceptibility to this disease should also be prevalent in that population. Consequently, we hypothesize that the correlation of epidemiological data from various populations with their allelic and/or genotypic frequencies could reveal potential loci or variants that should be further studied as genetic risk factors for the disease in question. Consequently, we could concentrate on variants with high penetrance among the set of potentially involved variants.

Depression was chosen to evaluate our hypothesis because it is one of the most prevalent psychiatric disorders and stands out among the complex diseases with a significant impact on the global population. This disease has a multifactorial etiology, as both genetic and environmental factors contribute to its development [18]. Additionally, epidemiological data on depression are available for various human populations. Regarding genetic factors, four alternative genetic architecture models for depression have been proposed, namely: the rare allele model, the broad-sense heritability model, and the omnigenic model are concerned with allele frequencies, whereas the infinitesimal model is not (discussed by Ormel et al. [10]).

The environment plays a significant role in the development of depression, but genetics also plays a major part; therefore, our hypothesis predicts that the frequency of alleles previously associated with depression should be correlated with regional variations in the prevalence of depression. In light of the availability of epidemiological data regarding the prevalence of depression in various human populations around the world [16], we conducted a Pearson's correlation test against genetic variants clustered into three groups, as already mentioned. The first group consisted of more than eighty variants previously described as being associated with depression in GWAS [11–14], with the assumption

that they should have a positive correlation with global depression rates. The second group consisted of frequently used endogenous genes in gene expression experiments (ACT, B2M, EEF2, GAPDH, PLEK2 and PPIA) that were unrelated to depression. The assumption was that there would be no correlation between depression rates and this group, and, consequently, they would serve as a neutral or “negative control”. As a final step, variants from four genes commonly evaluated in genotyping case–control studies involving individuals with major depression (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* and *SLC6A3* genes) were analyzed as a confirmatory positive group, a proof-of-concept approach.

Before performing the analyses, three maximum allele frequency intervals were determined, taking into consideration the fact that this model targets genes with a significant effect on the heritability of depression. In these intervals, we used a maximum allele frequency of 0.33, which was derived from the global depression frequency, the limit of 0.1 based on data from Sullivan et al. [18], and 0.01 based on data from Whiffin et al. [17]. Due to the sample size of the 1000 Genomes Project, it would be impossible to use lower allelic frequencies in our analysis because the robustness of the analyses would be compromised. As additional populations with the same coverage level are added to this or similar databases in the future, it will be possible to further reduce these limits.

None of the 331 variants in the negative control group were associated with the epidemiological data. Notably, the results of this evaluation were used to research case–control studies in the scientific literature. However, none of the nine SNPs that our study found to be significant in case–control studies on depression had ever been evaluated.

Positively associated candidate genes from GWAS depression research revealed that nine of the 81 assessed variations were connected with depression rates; however, none of the 331 evaluated variants in the negative control group were associated with the epidemiological data. Notably, the findings of this evaluation were used to search the literature for information on case–control studies. However, none of the nine SNPs identified as relevant in our analysis had ever been examined in case–control studies of depression.

As proof of concept, the same method was used to evaluate different genetic variants of four commonly studied genes in case–control studies of depression. Two SNPs from the *TPH2* locus (rs4760820 and rs7298203) were found to be associated with depression rates; however, only rs4760820 presents literature-based evidence of an association. While Utge et al. [25] conducted a study in the Finnish population showing an association, Pereira et al. [26] found no significant association between rs4760820 and depression in a Brazilian cohort. Notably, the GG genotype was associated with other psychiatric conditions, such as bipolar disorder [27,28].

Concerning the *SLC6A3* gene, the literature contained no information regarding the correlation between the four SNPs linked to depression by our method and depression. However, several of them were evaluated for psychiatric and other behavioral disorders. Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) was associated with the rs13189021 variant [29,30]. SNP rs10052016 was associated with cognitive performance and alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of Alcohol Dependence [31], whereas SNP rs10053602 was associated with cognitive performance in the Diabetes Heart Study, a familially enriched cohort with Type 2 Diabetes [32].

The *NR3C1* gene presented 26 variants significantly related to depression by the correlation method, but only two SNPs (rs41423247 and rs1866388) had been previously evaluated in relation to depression in the scientific literature. Two case–control studies on depression evaluated SNP rs41423247, with contradictory results. In contrast to the findings by Tan et al. [33] regarding perinatal depression, the homozygous genotype for the minor allele was significantly associated with the hippocampus shape and the integrity of the white matter of the para-hippocampal cingulate in a study of patients with major depressive disorder [34]. Regarding the rs1866388 SNP, Zobel et al. [35] analyzed seven *NR3C1* gene SNPs in a German population and discovered a statistical association between rs1866388 (GG genotype) and depression, corroborating our findings.

As a large number of *NR3C1* gene variants are associated with depression, we performed linkage analyses between these SNPs using the LDlink tool, resulting in the discovery of four independent alleles and two linkage blocks. The same method applied to the *SLC6A3* gene variants revealed four allelic variants, two with low linkage disequilibrium (rs13189021 and rs62331084) and two with complete linkage disequilibrium (rs13189021 and rs62331084). Importantly, many of the variants that showed a positive correlation in our study are not included in the sequencing platforms that are typically used for GWAS or are only included in a few of them. Consequently, the procedure herein proposed can provide more information about genetic links to diseases, even about variants that were not, or insufficiently, examined in GWAS.

Finally, a recent study by Couto-Silva et al. [36] can be used as an example of an approach in which epidemiological data and the frequencies of a given variant in different populations of humans can generate very interesting results. The authors were able to demonstrate an intense natural selection signal in a set of genes related to *Trypanosoma cruzi* infection by analyzing genomic data from 19 Amazonian native populations and cross-referencing variant frequency data with Chagas disease incidence data in this region. Such a result suggests that approaches employing methodologies based on similar precepts as the one herein described might be useful for identifying genetic factors associated with susceptibility to infectious diseases.

5. Conclusions

In conclusion, the findings of this study suggest that it may be possible to identify genetic markers associated with specific diseases if the allele and genotype frequencies are statistically analyzed and compared to epidemiological data about these diseases in various human populations. This method can be used as a supplement to evaluate the results of genome-wide association studies (GWAS). It can also be used to evaluate variants that are not included in GWAS platforms, providing us with new and useful information about targets, genes or variants that can be investigated as potential biomarkers in various circumstances. Compiling different studies of human genomes into a single database that groups individuals sequenced by country, allowing researchers to enter the phenotypic frequencies of the trait to be evaluated and returning the possible genetic variants correlated with the trait to be evaluated, would be of great interest. We emphasize the significance of linkage analysis for interpreting the output of the correlation method. Finally, it is important to highlight that this is a study performed using like data stored in several distinct databases, and therefore, our interpretations are dependent on how accurate these databanks are. Moreover, as a proposal mainly based in approaches in silico, our results should be taken with caution and mainly as suggestive of new targets for more conclusive experimental and population studies.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/biomedinformatics3020032/s1>, Table S1—Pearson's correlation test with the GWAS variants; Table S2—Pearson's correlation test with the Endogenous genes-PPIA variants; Table S3—Pearson's correlation test with the *TPH2* variants; Table S4—Pearson's correlation test with the *NR3C1* variants; Table S5—Pearson's correlation test with the *SLC6A2* variants; and Table S6—Pearson's correlation test with the *SLC6A3* variants.

Author Contributions: Conceptualization, J.A.B.C. and A.D.C.; methodology, S.M.D.R. and A.D.C.; formal analysis, S.M.D.R., C.A.B. and A.D.C.; writing—original draft preparation, S.M.D.R.; writing—review and editing, C.A.B.; J.A.B.C. and A.D.C.; supervision, J.A.B.C. project administration, A.D.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Data Availability Statement: All data is available under request.

Conflicts of Interest: The authors declare no competing interests.

References

1. Barreiro, L.B.; Laval, G.; Quach, H.; Patin, E.; Quintana-Murci, L. Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nat. Genet.* **2008**, *40*, 340–345. [CrossRef] [PubMed]
2. Carr, D.F.; Alfirevic, A.; Pirmohamed, M. Pharmacogenomics: Current state-of-the-art. *Genes* **2014**, *5*, 430–443. [CrossRef]
3. 1000 Genomes Project Consortium; Abecasis, G.R.C.; Auton, A.; Brooks, L.D.; DePristo, M.A.; Durbin, R.M.; Handsaker, R.E.; Kang, H.M.; Marth, G.T.; McVean, G.A. An integrated map of genetic variation from 1092 human genomes. *Nature* **2012**, *491*, 56–65. [CrossRef]
4. Ma, J.; Xiao, H.; Yang, Y.; Cao, D.; Wang, L.; Yang, X.; Qiu, X.; Qiao, Z.; Song, J.; Liu, Y.; et al. Interaction of tryptophan hydroxylase 2 gene and life events in susceptibility to major depression in a Chinese Han population. *J. Affect. Disord.* **2015**, *188*, 304–309. [CrossRef]
5. Manolio, T.A.; Collins, F.S. The HapMap and Genome-Wide Association Studies in Diagnosis and Therapy. *Annu. Rev. Med.* **2009**, *60*, 443–456. [CrossRef] [PubMed]
6. Byrska-Bishop, M.; Evani, U.S.; Zhao, X.; Basile, A.O. High coverage whole genome sequencing of the expanded 1000 Genomes Project cohort including 602 trios. *Cell* **2022**, *185*, 3426–3440.e19. [CrossRef]
7. Wang, W.Y.S.; Barratt, B.J.; Clayton, D.G.; Todd, J.A. Genome-wide association studies: Theoretical and practical concerns. *Nat. Rev. Genet.* **2005**, *6*, 109–118. [CrossRef]
8. Wellcome, T.; Case, T.; Consortium, C. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3000 shared controls. *Nature* **2007**, *447*, 661–678. [CrossRef]
9. Ramírez-Bello, J.; Jiménez-Morales, M. Functional implications of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in protein-coding and non-coding RNA genes in multifactorial diseases. *Gac. Med. Mex.* **2017**, *153*, 238–250.
10. Ormel, J.; Hartman, C.A.; Snieder, H. The genetics of depression: Successful genome-wide association studies introduce new challenges. *Transl. Psychiatry* **2019**, *9*, 114. [CrossRef]
11. Howard, D.M.; Adams, M.J.; Clarke, T.; Hafferty, J.D.; Gibson, J.; Shirali, M.; Coleman, J.R.I.; Hagenaars, S.P.; Ward, J.; Wigmore, E.M.; et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. *Nat. Neurosci.* **2019**, *22*, 343–352. [CrossRef] [PubMed]
12. Wray, N.R.; Ripke, S.; Mattheisen, M.; Trzaskowski, M.; Byrne, E.M.; Abdellaoui, A.; Adams, M.J.; Agerbo, E.; Air, T.M.; Andlauer, T.M.F.; et al. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat. Genet.* **2018**, *50*, 668–681. [CrossRef] [PubMed]
13. Hyde, C.L.; Nagle, M.W.; Tian, C.; Chen, X.; Paciga, S.A.; Wendland, J.R.; Tung, J.Y.; Hinds, D.A.; Perlis, R.H.; Winslow, A.R. Identification of 15 genetic loci associated with risk of major depression in individuals of European descent. *Nat. Genet.* **2016**, *48*, 1031–1036. [CrossRef] [PubMed]
14. Amare, A.T.; Vaez, A.; Hsu, Y.-H.; Direk, N.; Kamali, Z.; Howard, D.M.; McIntosh, A.M.; Tiemeier, H.; Bültmann, U.; Snieder, H.; et al. Bivariate genome-wide association analyses of the broad depression phenotype combined with major depressive disorder, bipolar disorder or schizophrenia reveal eight novel genetic loci for depression. *Mol. Psychiatry* **2020**, *25*, 1420–1429. [CrossRef] [PubMed]
15. Obenchain, V.; Lawrence, M.; Carey, V.; Gogarten, S.; Shannon, P.; Morgan, M. VariantAnnotation: A Bioconductor package for exploration and annotation of genetic variants. *Bioinformatics* **2014**, *30*, 2076–2078. [CrossRef]
16. World Health Organization. *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2017; pp. 1–24. Available online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/25461017> (accessed on 20 August 2021).
17. Whiffin, N.; Minikel, E.; Walsh, R.; O'Donnell-Luria, A.H.; Karczewski, K.; Ing, A.Y.; Barton, P.J.R.; Funke, B.; Cook, S.A.; MacArthur, D.; et al. Using high-resolution variant frequencies to empower clinical genome interpretation. *Genet. Med.* **2017**, *19*, 1151–1158. [CrossRef]
18. Sullivan, P.F.; Neale, M.C.; Kendler, K.S. Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *Am. J. Psychiatry* **2000**, *157*, 1552–1562. [CrossRef]
19. Machiela, M.J.; Chanock, S.J. LDlink: A web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. *Bioinformatics* **2015**, *31*, 3555–3557. [CrossRef]
20. Machiela, M.J.; Chanock, S.J. LDassoc: An online tool for interactively exploring genome-wide association study results and prioritizing variants for functional investigation. *Bioinformatics* **2018**, *34*, 887–889. [CrossRef]
21. Clarke, L.; Zheng-Bradley, X.; Smith, R.; Kulesha, E.; Xiao, C.; Toneva, I.; Vaughan, B.; Preuss, D.; Leinonen, R.; Shumway, M.; et al. The 1000 Genomes Project: Data management and community access. *Nat. Methods* **2012**, *9*, 459–462. [CrossRef]
22. Cardon, L.R.; Palmer, L.J. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* **2003**, *361*, 598–604. [CrossRef]
23. Visscher, P.M.; Wray, N.R.; Zhang, Q.; Sklar, P.; McCarthy, M.I.; Brown, M.A.; Yang, J. 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation. *Am. J. Hum. Genet.* **2017**, *101*, 5–22. [CrossRef] [PubMed]
24. Schaid, D.J.; Sinnwell, J.P.; Jenkins, G.D.; McDonnell, S.; Ingle, J.N.; Kubo, M.; Goss, P.E.; Costantino, J.P.; Wickerham, D.L.; Weinsilboum, R.M. Using the gene ontology to scan multilevel gene sets for associations in genome wide association studies. *Genet. Epidemiol.* **2012**, *36*, 3–16. [CrossRef]

25. Utge, S.; Soronen, P.; Partonen, T.; Loukola, A.; Kronholm, E.; Pirkola, S.; Nyman, E.; Porkka-Heiskanen, T.; Paunio, T. A population-based association study of candidate genes for depression and sleep disturbance. *Am. J. Med. Genet.* **2010**, *153*, 468–476. [[CrossRef](#)]
26. de Araújo Pereira, P.; Romano-Silva, M.A.; Bicalho, M.A.C.; De Marco, L.; Correa, H.; de Campos, S.B.; de Moraes, E.N.; Torres, K.C.D.L.; de Souza, B.R.; de Miranda, D.M. Association Between Tryptophan Hydroxylase-2 Gene and Late-Onset Depression. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **2011**, *19*, 825–829. [[CrossRef](#)]
27. Campos, S.B.; Miranda, D.M.; Souza, B.R.; Pereira, P.A.; Neves, F.S.; Tramontina, J.; Kapczinski, F.; Romano-Silva, M.A.; Correa, H. Association study of tryptophan hydroxylase 2 gene polymorphisms in bipolar disorder patients with panic disorder comorbidity. *Psychiatr. Genet.* **2011**, *21*, 106–111. [[CrossRef](#)]
28. Gao, J.; Jia, M.; Qiao, D.; Qiu, H.; Sokolove, J.; Zhang, J.; Pan, Z. *TPH2* gene polymorphisms and bipolar disorder: A meta-analysis. *Am. J. Med. Genet.* **2016**, *171*, 145–152. [[CrossRef](#)]
29. Oades, R.D.; Lasky-Su, J.; Christiansen, H.; Faraone, S.V.; Sonuga-Barke, E.J.; Banaschewski, T.; Chen, W.; Anney, R.J.; Buitelaar, J.K.; Ebstein, R.P.; et al. The influence of serotonin- and other genes on impulsive behavioral aggression and cognitive impulsivity in children with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): Findings from a family-based association test (FBAT) analysis. *Behav. Brain Funct.* **2008**, *4*, 48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Zhou, K.; Chen, W.; Buitelaar, J.; Banaschewski, T.; Oades, R.D.; Franke, B.; Sonuga-Barke, E.; Ebstein, R.; Eisenberg, J.; Gill, M.; et al. Genetic heterogeneity in ADHD: DAT1 gene only affects probands without CD Genetic heterogeneity in ADHD: DAT1 gene only affects probands without CD. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **2008**, *147B*, 1481–1487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Hack, L.M.; Kalsi, G.; Aliev, F.; Kuo, P.-H.; Prescott, C.A.; Patterson, D.G.; Walsh, D.; Dick, D.M.; Riley, B.P.; Kendler, K.S. Limited associations of dopamine system genes with alcohol dependence and related traits in the Irish Affected Sib Pair Study of Alcohol Dependence (IASPSAD). *Alcohol. Clin. Exp. Res.* **2011**, *35*, 376–385. [[CrossRef](#)]
32. Martelle, S.E.; Raffield, L.M.; Palmer, N.D.; Cox, A.J.; Freedman, B.I.; Hugenschmidt, C.E.; Williamson, J.D.; Bowden, D.W. Dopamine pathway gene variants may modulate cognitive performance in the DHS—Mind Study. *Brain Behav.* **2016**, *6*, e00446. [[CrossRef](#)]
33. Tan, E.-C.; Chua, T.-E.; Lee, T.M.Y.; Tan, H.-S.; Ting, J.L.Y.; Chen, H.Y. Case-control study of glucocorticoid receptor and corticotrophin-releasing hormone receptor gene variants and risk of perinatal depression. *BMC Pregnancy Childbirth* **2015**, *15*, 283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Won, E.; Kang, J.; Kim, A.; Choi, S.; Han, K.-M.; Tae, W.S.; Chang, H.S.; Son, K.R.; Greenberg, T.; Joe, S.-H.; et al. Influence of Bcl1 C/G (rs41423247) on hippocampal shape and white matter integrity of the parahippocampal cingulum in major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology* **2016**, *72*, 147–155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Zobel, A.; Jessen, F.; von Widdern, O.; Schuhmacher, A.; Höfels, S.; Metten, M.; Rietschel, M.; Scheef, L.; Block, W.; Becker, T.; et al. Unipolar depression and hippocampal volume: Impact of DNA sequence variants of the glucocorticoid receptor gene. *Am. J. Med. Genet.* **2008**, *147*, 836–843. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Couto-Silva, C.M.; Nunes, K.; Venturini, G.; Araújo Castro e Silva, M.; Pereira, L.V.; Comas, D.; Pereira, A.; Hünemeier, T. Indigenous people from Amazon show genetic signatures of pathogen-driven selection. *Sci. Adv.* **2023**, *9*, eabo0234. [[CrossRef](#)]

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

CAPÍTULO 3 -ARTIGO SUBMETIDO E ACEITO
PERIÓDICO *BRAZILIAN JOURNAL OF HEALTH REVIEW*

Nutritional aspect and lifestyle related to depressive symptoms: a case-control study

Reis, S. M.; Galarça, L. L.; Santana, F. de F. S.; Rodrigues, C. S.; Chies, J. A. B.; Cañedo, A. D. Nutritional aspects and lifestyle related to depressive symptoms: a case-control study. *Brazilian Journal of Health Review* 2023, 6(5), 2620426219.

[..https://doi.org/10.34119/bjhrv6n5-598](https://doi.org/10.34119/bjhrv6n5-598)



Nutritional aspects and lifestyle related to depressive symptoms: a case-control study

Aspectos nutricionais e estilo de vida relacionados com os sintomas depressivos: estudo caso-controle

DOI:10.34119/bjhrv6n5-598

Recebimento dos originais: 22/09/2023

Aceitação para publicação: 27/10/2023

Samara Marques dos Reis

PhD student in Genetics and Molecular Biology

Institution: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Address: Av. Bento Goncalves n. 9500, Porto Alegre - RS, CEP: 91501-970

E-mail: nutrisamaramdr@gmail.com

Leandro Leal Galarça

Specialist in Hospital Pharmacy

Institution: Hospital Santa Casa de Caridade de Alegrete

Address: Rua General Sampaio, 88, Centro, Alegrete - RS, CEP: 97541-260

E-mail: leandrogalarca_farm@hotmail.com

Fabiane de Fátima Severo Santana

Graduated in Biological Sciences

Institution: Universidade da Região do Pampa

Address: Praça Getúlio Vargas, 47, Alegrete - RS, CEP: 97542-570

E-mail: fabiana.stana@hotmail.com

Clodoaldo Soares Rodrigues

Graduated in Physical Education

Institution: Centro de Apoio Psicossocial II

Address: Praça Dr. Alexandre Lisboa, 1679, Centro, Alegrete - RS, CEP: 97541-14

E-mail: clodoaldosrlindinho@gmail.com

José Artur Bogo Chies

PhD in Life Sciences, Immunology

Institution: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Address: Av. Bento Goncalves n. 9500, Porto Alegre - RS, CEP: 91501-970

E-mail: jabchies@terra.com.br

Andrés Delgado Cañedo

PhD in Genetics and Molecular Biology

Institution: Universidade Federal do Pampa

Address: Rua Aluizio Barros Macedo, BR 290, km 423, Piraí, São Gabriel - RS,

CEP: 97300-970

E-mail: andrescanedo@unipampa.edu.br



ABSTRACT

Depression is a mental condition that affects more than 322 million people worldwide. The nutritional status of individuals diagnosed with depression may change. Individuals with depression may experience changes in eating habits and weight changes. The main objective of this study is to relate the nutritional aspect and lifestyle of depressive patients with the symptoms presented. Through a case-control study, nutritional status, depressive symptoms with the Beck II Inventory, physical activity, tobacco and alcohol consumption, and family history were investigated. The sample consisted of 389 individuals (217 depressive and 172 controls) with a mean age of 45.6 ± 15.6 years (range 16 to 83 years), most of them female (78.1%). In the results obtained, most patients with depression had severe symptoms of depression. Depression was associated with a higher body mass index (BMI) and obesity. Patients with depression were less likely to consume alcohol but more likely to smoke. It is concluded that individuals with depression have a higher prevalence of overweight, smoking, family history of depression and use of medications. A multidisciplinary approach is critical for treating depression and improving patients' quality of life.

Keywords: nutritional status, lifestyle, depression.

RESUMO

A depressão é uma condição mental que afeta mais de 322 milhões de pessoas em todo o mundo. O estado nutricional de indivíduos com diagnóstico de depressão pode sofrer alterações. Indivíduos com depressão podem apresentar mudanças nos hábitos alimentares e alteração de peso. O presente trabalho tem como principal objetivo, relacionar o aspecto nutricional e o estilo de vida de pacientes depressivos com os sintomas apresentados. Através de um estudo caso-controle, investigou-se o estado nutricional, sintomas depressivos com o Inventário de Beck II, atividade física, consumo de tabaco e álcool e história familiar. A amostra foi constituída por 389 indivíduos (217 depressivos e 172 controles) com média de idade de $45,6 \pm 15,6$ anos (intervalo de 16 a 83 anos), a maioria do gênero feminino (78,1%). Nos resultados obtidos a maioria dos pacientes com depressão tinha sintomas graves de depressão. A depressão estava associada a um índice de massa corporal (IMC) mais alto e obesidade. Pacientes com depressão eram menos propensos a consumir álcool, mas mais propensos a fumar. Conclui-se que os indivíduos com depressão têm maior prevalência de excesso de peso, tabagismo, histórico familiar de depressão e uso de medicamentos. Uma abordagem multidisciplinar é fundamental para o tratamento da depressão e para melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

Palavras-chave: estado nutricional, estilo de vida, depressão.

1 INTRODUCTION

According to the World Health Organization (WHO) (2017), depression is a mental condition that affects more than 322 million people worldwide. Moreover, there were 34.2% more cases between 2013 and 2019 in Brazil, where it is predicted that 16.3 million adults over the age of 18 suffer this illness (BRAZILIAN INSTITUTE OF GEOGRAPHY AND STATISTICS, 2020). Depression may occur at any stage of life, but it becomes particularly common in middle age and in the transition from adolescence to adulthood. Women are the



group most susceptible for developing depressive states due to the hormonal changes to which they are exposed (MORSSINKHOF et al., 2020).

Stressful circumstances and biological alterations, such as a decline in monoaminergic neurotransmitters like noradrenaline, dopamine, and serotonin, are among the illnesses primary initiators (CHAVEZ-CASTILLO et al., 2019; IBANEZ et al., 2014).

The World Health Organization (WHO, 2022) describes depressive syndromes as psychiatric, chronic, recurrent diseases that reflect complex mental disorders, highlighting them as a global public health issue. The symptoms of these pathologies include irritability and intolerance in a variety of circumstances, as well as lack of motivation for performing routine daily tasks. Concomitantly, depressive individuals also exhibit changes in appetite, sleep, low self-esteem, exhaustion, and death-related thoughts, which frequently can result in suicide. The assertiveness of the disease diagnosis increases with the severity of the symptoms (PARK; ZARATE, 2002).

Changes in food habits may occur among individuals who have been diagnosed with depression. Because the disease creates emotional imbalance, the symptoms brought on by these changes may alter food intake, which might alter the patients' body weight. Additionally, due to the clinical condition and the aforementioned symptoms, it is more frequent that people seek for food options with low nutritional content that have an impact on the quality of the food items consumed (GIBSON-SMITH et al., 2020; LAZAREVICH et al., 2018; PAGLIAI et al., 2021).

Drug therapy is another element that may affect food intake and, as a result, how much people weigh. This is because antidepressants, which are frequently used to treat depression, can influence changes in body weight. There is more weight gain over time when these drugs are continuously taken, according to some studies (GAFOOR; BOOTH; GULLIFORD, 2018).

Therefore, it is crucial to manage a patient's diet when diagnosed as depressive in order to prevent undesirable weight gain and potential disorders linked to nutritional status (GAFOOR; BOOTH; GULLIFORD, 2018). However, it is important to take into account that some studies suggest that depressive patients may have a drop in appetite at the start of their treatments, which might result in unintentional weight loss (FERNSTROM; KUPFER, 1988).

For the reasons outlined above, a careful nutrition actively contributes to improving health by promoting a better standard of life through appropriate food choices. Tryptophan, zinc, copper, iron, magnesium, and B-complex vitamins are suggested as nutrients that will help the Central Nervous System operates properly since depression directly impacts this system.



According to some studies, a low intake of such nutrients can increase the risk of depression, mostly because fewer neurotransmitters are produced (LIEBERMAN; AGARWAL; FULGONI, 2016; QUAN et al., 2023).

As previously mentioned, mood swings, a decline or loss of interest in activities, low self-esteem, anxiety, and lack of focus are some of the key signs of depression (FRIED; NESSE; STOPA et al., 2015). Therefore, taking into account the reports of nutritional alterations in patients with depression and the importance of a balanced healthy diet and lifestyle (physical activity practice and no alcohol consume or smoking) for the treatment and/or prevention of depression (GENG et al., 2019; WANG et al., 2018), the main objective of this work is to evaluate nutritional aspects and lifestyle of depressive patients, correlating with the symptoms presented.

2 METHODS

This is a case-control study including patients with depression previously diagnosed according to the International Code for Depression (F32-33) (WHO, 1996) and based on the medical records of individuals assisted at the Psychosocial Support Center (*Centro de Apoio Psicossocial*, CAPS) in the municipality of Alegrete-RS, Brazil.

Patients diagnosed with depression and over 20 years old who sought care at the Psychosocial Care Centers (CAPSs) of municipality of Alegrete, were invited to participate at this study. Those accepting the invitation were included, composing the Depression Cases Group (DCG).

CAPSs are public units that serve as articulating structures in the health services network and have a multidisciplinary health team, due to the complexity of the services provided. They assist patients who suffer from severe and persistent mental disorders, offer clinical and psychosocial rehabilitation care, avoiding hospitalizations and favoring social inclusion of users and their families (BRAZIL, 2002). Depression is one important mental disorder that deserves attention in the public health field (PUSSETTI, 2009).

Patients who had some disability that prevented them from understanding the questionnaires and/or those with any condition of vulnerability or whose autonomy was potentially compromised by the psychopharmacological intervention were excluded from the study.

People without a depression diagnosis were selected for the Control Group (CG). Recruitment was carried out by means of invitations on the main sites in the municipality of Alegrete. To be included in the study, the participants should have no personal or family history



(first-degree relatives) of neuropsychiatric diseases such as depression, panic disorder, autism, obsessive-compulsive disorder, schizophrenia and alcoholism. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Pampa (Protocol number 1,808,637).

For the nutritional status assessment, weight was measured using a Plenna® portable digital scale with a maximum capacity of 180 kg and a precision of 100 g; height was obtained using an Avanutri® portable stadiometer; and Body Mass Index (BMI) was calculated, where weight (in kilograms) was divided by height (in meters) squared, following the World Health Organization protocols (WHO, 1995). After calculating BMI, data was grouped according to participants age to classify nutritional diagnoses, as per the cutoff points established for adults (WHO, 1995) and older adults (LIPSCHITZ, 1994).

The Beck-II Inventory (BDI-II), translated into Brazilian Portuguese, was used to assess the depression levels [absence of symptoms (less than 12 points), mild depression (12-19 points), moderate depression (20-45 points), and severe depression (46-64 points)] (BECK; STEER; BROWN, 1996; GOMES-OLIVEIRA *et al.*, 2012). Family history of psychiatric diseases was also assessed during the interviews. Application of the questionnaire for the collection of sociodemographic variables, practice of physical activity, medication use and measurement of anthropometric parameters was carried out by trained and qualified individuals.

In the statistical analysis, normal distribution of the quantitative data was verified using the Kolmogorov-Smirnov test. The numerical variables were described using central tendency (mean and median) and dispersion (standard deviation and interquartile range) measures and the categorical variables, by means of absolute and relative frequencies. The comparison between groups, for quantitative measures, was performed using Student's t, Mann-Whitney, ANOVA and Kruskal-Whallis tests, and the association between the categorical variables was performed using Chi-square and Fisher's exact tests. The multivariate Poisson Regression model was applied to assess the effect of nutritional status and cofactors (with $p < 0.20$ in the univariate and bivariate analyses) on depression. The same analysis was used to assess the effect of depression on the cofactors. The results were considered significant with $p \leq 0.05$. The data were entered and stored in an Excel spreadsheet and analyzed using the Statistical Package for Social Sciences - SPSS 21.0.



3 RESULTS

The sample consisted of 389 individuals (217 depressed and 172 controls) with a mean age of 45.6 ± 15.6 years (range: 16 to 83). Sex distribution indicated mostly female (78.1%). As shown in Table 1, there was a higher proportion of young adults (79.4%), white individuals (82.0%), individuals under medication (52.4%), individuals who did not participate in physical activity (56.8%), nonsmokers (85.1%), and individuals who did not consume alcohol (73.0%).

Compared to individuals in the CG, depressive individuals had a higher BMI ($p=0.002$), were more likely to smoke ($p<0.001$), not being an alcohol consumer ($p=0.039$), to be under medication ($p<0.001$), and have a higher incidence of a family history of depression ($p<0.001$). Regarding age, gender, weight, and physical activity, there was no statistically significant differences between groups (Table 1).

Table 1. Socio-demographic characteristics of the sample grouped and divided according to the control and depression groups, corresponding to individuals treated in the Psychosocial Support Center (CAPS) from the city of Alegrete-RS (n=389).

Variables	Total Sample N (%)	Controls N=172 N (%)	Depression N=217 N (%)	p
<i>Age group</i>				0.549 ^a
Up to 59 years old	309 (79.4)	139 (80.8)	170 (78.3)	
60 years old or more	80 (20.6)	33 (19.2)	47 (21.7)	
<i>Gender</i>				0.275 ^a
Female	304 (78.1)	130 (75.6)	174 (80.2)	
Male	85 (21.9)	42 (24.4)	43 (19.8)	
<i>Ethnicity</i>				0.271 ^b
White	310 (82.0)	147 (85.5)	163 (79.1)	
Black	64 (16.9)	24 (14.0)	40 (19.4)	
Amerindian	4 (1.1)	1 (0.6)	3 (1.5)	
<i>Weight</i>	73.6 \pm 12.5	72.5 \pm 12.1	74.5 \pm 12.7	0.121 ^c
<i>Body Mass Index</i>	27.6 \pm 4.4	26.9 \pm 3.8	28.2 \pm 4.7	0.002^c
<i>Physical activity</i>				0.072 ^a
Yes	168 (43.2)	83 (48.3)	85 (39.2)	
No	221 (56.8)	89 (51.7)	132 (60.8)	
<i>Smoker</i>				<0.001^a
Yes	58 (14.9)	10 (5.8)	48 (22.1)	
No	331 (85.1)	162 (94.2)	169 (77.9)	
<i>Alcohol consumption</i>				0.039^b
Yes	102 (26.2)	54 (31.4)	48 (22.1)	
No	287 (73.8)	118 (68.6)	169 (77.9)	
<i>Under medication</i>				<0.001^a
Yes	204 (52.4)	39 (22.7)	165 (76.0)	
No	185 (47.6)	133 (77.3)	52 (24.0)	

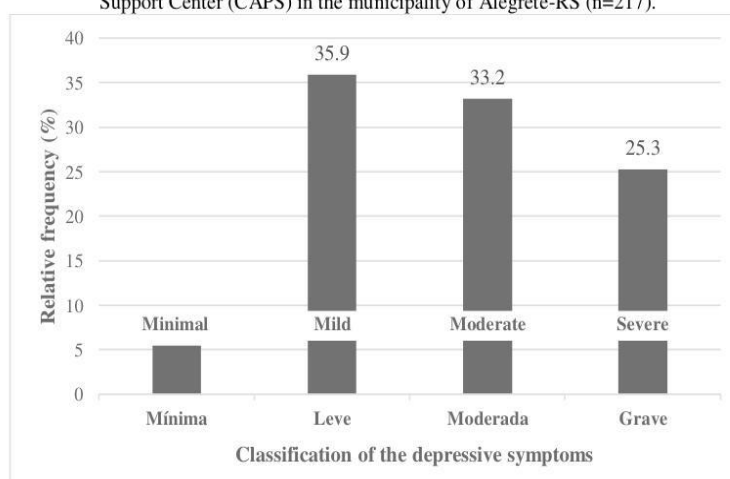


<i>Family history of depression</i>				<0.001^a
Yes	169 (43.4)	42 (24.4)	127 (58.5)	
No	220 (56.6)	130 (75.6)	90 (41.5)	
BDI-II (Median)	14.0	3.0	21.0	<0.001^d
	(3.0-22.0)	(1.0-4.8)	(15.0-29.0)	

a: Pearson's Chi-square test; b: Fisher's Exact test; c: Student's t test; d: Mann-Whitney Test. Note: The missing data were as follows: 11 did not answer about ethnicity. The significant p-values were highlighted in bold type. Source: Authors

Using the Beck-II Inventory (BDI-II) score to evaluate the depressive symptoms of patients treated at the CAPS, the majority of depressive patients (58.5%) were classified as having moderate to severe depressive symptoms (Figure 1).

Figure 1. Frequency of depression according to the Beck-II Inventory of individuals treated at the Psychosocial Support Center (CAPS) in the municipality of Alegrete-RS (n=217).



Source: Authors

The majority of the group with moderate or severe depression symptoms were smokers, whereas the CG participants were mainly non-smokers ($p < 0.001$). A status under medication and family history of depression were both features more frequent among individuals with depression as compared to controls ($p < 0.001$). There was a statistically significant difference between the median BDI-II scores of subjects with minimal or mild depression (15.00) and those with moderate or severe depression (28.0) ($p = 0.001$). Individuals with a moderate to severe depression (severe depressive symptoms) had a BMI of 28.6 kg/m², which was higher than the BMI of 26.9 kg/m² in the CG ($p = 0.003$). Participants who had little or mild depressed symptoms had similar BMIs to the other categories (Table 2). Other comparisons showed no statistically significant differences (Table 2).



Table 2. Sociodemographic, anthropometric, health and lifestyle variables associated with depression, corresponding to individuals assisted at the Psychosocial Support Center (CAPS) in the municipality of Alegrete-RS (n=389).

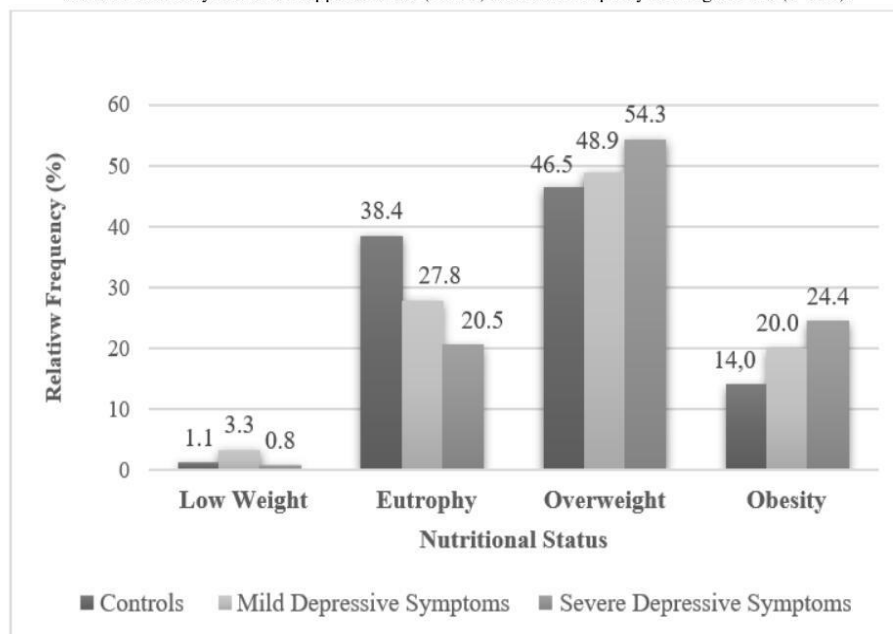
Variables	No depression	With depression		P
	CG N=172 N (%)	Minimal+Mild N=90 N (%)	Moderate+Severe N=127 N (%)	
Age group				0.732 ^A
Up to 59 years old	139 (80.8)	69 (76.7)	101 (79.5)	
60 years old or more	33 (19.2)	21 (23.3)	26 (20.5)	
Gender				0.316 ^A
Female	130 (75.6)	69 (76.7)	105 (82.7)	
Male	42 (24.4)	21 (23.3)	22 (17.3)	
Ethnicity				0.264 ^B
White	147 (85.5)	67 (79.8)	96 (78.7)	
Black	24 (14.0)	17 (20.2)	23 (18.9)	
Amerindian	1 (0.6)	0 (0.0)	3 (2.5)	
Weight	72.5±12.1	73.6±12.4	75.0±12.9	0.217 ^C
Body Mass Index		27.6 ^{ab} ±4.5	28.6 ^a ±4.8	0.003^C
Nutritional status				0.011^B
Underweight	2 (1.2)	3 (3.3)	1 (0.8)	
Eutrophy	66 (38.4)	25 (27.8)	26 (20.5)	
Overweight	80 (46.5)	44 (48.9)	69 (54.3)	
Obesity	24 (14.0)	18 (20.0)	31 (24.4)	
Physical activity				0.083 ^A
Yes	83 (48.3)	40 (44.4)	45 (35.4)	
No	89 (51.7)	50 (55.6)	82 (64.6)	
Smoker				<0.001^A
Yes	10 (5.8)	19 (21.1)	29 (22.8)	
No	162 (94.2)	71 (78.9)	98 (77.2)	
Alcohol consumption				0.096 ^A
Yes	54 (31.4)	22 (24.4)	26 (20.5)	
No	118 (68.6)	68 (75.6)	101 (79.5)	
Under medication				<0.001^A
Yes	39 (22.7)	54 (60.0)	111 (87.4)	
No	133 (77.3)	36 (40.0)	16 (12.6)	
Family history of depression				<0.001^A
Yes	42 (24.4)	44 (48.9)	83 (65.4)	
No	130 (75.6)	46 (51.1)	44 (34.6)	
BDI (Median-II)	3.0 ^c (1.0-4.8)	15.0 ^b (14.0-17.0)	28.0 ^a (23.0-35.0)	<0.001^D

CG: Control Group; p=^A: Pearson's Chi-square test; ^B: Fisher's Exact test; ^C: ANOVA and Bonferroni's *Post-Hoc*; ^D: Kruskal-Wallis and Dunn's *Post-Hoc*. For the *Post-Hoc* tests, different superscript lowercase letters indicate statistically significant differences and equal superscript lowercase letters, differences without statistically significant differences. Note: The missing data were as follows: 11 did not answer about ethnicity. The significant p-values were highlighted in bold type.

Source: Authors

Moderate or severe depression (severe depressive symptoms) was more common in obese people (24.4%), whereas non-depressive subjects (p=0.011) presented the higher frequency of eutrophy (38.4%) (Figure 2).

Figure 2. Nutritional profile according to presence or absence of depression symptoms, among individuals assisted at the Psychosocial Support Center (CAPS) in the municipality of Alegrete-RS (n=389).



p=Fisher's Exact test.
Source: Authors

The independent variables with $p < 0.2$, non-collinear (age, BMI, physical activity, smoker, consumption of alcoholic beverages and family history), in the univariate and bivariate analyses, were included in the multivariate model (Poisson Regression) to assess their association with the outcome of depression (dependent variable), as shown in Table 3.

Following the multivariate analysis, the following variables were still associated to depression. Depression was 26.4% more prevalent in smokers (PR: 1.264; 95%CI: 1.090-1.467; $p = 0.002$). Individuals under medication had a 143.3% higher prevalence of depression (PR: 2.433; 95%CI: 1.868-3.168; $p < 0.001$). A family history of depression raised the prevalence of depression in participants by 31.9% (PR: 1.319; 95%CI: 1.117-1.557; $p < 0.001$) (Table 3).

Table 3 Multivariate analysis of sociodemographic, anthropometric, health and lifestyle variables associated with depression, corresponding to individuals treated at the Psychosocial Support Center (CAPS) in the municipality of Alegrete-RS (n=389).

Variables	B	PR	95% Confidence Interval		P
			Lower	Upper	
(Ordered at origin)	-1.624	0.197	0.120	0.325	0.000
Smoker	0.235	1.264	1.090	1.467	0.002
Consumption of alcoholic beverages	0.010	1.011	0.817	1.250	0.923
Physical activity	-0.094	0.910	0.781	1.061	0.228



		1	.	.	.
Under medication	0.889	2.433	1.868	3.168	0.000
		1	.	.	.
Family history of depression	0.277	1.319	1.117	1.557	0.001
		1	.	.	.
Age in years old	0.000	1.000	0.994	1.006	0.925
Body Mass Index (Scale)	0.011	1.011	0.998	1.024	0.107

P=Poisson Regression. The significant p-values were highlighted in bold type.
 Source: Authors

The following factors were examined as dependent ones while taking depression into account as an independent variable: smoking, drinking alcohol, physical activity, medication use, and BMI. Age and family history are not factors that can be changed depending on the presence or absence of depression.

It was found that depression decreased alcohol intake by 70.5% (PR: 0.705; 95%CI: 0.505-0.983; p=0.040) and increased cigarette usage by 380.4% (PR: 3.805; 95%CI: 1.984-7.297; p0.001). It was associated to increased consumption of medications by 235.3% (PR: 3.353; 95%CI: 2.520-4.463; p0.001) and was not significantly associated with physical activity (PR: 0.812; 95%CI: 0.647-1.018; p=0.071).

4 DISCUSSION

In comparison to individuals who did not report depression, patients with depressive symptoms exhibited alterations in their diet and lifestyle, according to the collected data. As a multifactorial disease, depression can be triggered by several distinct factors, including those related to lifestyle. For instance, it has been demonstrated that poor eating practices can explain an increase in depressive symptoms (SARRIS et al., 2014).

Analyzing the prevalence of depression according to the BDI-II in the present study, 58.5% of the depressive patients treated at the CAPS exhibited severe depressive symptoms, highlighting the need of multi-professional and multidisciplinary surveillance in the treatment of this pathology.

Women are more likely to develop depression than men due to biological and sociocultural differences. Also, a higher frequency of women diagnosed with depression can be related to the ability to recognize signs and symptoms of psychiatric disorders, particularly depressive symptoms, and to seek help (BRITO et al., 2022; KUEHNER, 2017).

In our comparison between individuals with and without depressive symptoms, it was observed that participants with moderate and severe depression symptoms had higher BMI values and a higher prevalence of obesity; conversely, the Control Group participants were



more frequently eutrophic. Obesity is associated with an increased prevalence of mental disorders, including depression (BLAINE, 2008; WEISS et al., 2020). This relationship between BMI and depression is corroborated by other studies (BLAINE, 2008; WEISS et al., 2020).

The relationship between BMI and depression is complex and multifactorial; some studies have shown an association between depression and low food consumption, weight loss, and malnutrition (SMOLINER et al., 2009; YOSHIMURA et al., 2013), which was not observed in the participants of these studies. In addition, other studies suggested that individuals with a high BMI have an increased risk of developing depression, as obesity can result in neurological and hormonal changes that can affect mood and behavior, as demonstrated by Eik-Nes et al. (2022). In this case, the explanation is that obesity can result in low self-esteem, a negative body image, and social stigma, all of which can increase the risk of depression. According to Luppino et al. (2010), the most plausible hypothesis is the existence of a bidirectional relationship between obesity and depression; in this process, depression can lead to obesity and obesity can lead to depression. The authors argue that early interventions to cure depression and obesity are advantageous for both conditions. (FAULCONBRIDGE et al., 2018; PENNINX et al., 2013). In order to determine the relationship between BMI and depression, it is necessary to evaluate each case separately, taking into account biological, environmental, and psychological factors. Physical and mental health care is essential for preventing and treating obesity and melancholy. (KONTTINEN, 2020; FULTON et al., 2022).

Complementary to the findings of Tsujita et al. (2020), who investigated physical activity in adults with and without depressive symptoms and found a decline in physical activity in patients with depression, the majority of individuals with depressive symptoms and controls did not engage in physical activity in our study.

Regarding alcohol consumption, the majority of individuals addressed by our study did not consume alcohol (73.8%), and when comparing the depressed and non-depressed groups, depressed patients consumed less alcohol ($p=0.039$). This result was validated by the multivariate analysis, which revealed that the depression factor decreased alcohol consumption by 70.5%. Interestingly, this result goes against the findings of several other studies which observed a correlation between an increase in alcohol consumption and the severity of depressive symptoms. For example, Grant et al. (2015) observed that individuals with depressive disorders are more likely to develop alcoholism, and vice versa. In fact, these apparently contradictory results can be easily explained by the use of alcohol-prohibiting medications to depression treatment. Excessive alcohol consumption can be associated with the



onset or exacerbation of depressive symptoms. Boden et al. (2013) discovered a correlation between alcohol consumption and melancholy in a sample of young adults. In addition, alcohol abuse is associated with an increased risk of suicide in people with mental disorders, such as depression (HAWTON et al., 2016). Future research should evaluate the hypothesis that individuals who view alcohol as a solution to their problems would not seek help at a CAPS, which may be related to the fact that the sample was obtained from a treatment center.

An increase in tobacco consumption was associated with an increase in melancholy (26.4%), and depression was also related to smoking, with a 380.4% increase in the prevalence of tobacco use among depressed subjects. Our data corroborate the study of Warren et al. (2008), which also found a reciprocal relationship between smoking and melancholy.

Not surprisingly, when evaluating medication consumption, it was found that individuals with depressive symptoms consumed more medication than controls ($p < 0.001$). In the multivariate analysis, the use of medication was associated to an increased prevalence of depression by 143.3%, while depression increased the use of medication by 235.3%. This can be explained by the use of antidepressants as well as by the existence of other (VERIFICA ESTE DADO) chronic diseases, as reported by the research participants.

Depression was also associated with family history, with participants having a 31.3% higher prevalence of depression if they had depressive relatives. According to Sullivan et al. (2000), patients with depressed first-degree relatives are nearly three times more likely to develop depressive disorders, and those with a family history of depression are more likely to develop depression during their lifetime (MONROE; SLAVICH; GOTLIB, 2014). Such studies corroborate findings from the scientific literature that patients with depressed first-degree relatives are nearly three times more likely to develop depressive disorders.

In Brazil, the mental health care model has evolved a lot, but there are still points to be improved, such as professional training, coverage of health care and dissemination of information (BOAVENTURA *et al.*, 2021).

The results of the present study indicate that nutritional aspects and lifestyle factors such as tobacco and medication use are related to depression. In addition, these findings highlight the need for additional research on this topic in an attempt to approach those parameters among both depressive patients treated at CAPS as well as depressive patients who do not seek treatment at these centers.



5 CONCLUSION

On the basis of the results presented, it can be concluded that depressive individuals had a higher prevalence of overweight, obesity, smoking habit, and depressive relatives, as compared to controls.

These results demonstrate the importance of also addressing melancholy risk factors. These demographic and behavioral characteristics can aid in the early diagnosis and formulation of more effective prevention and treatment strategies for depression.

In addition, the majority of depressive patients exhibited moderate to severe depressive symptoms according to the BDI-II assessment of depressive symptoms. These findings highlight the need of a multidisciplinary team in the monitoring and treatment of depressive patients, aimed at an individualized therapeutic approach to treat depressive symptoms and enhance the life quality of these patients.



REFERENCES

- BLAINE, B. Does depression cause obesity?: A meta-analysis of longitudinal studies of depression and weight control: A meta-analysis of longitudinal studies of depression and weight control. **Journal of health psychology**, v. 13, n. 8, p. 1190–1197, 2008.
- BOAVENTURA, M. A. et al. Doenças mentais mais prevalentes no contexto da atenção primária no Brasil: uma revisão de literatura / Most prevalent mental diseases in the context of primary care in Brazil: a literature review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 5, p. 19959–19973, 2021.
- BRITO, V. C. DE A. et al. Prevalence of self-reported depression in Brazil: National Health Survey 2019 and 2013. **Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil**, v. 31, n. spe1, p. e2021384, 2022.
- CHÁVEZ-CASTILLO, M. et al. Depression as a neuroendocrine disorder: Emerging neuropsychopharmacological approaches beyond monoamines. **Advances in pharmacological sciences**, v. 2019, p. 7943481, 2019.
- CHEN, X. et al. Consumption of ultra-processed foods and health outcomes: a systematic review of epidemiological studies. **Nutrition journal**, v. 19, n. 1, p. 86, 2020.
- FAULCONBRIDGE, L. F. et al. Combined treatment for obesity and depression: A pilot study: Combined treatment for obesity and depression. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 26, n. 7, p. 1144–1152, 2018.
- FERNSTROM, M. H.; KUPFER, D. J. Antidepressant-induced weight gain: A comparison study of four medications. **Psychiatry research**, v. 26, n. 3, p. 265–271, 1988.
- FRANÇA, C. L. et al. Contribuições da psicologia e da nutrição para a mudança do comportamento alimentar. **Estudos de psicologia**, v. 17, n. 2, p. 337–345, 2012.
- FREEMAN, M. The World Mental Health Report: transforming mental health for all. **World psychiatry: official journal of the World Psychiatric Association (WPA)**, v. 21, n. 3, p. 391–392, 2022.
- FRIED, Eiko I.; NESSE, Randolph M. Depression is not a consistent syndrome: An investigation of unique symptom patterns in the STAR*D study. **Journal of Affective Disorders**, v. 172, p. 96–102, 2015.
- FULTON, S. et al. The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 33, n. 1, p. 18–35, 2022.
- GAFOOR, R.; BOOTH, H. P.; GULLIFORD, M. C. Antidepressant utilisation and incidence of weight gain during 10 years' follow-up: population based cohort study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 361, p. k1951, 2018.
- GENG, C. et al. Vitamin D and depression: mechanisms, determination and application. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 28, n. 4, p. 689–694, 2019.
- GIBSON-SMITH, D. et al. Association of food groups with depression and anxiety disorders. **European journal of nutrition**, v. 59, n. 2, p. 767–778, 2020.



- GOMES-OLIVEIRA, M. H. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Beck Depression Inventory-II in a community sample. **Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)**, v. 34, n. 4, p. 389–394, 2012.
- GRANT, B. F. et al. Epidemiology of DSM-5 alcohol use disorder: Results from the National Epidemiologic Survey on alcohol and Related Conditions III. **JAMA psychiatry (Chicago, Ill.)**, v. 72, n. 8, p. 757–766, 2015.
- HAWTON, K. et al. Psychosocial interventions for self-harm in adults. **Cochrane database of systematic reviews**, v. 2021, n. 5, p. CD012189, 2016.
- IBANEZ, G. et al. Adesão e dificuldades relacionadas ao tratamento medicamentoso em pacientes com depressão. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 67, n. 4, p. 556–562, 2014.
- KONTTINEN, H. Emotional eating and obesity in adults: the role of depression, sleep and genes. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v. 79, n. 3, p. 283–289, 2020.
- LAZAREVICH, I. et al. Depression and food consumption in Mexican college students. **Nutricion hospitalaria: organo oficial de la Sociedad Espanola de Nutricion Parenteral y Enteral**, v. 35, n. 3, p. 620–626, 2018.
- LIEBERMAN, H. R.; AGARWAL, S.; FULGONI, V. L., 3rd. Tryptophan intake in the US adult population is not related to liver or kidney function but is associated with depression and sleep outcomes. **The journal of nutrition**, v. 146, n. 12, p. 2609S-2615S, 2016.
- LIPSCHITZ, D. A. Screening for nutritional status in the elderly. **Primary care**, v. 21, n. 1, p. 55–67, 1994.
- LUPPINO, F. S. et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. **Archives of general psychiatry**, v. 67, n. 3, p. 220–229, 2010.
- MONROE, S. M.; SLAVICH, G. M.; GOTLIB, I. H. Life stress and family history for depression: the moderating role of past depressive episodes. **Journal of psychiatric research**, v. 49, p. 90–95, 2014.
- MORSSINKHOF, M. W. L. et al. Associations between sex hormones, sleep problems and depression: A systematic review. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 118, p. 669–680, 2020.
- PAGLIAI, G. et al. Consumption of ultra-processed foods and health status: a systematic review and meta-analysis. **The British journal of nutrition**, v. 125, n. 3, p. 308–318, 2021.
- PARK, T Lawrence; ZARATE, Carlos A Jr. Depression in the primary care setting. **New England Journal of Medicine**. V. 380, n. 6, p. 559-568, 2019.
- PENNINX, B. W. J. H. et al. Understanding the somatic consequences of depression: biological mechanisms and the role of depression symptom profile. **BMC medicine**, v. 11, n. 1, p. 129, 2013.
- PUSSETTI, C. Biopolíticas da depressão nos imigrantes Africanos. **Saúde e Sociedade**, v. 18, n. 4, p. 590–608, 2009.



QUAN, Z. et al. Appropriate macronutrients or mineral elements are beneficial to improve depression and reduce the risk of depression. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 8, p. 7098, 2023.

SARRIS, J. et al. Lifestyle medicine for depression. **BMC psychiatry**, v. 14, n. 1, p. 107, 2014.

SMOLINER, C. et al. Malnutrition and depression in the institutionalised elderly. **The British journal of nutrition**, v. 102, n. 11, p. 1663–1667, 2009.

STOPA, S. R. et al. Prevalência do autorrelato de depressão no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista brasileira de epidemiologia [Brazilian journal of epidemiology]**, v. 18 Suppl 2, n. suppl 2, p. 170–180, 2015.

SULLIVAN, P. F.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. **The American journal of psychiatry**, v. 157, n. 10, p. 1552–1562, 2000.

TSUJITA, N. et al. Physical activity, nutritional status, and autonomic nervous system activity in healthy young adults with higher levels of depressive symptoms and matched controls without depressive symptoms: A cross-sectional study. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 690, 2020.

WANG, J. et al. Zinc, magnesium, selenium and depression: A review of the evidence, potential mechanisms and implications. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 584, 2018.

WARREN, C. W. et al. Global youth tobacco surveillance, 2000-2007. **MMWR Surveillance Summaries**, v. 57, n. 1, p. 1–28, 2008.

WEISS, F. et al. Psychiatric aspects of obesity: A narrative review of pathophysiology and psychopathology. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 8, p. 2344, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diagnostic and management guidelines for mental disorders in primary care: Icd-10 chapter V primary care version**. Toronto, ON, Canada: Hogrefe & Huber, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Depression and other common mental disorders: global health estimates**. [s.l.] World Health Organization, 2017. Acesso em: 5 jun. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION(WHO). **Physical Status - the Use and Interpretation of Anthropometry: Report of a WHO expert committee**. Genève, Switzerland: World Health Organization, 1995.

YOSHIMURA, K. et al. Relationship between depression and risk of malnutrition among community-dwelling young-old and old-old elderly people. **Aging & mental health**, v. 17, n. 4, p. 456–460, 2013.

**CAPÍTULO 4 - ARTIGO EM CONSTRUÇÃO QUE SERÁ
SUBMETIDO AO PERIÓDICO *JOURNAL OF THE
AMERICAN COLLEGE OF NUTRITION***

*Evaluation of the tryptophan diet and polymorphisms of the
tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene in depressive
individuals*

Evaluation of the tryptophan diet and polymorphisms of the tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene in depressive individuals

Samara Marques Dos Reis^{ab*}, Andrés Delgado Cañedo^b José Artur Bogo Chies^a

^aCentro de Pesquisa em Biotecnologia, Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brazil;

^bLaboratório de Imunobiologia e Imunogenética, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

*Correspondence: nutrisamaramdr@gmail.com; Telephone number: +55-55-999996050

Evaluation of the tryptophan diet and polymorphisms of the tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene in depressive individuals

Introduction

In a recent report the World Health Organization (WHO) highlights that the prevalence of depression in Brazil reached the highest level in the last years. Since depression is a highly incapacitating condition which affects 4.4 percent of the world population, such an alert should be taken seriously [1]. Depression is a complex pathology, being associated to other disorders at the biochemical level, which include alterations in neurotransmitter levels and expression. Modifications on the expression levels of serotonin (5-hydroxytryptamine), which is one of the most studied neurotransmitters in humans, have been extensively reported as being associated to altered behaviours such as mood swings, anxiety, sadness, and inhibited psychomotricity. In this sense, a relationship between depression and decreased levels of serotonin in the brain has already been established [2-3-4].

Serotonin biosynthesis proceeds from the amino acid tryptophan through the action of several enzymes, being tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) the main limiting factor in the serotonin pathway synthesis [5-6]. Polymorphisms in the *TPH2* gene have been associated to a variety of behavioral phenomena, which vary from relatively mild mood disorders to even suicide attempts [3-7].

It is known that levels of both serotonin and tryptophan in individuals depend, amongst other factors, on the diet, specifically considering food intake. In this context, research approaching tryptophan food intake is quite important for the comprehension of depression triggering factors and to the development of potential treatment. Besides, the increased incidence of depression on different human populations highlights the need of more research on this subject, considering simultaneously genetic and environmental factors. Here we

approach the hypothesis that a tryptophan deficient diet in carriers of genetic variants of the *TPH2* gene can be a trigger to the development of mood swings in depressive patients.

Material and Methods

A sample of 397 individuals was evaluated in a case-control study, being collected in the period from January to December 2017 in the Center of Psychosocial Care (CAPS) of Alegrete, a city located in the southernmost state of Brazil. From these, 217 were classified as F32-33, according to the International Code of the disease of depression [18] and 180 were classified as healthy controls. Individuals from this sample were randomly collected amongst the people who sought care in this CAPS, and both control and case groups were composed by adult individuals aged 20 years or more. Patients who have some disability preventing understanding of questionnaires and/or presented any condition of vulnerability, or whose autonomy was potentially compromised by psychopharmacological intervention, were not included in the study.

Individuals were invited to participate in the survey as controls after a judiciously selection. Recruitment was carried out through invitation in the main sites of Alegrete. To be included in the present study, controls should have no personal or family history (first-degree relatives) of neuropsychiatric illnesses such as depression, panic disorder, autism, obsessive-compulsive disorder, schizophrenia or alcoholism. The research protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Universidade Federal do Pampa (Protocol 1808637).

Food Consumption, Nutritional and Anthropometrical Evaluations

A 24-Hour Dietary Recall and Food Frequency questionnaire was applied in order to assess the amount of tryptophan ingested [19-20], which was evaluated by the Nutri Life Software [21].

Depression levels assessment

The Beck Depression Inventory-II, translated in Brazilian Portuguese was used to assess depression levels [absence of symptoms (less than 12 points), mild depression (12 to 19 points), moderate depression (20 to 45 points), severe depression (46 to 64 points)] [22-23]. Familial history of psychiatric illness was also assessed during the interviews.

Analysis of polymorphisms

Total DNA was extracted from a five ml sample of peripheral blood using the PureLink Genomic DNA Mini Kit by following the manufacturer's recommendations and was stored at -20°C until use. The standard recommendations of the National Health Surveillance Agency (ANVISA) were followed to ensure safety, minimize health risks and preserve the integrity of the transported material [24].

Three selected tag SNPs were genotyped using the TaqMan Kit® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA) (Table 1). The probes used correspond to the following SNPs: rs4570625, rs11179000, rs17110747. All polymorphisms were chosen according to the frequencies observed in the HAPMAP database and 1000genomas and 10% of all samples were double checked for quality control.

Statistical analysis

The data was stored in an Excel spread sheet and analyzed with the Statistical Package for the Social Sciences-SPSS 21.0. The normality of the distribution of quantitative data was verified with the Kolmogorov-Smirnov test. Numerical variables were described by means of measures of central tendency (mean and median) and dispersion (standard deviation and interquartile range), and categorical variables for absolute and relative frequency. The comparison between the groups, for quantitative measures, was performed with the Student's

T-Test and Mann-Whitney tests, and the differences between the categorical variables among the groups, with the Chi-square and Fischer's exact tests. The results were considered significant with $p \leq 0.05$.

Results

A total of 217 depressive individuals were evaluated, with an average age of 49.1 ± 13.7 years. Most of the patients were female (80.3%), young adults (84.4%), ethnically classified as white (79.2%), with moderate e severe depression (69.3%).

For the control group 180 subjects were evaluated, with an average age of 49.5 ± 14.4 years, most of them females (76.7%) and ethnically classified as white (86.1%).

Considering the degree of depression, 35.8% were diagnosed with mild depression, 33.5% as having moderate depression, 25.3% severe depression ($P = <0.001$). Also, depressed individuals ingested lower amounts of tryptophan when compared to non-depressed ones ($P <0.001$). Other characteristics showed no significant statistical differences between cases and controls (Table 2).

References

1. World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates. World Health Organization. 2017;1–24.
2. Vrshek-Schallhorn S, Stroud CB, Mineka S, Zinbarg RE, Adam EK, Redei EE, et al. Additive genetic risk from five serotonin system polymorphisms interacts with interpersonal stress to predict depression. *J Abnorm Psychol*. 2015. 124(4): 776–790.
3. Ottenhof KW, Sild M, Lévesque ML, Ruhé HG, Booij L. TPH2 polymorphisms across the spectrum of psychiatric morbidity: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2018. 92:29–42.
4. Liangliang P, Jian X, Cong Z, Jin L, Yi L, Zonglin S, et al. Tryptophan hydroxylase-2 polymorphism is associated with white matter integrity in first-episode, medication-naïve major depressive disorder patients. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2019. 286:4–10.
5. Cichon S, Winge I, Mattheisen M, Georgi A, Karpushova A, Freudenberg J, et al. Brain-specific tryptophan hydroxylase 2 (TPH2): a functional Pro206Ser substitution and variation in the 5'-region are associated with bipolar affective disorder. *Hum Mol Genet*. 2008. 17(1):87–97.
6. Ma J, Xiao H, Yang Y, Cao D, Wang L, Yang X, et al. Interaction of tryptophan hydroxylase 2 gene and life events in susceptibility to major depression in a Chinese Han population. *J Affect Disord*. 2015. 188: 304-309.
7. Nazree NE, Loke AC, Zainal NZ, Mohamed Z. Lack of association between TPH2 gene polymorphisms with major depressive disorder in multiethnic Malaysian population. *Asia Pac Psychiatry*. 2015.7(1):72–7.
8. Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJL, et al. Burden of Depressive Disorders by Country, Sex, Age, and Year: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS Med*. 2013. 10(11).

9. Yang L, Zhao Y, Wang Y, Liu L, Zhang X, Li B, et al. The effects of psychological stress on depression. *Curr Neuropharmacol*. 2015. 13(4):494–504.
10. Sullivan PF, Neale MC, Ph D, Kendler KS. Reviews and Overviews Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *Am J Psychiatry* 2000; 157:1552-1562.
11. Rossi L, Tirapegui J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2004 Apr;48(2):227–33.
12. Rossi L, Tirapegui J. Aminoácidos de cadeia ramificada e atividade física. *Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física*. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. p.153-161.
13. Shen X, Wu Y, Qian M, Wang X, Hou Z, Liu Y. et al. Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population. *J Affect Disord*. 2011. 133(3):619-24.
14. de Araújo Pereira P, Romano-Silva MA, Bicalho MAC, De Marco L, Correa H, de Campos SB, et al. Association Between Tryptophan Hydroxylase-2 Gene and Late-Onset Depression. *AM J GERIAT PSYCHIAT*. 2011. 19(9):825–9.
15. Zhang X, Nicholls PJ, Laje G, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Albert PR, et al. A functional alternative splicing mutation in human tryptophan hydroxylase 2. *Mol Psychiatry*. 2011. 16(12):1169–76.
16. Tsai S-J, Hong C-J, Liou Y-J, Yu YW-Y, Chen T-J, Hou S-J, et al. Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2009. 33(4):637–41.
17. Yang J, Zhao X, Ma J, Qiao Z, Yang X. The Interaction of TPH2 and 5-HT2A Polymorphisms on Major Depressive Disorder Susceptibility in a Chinese Han Population: A Case-Control Study. *Front Psychiatry*. 2019. 10:1–7.

18. World Health Organization. Through mental and behavioral disorders ICD-10 PA-diagnostic and treatment Guidelines for mental disorders in primary care. Porto Alegre: Medical Arts, 1998.
19. Gibson RS. Principles of nutritional assessment. Oxford: Oxford University Press; 1990. Food consumption of individuals; p. 37-54. 18.
20. Buzzard M. 24-hours dietary recall and food record methods. In: Willett WC. Nutritional epidemiology. 2 ed. Oxford: Oxford University Press; 1998. p. 50-73.
21. NutriLife Software Version 9.12. Maringá, (2019).
22. Beck A T, Steer, RA, Brown GK. BDI-II Manual. The Psychological Corporation, Harcourt Brace & Company. San Antonio. 1996.
23. Gorenstein C, Pang WY, Argimon IL, Werlang BSG. Beck Depression Inventory-II. Manual. São Paulo, SP: Home of the Psychologist. 2011.
24. Brazil. The national health surveillance agency. Resolution RDC n. 20, of 10 April 2014. Rules on the health regulation for the transport of human biological material. Official Gazette, Brasilia, p. 67, 11 Apr 2014.

Table 1-GenotipicSequencia

ID Applied	rs	Location	Sequence
C____226207_1 0	rs4570625	Chr.12: 71938143 on GRCh38	TCACACATTTGCATGCACAAAATTA [G/T]AATATGTCAAGTCAGAAAAAGCTTA
C_31110852_10	rs11179000	Chr.12: 71944848 on GRCh38	TCCAAATGATAAAGCTTCCCTGTAC [A/T]CGTGTTGACTGGAAGCGGGTTAGAA
C_33094018_10	rs17110747	Chr.12: 72032174 on GRCh38	GGAAACTTCCCATCACAATAACAAA [A/G]GTTCAATATTCTATTTCAAAAATTG

Table 2. Characteristics of variables that define the cases (depression) and controls of the study in the municipality of Alegrete-RS. N = 398

VARIABLES	Control N= 180 N (%)	Depression N=217 N (%)	P
<i>Age in years (mean±SD)</i>	49.5±14.4	49.1±13.7	0.751 ^a
<i>Age Group</i>			0.467 ^b
18-64 years	147 (81.7)	184 (84.4)	
65 years or over	33 (18.3)	34 (15.6)	
<i>Gender</i>			0.382 ^b
Female	138 (76.7)	175 (80.3)	
Male	42 (23.3)	43 (19.7)	
<i>Ethnic origin</i>			0.202 ^c
White	155 (86.1)	164 (79.2)	
Black	24 (13.3)	40 (19.3)	
Amerindian	1 (0.6)	3 (1.4)	
<i>Beck Depression Inventory-II (Median-II)</i>	3,0 (1.0-5.0)	21,0 (15.0-29.0)	<0.001 ^d
<i>Levels of depression</i>			
Minimal/no depression	0 (0.0)	12 (5.5)	<0.001 ^b
Mild depression	0 (0.0)	78 (35.8)	
Moderate depression	0 (0.0)	73 (33.5)	
Severe depression	0 (0.0)	55 (25.2)	
<i>Tryptophan of the Diet (Median-II) mg</i>	477.2 (362.6-758.8)	304.6 (198.8-525.3)	<0.001 ^d

a: Student's T-test; b: Pearson's Chi-square Test; c: Fischer exact test. Note: the missing data were: 11 not responded about race. II: Interquartile Range

Table 3. Food Frequency the cases (depression) and controls of the study in the municipality of Alegrete-RS. N = 398

Groups	Depression	Daily	Weekly	Weekly	Never/Rar	P
		N (%)	1-2 x N (%)	3-4x N (%)	ely N (%)	
Starch	No	174 (96.7)	0 (0.0)	2 (1.1)	4 (2.2)	0.328 ^a
	Yes	214 (98.2)	0 (0.0)	3 (1.4)	1 (0.5)	
Proteín	No	136 (75.6)	0 (0.0)	42 (23.3)	2 (1.1)	< 0.001 ^a
	Yes	204 (93.6)	1 (0.5)	11 (5.0)	2 (0.9)	
Vegetables, tubers, leguminous, seed and fungus	No	173 (96.1)	0 (0.0)	7 (3.9)	0 (0.0)	0.578
	Yes	209 (95.9)	0 (0.0)	7 (3.2)	2 (0.9)	
Fruit	No	72 (40)	28 (15.6)	34 (18.9)	46 (25.6)	0.033
	Yes	114 (52.3)	37 (17)	25 (11.5)	42 (19.3)	
Fat	No	70 (38.9)	19 (10.6)	57 (31.7)	34 (18.9)	< 0.001
	Yes	134 (61.5)	11 (5.0)	35 (16.1)	38 (17.4)	
Candy	No	36 (20)	19 (10.6)	86 (47.8)	39 (21.7)	0.001
	Yes	83 (38.1)	19 (8.7)	80 (36.7)	36 (16.5)	

P: a) Fischer's exact test; b) Pearson's Chi-squared

CAPÍTULO 5 - DISCUSSÃO, PERSPECTIVAS E CONCLUSÃO

5 DISCUSSÃO E PERSPECTIVAS

O debate entre a relação de polimorfismos genéticos e a depressão é um tema complexo e em constante evolução nas pesquisas científicas. As variantes genéticas podem influenciar a suscetibilidade a patologias ou características clínicas ou comportamentais de um indivíduo, como a depressão.

O trabalho apresentado no capítulo II, contribui propondo uma metodologia para a detecção de variantes potencialmente envolvidas em uma patologia específica. Nossa hipótese é verificada utilizando dados sobre depressão maior da OMS e bancos de dados populacionais de variantes, como o Projeto 1.000 Genomas.

O postulado em nosso trabalho é que a frequência de variantes genéticas associadas à depressão no banco de dados de variantes genéticas deve ser maior em populações humanas com altas taxas de depressão, enquanto as variantes genéticas não associadas à depressão não devem estar em frequências distintas entre esses grupos populacionais. Além disso, as populações com baixas taxas de depressão devem apresentar baixas frequências das variantes genéticas associadas à doença.

Para um teste deste conceito, foram avaliados quatro genes (*TPH2*, *NR3C1*, *SLC6A2* e *SLC6A3*) previamente genotipados em estudos caso-controle envolvendo depressão. Esta abordagem representa uma opção metodológica alternativa para a descoberta de possíveis variantes genéticas para a patologia em estudo nesta tese, mas também pode ser aplicada ao estudo de outras doenças genéticas multifatoriais.

A partir de nossos resultados indicativos positivos acreditamos que estudos de caso-controle com SNP alvo, para a patologia em estudo devam ser desenvolvidos. Uma possibilidade de continuidade desta proposta envolve os capítulos III e IV do presente trabalho.

Nesse sentido, o capítulo III desta Tese aborda a relação entre o estilo de vida, estado nutricional e depressão. Os resultados demonstram que a relação entre depressão e IMC é complexa e bidirecional, com obesidade podendo aumentar o risco de depressão e vice-versa;

Neste mesmo trabalho, a depressão foi associada ao menor consumo de álcool e maior tabagismo, possivelmente devido ao uso de álcool como mecanismo de enfrentamento. Esses resultados preliminares salientam a importância de abordar esses fatores de risco para um diagnóstico precoce e estratégias de prevenção e tratamento mais eficazes da depressão. Ademais, fica claro que uma abordagem multidisciplinar é fundamental para o tratamento da depressão e para melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

Assim como foi utilizada a depressão como modelo para testagem da metodologia proposta nos capítulos anteriores, pesquisamos a genética da depressão no estudo de caso controle, em um trabalho que está em construção, apresentado no Capítulo IV.

Esta etapa da pesquisa tem como objetivo avaliar a influência de uma dieta deficiente em triptofano juntos aos polimorfismos *TPH2* no desenvolvimento da depressão. O gene *TPH2* foi escolhido para a pesquisa devido ao grande número de estudos relatando a relação entre a depressão e o polimorfismos da enzima TPH2, devido à enzima ser uma limitante na taxa na via sintética para a serotonina do cerebral.

Os dados preliminares sugerem que, nesta coorte, pacientes diagnosticados com depressão leve ou moderada ingerem menor quantidade de triptofano quando comparados aos não depressivos. Observou-se que o menor consumo de triptofano esteve associado à maior prevalência de sintomas.

Assim, nossos achados sugerem uma associação entre uma dieta deficiente em triptofano e o desenvolvimento e sintomatologia de depressão. Contudo, ainda iremos genotipar três SNPs do gene da Triptofano Hidroxilase 2 (*TPH2*), para testar se as variantes mutantes podem contribuir para o desenvolvimento da patologia.

6 CONCLUSÃO

A presente tese aborda um tema muito estudado na comunidade científica, a relação entre a genética e a depressão. Na mesma, apresentou-se uma metodologia alternativa na detecção de variantes genéticas potencialmente associadas à depressão, utilizando os dados epidemiológicos da doença ao redor do mundo e bancos de dados de variantes genéticas em diferentes populações, como o Projeto 1000 Genomas. A hipótese testada, na qual a premissa que uma maior frequência de variantes genéticas associadas à depressão em populações com altas taxas da doença, foi sustentada por resultados positivos.

Posteriormente, explorou-se a relação entre o estilo de vida, estado nutricional e depressão, onde os achados indicaram uma complexa e bidirecional interação entre a obesidade e a depressão, demonstrando a importância de uma abordagem multidisciplinar para o tratamento e prevenção eficaz da depressão. Ao mesmo tempo, os dados mostram que a depressão associou-se com menor consumo de álcool e maior tabagismo.

Embora a pesquisa que tem por finalidade avaliar se uma dieta deficiente em triptofano pode participar no desenvolvimento da depressão em pacientes que apresentam polimorfismos do gene *TPH2*, ainda está em andamento, os resultados preliminares sugerem uma associação entre a ingestão reduzida de triptofano com a presença de sintomas depressivos, faltando ainda obter informações sobre os potenciais mecanismos genéticos e nutricionais envolvidos na patogênese da depressão.

Em conjunto, esses achados colaboram com o entendimento da depressão como uma doença multifatorial, envolvendo não apenas fatores genéticos, mas também aspectos relacionados ao estilo de vida e à nutrição. A abordagem multidisciplinar destaca a necessidade de estratégias de diagnóstico precoce e intervenções personalizadas para abordar essa patologia, possibilitando avanços significativos na prevenção e tratamento da doença, bem como na melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

- Alheira, F. V., Brasil, M. A. A.. (2005). O papel dos glicocorticóides na expressão dos sintomas de humor: uma revisão. *Revista De Psiquiatria Do Rio Grande Do Sul*, 27(2), 177–186. <https://doi.org/10.1590/S0101-81082005000200008>
- Amireault P, Sibon D and Côté F. (2013). Life without peripheral serotonin: insights from tryptophan hydroxylase 1 knockout mice reveal the existence of paracrine/autocrine serotonergic networks. *ACS Chemical Neuroscience*, 4(1), 64–71. doi:10.1021/cn300154j
- Araújo ASF, Vieira INU, da Silva JNF, de Faria SP, Nunes GL, Khouri AG and da Silveira AA. (2020). Avaliação do consumo alimentar em pacientes com diagnóstico de depressão e/ou ansiedade. *Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás*, 3(01), 18–26. Recuperado de <https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/rssfesgo/article/view/193>
- Bahena-Trujillo R. Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), México DF, México Flores G, Arias-Montaña JA and Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, México. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *Revista biomédica*, 11(1), 39–60. doi:10.32776/revbiomed.v11i1.218
- Barreiro LB, Laval G, Quach H, Patin E and Quintana-Murci L. (2008). Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics*, 40(3), 340–345. doi:10.1038/ng.78
- Borçoi AR, Mendes SO, Moreno IAA, Gasparini dos Santos J, Freitas FV, Pinheiro JA and Silva AMÁ. (2021). Food and nutritional insecurity is associated with depressive symptoms mediated by NR3C1 gene promoter 1F methylation. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 24(6), 814–821. doi:10.1080/10253890.2021.1923692
- Brito VCA, Bello-Corassa R, Stopa SR, Sardinha LMV, Dahl CM and Viana MC. (2022). Prevalence of self-reported depression in Brazil: National Health Survey 2019 and 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saude: Revista Do Sistema Unico de Saude Do Brasil*, 31(spe1), e2021384. doi:10.1590/SS2237-9622202200006.especial
- Brüss M, Kunz J, Lingen B and Bönisch H. (1993). Chromosomal mapping of the human gene for the tricyclic antidepressant-sensitive noradrenaline transporter. *Human Genetics*, 91(3), 278–280. doi:10.1007/bf00218272
- Cardon LR and Palmer LJ. (2003). Population stratification and spurious allelic association. *Lancet*, 361(9357), 598–604. doi:10.1016/s0140-6736(03)12520-2
- Carr D, Alfirevic A and Pirmohamed M. (2014). Pharmacogenomics: Current state-of-the-art. *Genes*, 5(2), 430–443. doi:10.3390/genes5020430
- Castelo-Branco AL, Vieira T. dos S., Freitas FV, Pinheiro JA, Louro ID and Álvares-da-Silva AM. (2022). Metilação do gene NR3C1 em indivíduos com dor crônica: perfil de pacientes

em estudo transversal com usuários do sistema público de saúde. *Brazilian Journal of Pain*, 5(4). doi:10.5935/2595-0118.20220056-pt

- Cichon S, Winge I, Mattheisen M, Georgi A, Karpushova A, Freudenberg J and Nothen MM. (2007). Brain-specific tryptophan hydroxylase 2 (TPH2): a functional Pro206Ser substitution and variation in the 5'-region are associated with bipolar affective disorder. *Human Molecular Genetics*, 17(1), 87–97. doi:10.1093/hmg/ddm286
- Dong C, Wong M-L and Licinio J. (2009). Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Molecular Psychiatry*, 14(12), 1105–1118. doi:10.1038/mp.2009.92
- Duman RS and Voleti B. (2012). Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: novel mechanisms for rapid-acting agents. *Trends in Neurosciences*, 35(1), 47–56. doi:10.1016/j.tins.2011.11.004
- Faria CDC and Longui CA. (2006). Aspectos moleculares da sensibilidade aos glicocorticóides. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, 50(6), 983–995. doi:10.1590/s0004-27302006000600003
- Feder A, Skipper J, Blair JR, Buchholz K, Mathew SJ, Schwarz M, Doucette JT, Alonso A, Collins KA, Neumeister A, Charney DS. (2011). Tryptophan depletion and emotional processing in healthy volunteers at high risk for depression. *Biological Psychiatry*. 15;69(8):804-7. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.12.033
- Fernstrom JD. (1985). Dietary effects on brain serotonin synthesis: relationship to appetite regulation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(5 Suppl):1072-82. doi: 10.1093/ajcn/42.5.1072
- Fernstrom JD, Langham KA, Marcelino LM, Irvine ZL, Fernstrom MH, Kaye WH. (2013) The ingestion of different dietary proteins by humans induces large changes in the plasma tryptophan ratio, a predictor of brain tryptophan uptake and serotonin synthesis. *Clinical Nutrition*. 32(6):1073-6. doi: 10.1016/j.clnu.2012.11.027.
- Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJL and Whiteford HA. (2013). Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. *PLoS Medicine*, 10(11), e1001547. doi:10.1371/journal.pmed.1001547
- Fleck MP. (2009). Temas atuais em depressão. *Revista Brasileira de Psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*, 31, S1–S2. doi:10.1590/s1516-44462009000500001
- Hahn MK, Blackford JU, Haman K, Mazei-Robison M, English BA, Prasad HC and Shelton R. (2008). Multivariate permutation analysis associates multiple polymorphisms with subphenotypes of major depression. *Genes, Brain, and Behavior*, 7(4), 487–495. doi:10.1111/j.1601-183X.2007.00384.x

- Hall JE. (2014). *Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia* Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia Guyton & Hall Fundamentos de Fisiologia Guyton & Hall Fu (12a ed). Elsevier Editora Ltda.
- Healy-Stoffel M and Levant B. (2018). N-3 (omega-3) fatty acids: Effects on brain dopamine systems and potential role in the etiology and treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 17(3), 216–232. doi:10.2174/1871527317666180412153612
- Howard DM, Adams MJ, Clarke T-K, Hafferty JD, Gibson J and Shirali M. Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2019). Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. *Nature Neuroscience*, 22(3), 343–352. doi:10.1038/s41593-018-0326-7
- Hubner LJ. (2022). *Papel da Dopamina e Motivação para o Esforço e Fadiga Mental*. Univerdidade Federal de Santa Catarina.
- Human pangenome reference. (2023, maio 10). Recuperado 26 de outubro de 2023, de Nature website: <https://www.nature.com/collections/aebdjhcda>
- Illi A, Setälä-Soikkeli E, Viikki M, Poutanen O, Huhtala H, Mononen N and Kampman O. (2009a). 5-HTR1A, 5-HTR2A, 5-HTR6, TPH1 and TPH2 polymorphisms and major depression. *Neuroreport*, 20(12), 1125–1128. doi:10.1097/WNR.0b013e32832eb708
- Juruena MF, Cleare AJ, Bauer ME and Pariante CM. (2003). Molecular mechanisms of glucocorticoid receptor sensitivity and relevance to affective disorders. *Acta Neuropsychiatrica*, 15(6), 354–367. doi:10.1046/j.1601-5215.2003.00051.x
- Kaufmann G, Dresch F, Rehfeldt SCH, Genro JP and Contini V. (2021). Dopamina e comportamento alimentar: polimorfismos em receptores dopaminérgicos e fenótipos relacionados à obesidade. *Clinical & Biomedical Research*. doi:10.22491/2357-9730.113558
- Kim Y-K, Hwang J-A, Lee H-J, Yoon H-K, Ko Y-H, Lee B-H and Na K-S. (2014). Association between norepinephrine transporter gene (SLC6A2) polymorphisms and suicide in patients with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*, 158, 127–132. doi:10.1016/j.jad.2014.01.018
- Kühn S, Düzel S, Colzato L, Norman K, Gallinat J, Brandmaier AM and Widaman KF. (2019). Food for thought: association between dietary tyrosine and cognitive performance in younger and older adults. *Psychological Research*, 83(6), 1097–1106. doi:10.1007/s00426-017-0957-4
- Lafer B and Vallada Filho HP. (1999). Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. *Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*, 21(suppl 1), 12–17. doi:10.1590/s1516-44461999000500004
- Lahti J, Rääkkönen K, Bruce S, Heinonen K, Pesonen A-K, Rautanen A and Eriksson JG. (2011). Glucocorticoid receptor gene haplotype predicts increased risk of hospital

- admission for depressive disorders in the Helsinki birth cohort study. *Journal of Psychiatric Research*, 45(9), 1160–1164. doi:10.1016/j.jpsychires.2011.03.008
- Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP and Venter JC. (2007). The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biology*, 5(10), e254. doi:10.1371/journal.pbio.0050254
- Liao W-W, Asri M, Ebler J, Doerr D, Haukness M, Hickey G and Paten B. (2023). A draft human pangenome reference. *Nature*, 617(7960), 312–324. doi:10.1038/s41586-023-05896-x
- Lindseth G, Helland B, Caspers J. (2015) The effects of dietary tryptophan on affective disorders. *Archives of Psychiatric Nursing*, 29(2):102-7. doi: 10.1016/j.apnu.2014.11.008
- Liu Z-L, Wang X-Q, Liu M-F and Ye B-J. (2022). Meta-analysis of association between TPH2 single nucleotide polymorphism and depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 134(104517), 104517. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.104517
- Mascella V. (2013). Depression: causes and treatment. *Estudos de Psicologia (Campinas)*, 30(2), 303–304. doi:10.1590/s0103-166x2013000200016
- McGuffin P and Rivera M. (2015). The interaction between stress and genetic factors in the etiopathogenesis of depression. *World Psychiatry: Official Journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, 14(2), 161–163. doi:10.1002/wps.20230
- Nazree NE, Loke AC, Zainal NZ and Mohamed Z. (2015). Lack of association between TPH2 gene polymorphisms with major depressive disorder in multiethnic Malaysian population: Pharmacogenetics of MDD. *Asia-Pacific Psychiatry: Official Journal of the Pacific Rim College of Psychiatrists*, 7(1), 72–77. doi:10.1111/appy.12118
- Ni W and Watts SW. (2006). 5-hydroxytryptamine in the cardiovascular system: focus on the serotonin transporter (SERT). *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 33(7), 575–583. doi:10.1111/j.1440-1681.2006.04410.x
- Ormel J, Hartman CA and Snieder H. (2019). The genetics of depression: successful genome-wide association studies introduce new challenges. *Translational Psychiatry*, 9(1), 114. doi:10.1038/s41398-019-0450-5
- Patel R, Williams-Dautovich J and Cummins CL. (2014). Minireview: New molecular mediators of glucocorticoid receptor activity in metabolic tissues. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 28(7), 999–1011. doi:10.1210/me.2014-1062
- Penninx BWJH, Milaneschi Y, Lamers F and Vogelzangs N. (2013). Understanding the somatic consequences of depression: biological mechanisms and the role of depression symptom profile. *BMC Medicine*, 11(1), 129. doi:10.1186/1741-7015-11-129
- Pereira PA, Romano-Silva MA, Camargos Bicalho MA, De Marco L, Correa H, de Campos SB and de Miranda DM. (2011). Association between tryptophan hydroxylase-2 gene and late-onset depression. *The American Journal of Geriatric Psychiatry: Official Journal of the*

American Association for Geriatric Psychiatry, 19(9), 825–829.
doi:10.1097/jgp.0b013e31820eeb21

Peters JC. (1991) Tryptophan nutrition and metabolism: an overview. *Advances in experimental medicine and biology*, 294:345-58, doi: 10.1007/978-1-4684-5952-4_32

Pierce B. *Genética-Um Enfoque Conceitual*. Guanabara Koogan, 2011.

Quagliarini F, Mir AA, Balazs K, Wierer M, Dyar KA, Jouffe C and Uhlenhaut NH. (2019). Cistromic reprogramming of the diurnal glucocorticoid hormone response by high-fat diet. *Molecular Cell*, 76(4), 531-545.e5. doi:10.1016/j.molcel.2019.10.007

Rapport MM, Green AA and Page IH. (1948). Serum vasoconstrictor (serotonin). *The Journal of Biological Chemistry*, 176(3), 1243–1251. doi:10.1016/s0021-9258(18)57137-4

Rossi L and Tirapegui J. (2004). Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*, 48(2), 227–233. doi:10.1590/s0004-27302004000200004

Rossil TJ. (2005). Serotonina e a Neuromodulação Alimentar. *Revista Nutrição em Pauta*, 72, 36–40.

Schwarcz R, Young SN and Brown RR. (Orgs.). (1991). *Kynurenine and serotonin pathways: Progress in tryptophan research (1991^o ed)*. Nova Iorque, NY, USA: Springer.

Shen X, Wu Y, Qian M, Wang X, Hou Z, Liu Y. *et al.* (2011) Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population. *Journal of Affective Disorders*, 133(3), 619-24. doi: 10.1016/j.jad.2011.04.03

Siamatras TD and Stratakis CA. (2017). NR3C1 (nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1/glucocorticoid receptor). *Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology*, (3). doi:10.4267/2042/62525

Siva N. (2008). 1000 genomes project. *Nature Biotechnology*, 26(3), 256–256. doi:10.1038/nbt0308-256b

SLC6A3 solute carrier family 6 member 3 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. ([s.d.]). Recuperado 20 de junho de 2023, de Nih.gov website: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6531>

Spiga F, Walker JJ, Terry JR and Lightman SL. (2014, agosto 7). HPA Axis-Rhythms. *Comprehensive Physiology*, 4: 1273–1298. doi:10.1002/cphy.c140003

Sullivan PF, Neale MC and Kendler KS. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *The American Journal of Psychiatry*, 157(10), 1552–1562. doi:10.1176/appi.ajp.157.10.1552

Tsai SJ, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW, Chen TJ, Hou SJ, Yen FC. (2009) Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33(4), 637-41. doi:

10.1016/j.pnpbp.2009.02.020

- The 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Altshuler D, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Gibbs RA, Hurles ME, McVean GA. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*, 467(7319), 1061–1073. doi:10.1038/nature09534
- Torrente MP, Gelenberg AJ, Vrana KE. (2012) Boosting serotonin in the brain: is it time to revamp the treatment of depression? *Journal of Psychopharmacology*, 26(5), 629-35. doi: 10.1177/0269881111430744
- Veenstra-VanderWeele J, Anderson GM and Cook EH, Jr. (2000). Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *European Journal of Pharmacology*, 410(2–3), 165–181. doi:10.1016/s0014-2999(00)00814-1
- Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, Sklar P, McCarthy MI, Brown MA and Yang J. (2017). 10 years of GWAS discovery: Biology, function, and translation. *The American Journal of Human Genetics*, 101(1), 5–22. doi:10.1016/j.ajhg.2017.06.005
- Vumma R, Johansson J, Lewander T and Venizelos N. (2011). Tryptophan transport in human fibroblast cells—A functional characterization. *International Journal of Tryptophan Research: IJTR*, 4, IJTR.S6913. doi:10.4137/ijtr.s6913
- Walther DJ, Peter J-U, Bashammakh S, Hörtnagl H, Voits M, Fink H and Bader M. (2003). Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science (New York, N.Y.)*, 299(5603), 76. doi:10.1126/science.1078197
- Wang T, Antonacci-Fulton L, Howe K, Lawson HA, Lucas JK and Phillippy AM. Human Pangenome Reference Consortium. (2022). The Human Pangenome Project: a global resource to map genomic diversity. *Nature*, 604(7906), 437–446. doi:10.1038/s41586-022-04601-8
- Wise RA. (2013). Dual roles of dopamine in food and drug seeking: The drive-reward paradox. *Biological Psychiatry*, 73(9), 819–826. doi:10.1016/j.biopsych.2012.09.001
- Won E, Kang J, Kim A, Choi S, Han K-M, Tae WS and Ham B-J. (2016). Influence of BclI C/G (rs41423247) on hippocampal shape and white matter integrity of the parahippocampal cingulum in major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 72, 147–155. doi:10.1016/j.psyneuen.2016.07.008

- World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates. [s.l.] World Health Organization, 2017. Acesso em: 5 jun. 2023
- Xinhua S, Yanfeng W, Mingcai Q, Xiaoquan W, Zhenghua H, Yang L and Yonggui Y. (2011). Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depressive disorder in a female Chinese population. *Journal of Affective Disorders*, 133(3), 619–624. doi:10.1016/j.jad.2011.04.037
- Yang L, Zhao Y, Wang Y, Liu L, Zhang X, Li B and Cui R. (2015). The effects of psychological stress on depression. *Current Neuropharmacology*, 13(4), 494–504. doi:10.2174/1570159x1304150831150507
- Yin L, Zhang YY, Zhang X, Yu T, He G and Sun XL. (2015). TPH, SLC6A2, SLC6A3, DRD2 and DRD4 polymorphisms and neuroendocrine factors predict SSRIs treatment outcome in the Chinese population with major depression. *Pharmacopsychiatry*, 48(3), 95–103. doi:10.1055/s-0034-1398508
- Zobel A, Jessen F, von Widdern O, Schuhmacher A, Höfels S, Metten M and Schwab SG. (2008). Unipolar depression and hippocampal volume: impact of DNA sequence variants of the glucocorticoid receptor gene. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 147B(6), 836–843. doi:10.1002/ajmg.b.30709

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	
NOME:	SEXO:
IDADE:	DATA:
PESO ATUAL: Kg	
ALTURA: m	IMC: Kg/m
Classificação IMC:	
<p>1- Uso de tabaco: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não</p> <p>2- Uso de bebidas alcoólicas: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não</p> <p>3- Prática de atividade física: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não</p> <p style="padding-left: 20px;">Frequência <input type="checkbox"/> uma vez por semana <input type="checkbox"/> duas ou vezes por semana <input type="checkbox"/> raramente</p> <p style="padding-left: 20px;">Duração: <input type="checkbox"/> 30 minutos <input type="checkbox"/> 1 hora <input type="checkbox"/> 2 ou mais horas</p> <p style="padding-left: 20px;">Tipo: <input type="checkbox"/> caminhada <input type="checkbox"/> corrida <input type="checkbox"/> ciclismo <input type="checkbox"/> musculação <input type="checkbox"/> outros</p> <p>4- Etnia: <input type="checkbox"/> branco, <input type="checkbox"/> negro, <input type="checkbox"/> sul-asiático, <input type="checkbox"/> ameríndio <input type="checkbox"/> chinês (<input type="checkbox"/> japonês</p> <p>5- Medicamento: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não Qual:</p> <p>6- História familiar de depressão: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não</p> <p>7- Diagnóstico de depressão: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não</p> <p>8- Tratamento de depressão: <input type="checkbox"/> menos de 1 ano, <input type="checkbox"/> mais de 1 ano, <input type="checkbox"/> 5 anos ou mais</p> <p style="padding-left: 20px;">Qual:.....</p>	

APÊNDICE B – RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24HS**RECORDATÓRIO ALIMENTAR (24 hs)**

Nome:

Sexo:

Idade:

Data:

Dia da Semana:

Anote a refeição, o local onde foi realizada e os alimentos e/ou preparações consumidos no dia anterior. Anote as medidas caseiras, marcas comerciais e utensílios (prato, colher sopa, etc).

Local/ Horário	Alimentos e/ ou preparações	Quantidades

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR

Questionário de Frequência Alimentar

Nome: _____ Idade: _____
 Sexo: _____ Data: ____/____/____ Peso: _____ Altura: _____

Grupos de alimentos	Frequência			
	Diária	Semanal	Mensal	Observações
<i>1. Amiláceos e Cereais</i>				
Arroz				
Macarrão				
Cevada				
Centeio				
Trigo				
Soja				
<i>2. Leite e deriv.</i>				
Leite				
Queijo				
Iogurte				
<i>3. Ovos, carnes e deriv.</i>				
Ovos				
Carne vermelha				
Porco				
Presunto				
Peixe				
Galinha				
Coelho				
Bucho				

Grupos de alimentos	Frequência			
	Diária	Semanal	Mensal	Observações
<i>4.Hortaliças, tubérculos e Leguminosas</i>				
Batata				
Batata Doce				
Espinafre				
Broto de feijão				
Abóbora				
Mandioca				
Pinhão				
Couve-flor				
Couve				
Cogumelo				
Cebola				
Alho				
Feijão				
<i>5.Frutas</i>				
Manga				
Caqui				
Banana				
Morango				
<i>6.Gorduras</i>				
Pele				
Bacon				
Manteiga				
Maionese				
<i>7.Bebidas</i>				
Águardente				

Grupos de alimentos	Frequência			Observações
	Diária	Semanal	Mensal	
<i>8.Diversos</i>				
Nescau				
Gelatina				
Biscoito de polvilho				
Chocolate				
Doces a base de leite				
Doces a base de ovos				

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA E PESQUISA

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: A INFLUÊNCIA DE UMA ALIMENTAÇÃO DEFICIENTE EM TRIPTOFANO EM CONJUNTO COM POLIMORFISMOS DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO HIDROXILASE 2 (TPH 2) NO DESENVOLVIMENTO DA DEPRESSÃO

Pesquisador: SAMARA MARQUES DOS REIS

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa em genética do comportamento.);

Versão: 13

CAAE: 20797513.5.0000.5323

Instituição Proponente: Fundação Universidade Federal do Pampa UNIPAMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.808.637

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO

A depressão é uma psicopatologia causada por alterações bioquímicas nos neurotransmissores, uma destas é a diminuição do neurotransmissor serotonina causando alterações de humor, ansiedade, tristeza vital, angústia e inibição da psicomotibilidade nos enfermos. Entretanto, é uma patologia ainda em estudo devido a sua complexidade e fatores envolvidos. A serotonina é sintetizada e armazenada em diversos sítios do organismo; porém é encontrada em maiores quantidades nas células da mucosa intestinal. Atua como inibidor das vias da dor e também se acredita que controle o humor e o sono das pessoas. Vários estudos demonstram a relação entre a depressão e a diminuição da captação do neurotransmissor serotonina. A serotonina é sintetizada a partir do Triptofano, que é hidroxilado resultando no produto 5 – hidroxitriptofano e posteriormente é descarboxilado produzindo a serotonina (5 – hidroxitriptamina). O Triptofano é um aminoácido aromático essencial, que não é produzido pelo organismo, e é o precursor da 5-hidroxitriptanina (Serotonina). Esse aminoácido é encontrado principalmente em alimentos de origem animal. Existem evidências científicas de que a síntese de serotonina cerebral possa ser modulada dieteticamente através da oferta de macronutrientes. O transporte de triptofano para o

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

cérebro não se relaciona apenas com sua concentração sanguínea, mas também com sua concentração em relação à dos aminoácidos neutros. Assim, concentrações dietéticas baixas de triptofano são associadas ao consumo elevado de aminoácidos que competem pelo transporte através da barreira hematoencefálica, reduzindo o conteúdo de 5-HT no cérebro e alterando certos comportamentos associados à serotonina. Estudos também relatam a influência do sódio na absorção do triptofano, que implicaria na diminuição da formação de serotonina, provocando desordens psicológicas. O principal fator em estudo é o polimorfismo do gene triptofano hidroxilase 2 (TPH 2) que codifica a principal enzima limitante na via da síntese da serotonina. Estes polimorfismos podem participar em uma variedade de fenômenos comportamentais incluindo transtornos do humor e suicídio. A enzima TPH2 modifica o triptofano, um aminoácido essencial precursor da 5-hidroxitriptamina (Serotonina) que é encontrado principalmente em alimentos de origem animal. Sendo estes dados importantes para o diagnóstico e tratamento da depressão, alguns autores já trabalharam este tema sugerindo que os níveis de serotonina e triptofano nos indivíduos dependem, dentre outras coisas, da ingestão alimentar; assim, existiria uma analogia entre alimentação e depressão. O aumento desta doença nos últimos tempos também aumentou o interesse em aprofundar esta questão. A enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH 2) é a principal enzima limitante na via da síntese da serotonina. Como tal, é um gene candidato para o estudo de uma grande variedade de fenômenos comportamentais, incluindo transtornos do humor, suicídio e traços de personalidade. Vários estudos relatam associação de polimorfismos destes genes com doenças depressivas.

HIPÓTESE

Se o polimorfismo da enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH 2) influencia na atividade da mesma, diminuindo a transformação de triptofano em serotonina, então portadores de polimorfismos com baixa ingestão de triptofano na dieta poderão ter aumentados os sintomas clínicos de depressão.

METODOLOGIA

Número do cadastro no SIPPE - número do SIPPE- 09.018.14.

O trabalho metodológico será um estudo de caso-controle. O cálculo do tamanho amostral para associação de polimorfismos a doenças é um tema de grande debate na comunidade científica uma vez que tal associação depende de um número grande de situações complexas, como saber o tipo de dominância, penetrância do gene, seleção natural contra o genótipo do indivíduo, situação ambiental do indivíduo para que o fenótipo seja expresso, entre tantas outras. Com este tipo de

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

visão muitos grupos debatem sobre o verdadeiro tamanho amostral para estudar a associação alelo-doença com confiança estatística, mas sem desperdício de recursos pelo excesso de amostragem. Desta forma, alguns autores apresentam simulações matemáticas que sugerem tamanhos amostrais entre 100 e 2000 para ter poder de análise e outras simulações demonstraram poder em amostras de 53 casos com características similares aos nossos. Por este motivo, o número amostral mínimo de 100 amostras caso e 100 amostras controle que possuiria poder estatístico no tipo de modelo a ser usado, que é possível de coletar e analisar no exíguo tempo do mestrado e que é aceito pela comunidade científica da área em questão na hora da publicação dos dados. As amostras deste estudo serão pacientes adultos com idade maior que 20 anos e que possuam no seu prontuário do Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) de Alegrete, o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), os indivíduos serão convidados a participar da pesquisa, serão explicados todos os protocolos a serem realizados. Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão convidados a participar da pesquisa, após serão criteriosamente selecionado entre pacientes em controle clínico. Através de entrevista, serão selecionados aqueles que não apresentem história pessoal ou familiar (parentes de primeiro grau) de doenças neuropsiquiátricas possivelmente associadas com o polimorfismo definidas como depressão, desordem do pânico, autismo, transtorno obsessivo-compulsivo, esquizofrenia e alcoolismo. O estado nutricional será avaliado por coleta de dados antropométricos, que serão avaliados pelo mesmo examinador, e as medidas serão em triplicata sempre do lado direito do corpo. Será utilizado um questionário sobre hábitos de vida (tabagismo, atividade física, alcoolismo, uso de medicação, tempo de diagnóstico se houver) do indivíduo pesquisado - Peso, Altura e IMC: os dados da análise antropométrica (peso atual e altura) serão utilizados para verificar o IMC (índice de massa corpórea), que será classificado de acordo com os pontos de corte do World Health Organization (WHO). Para aferir o peso, será utilizada uma balança da marca Filizola de 150 Kg, posta sobre piso reto. O consumo Alimentar será aplicado um formulário de Recordatório Alimentar de 24hs e frequência alimentar para avaliar a quantidade de triptofano ingerida para a comparação dos dados. A quantidade de triptofano ingerida será avaliada pelo Software específico. Será utilizado o Inventário de Beck, traduzido no Brasil por Goerstin e Andrade, que classifica o grau de depressão. Será coletada uma amostra de 5 ml de sangue periférico para Extração do DNA utilizando o sistema automatizado QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit seguindo as recomendações do fabricante. A genotipagem será realizada por HRM no aparelho 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA). Para tal, cada exon do gene TPH2 será amplificado usando primers específicos detalhados na tabela 1. A amplificação por PCR

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

acontecerá no mesmo aparelho que será usado para a análise por HRM usando o kit MeltDoctor (Life Technology, USA) seguindo as recomendações do fabricante. A temperatura de hibridização usada em todos os primers será de 60°C. A análise final dos dados obtidos serão avaliados e analisados no software High Resolution Melting Software v3.0.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes com idade maior que 20 anos e que possuam no prontuário do CAPS o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), e que concordem em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Serão os pacientes que possuam alguma deficiência que impeça a compreensão dos questionários, não queiram participar da pesquisa e/ou não assinem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Avaliar a influência de uma alimentação deficiente em triptofano em conjunto com polimorfismos do gene da enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH 2) no desenvolvimento da depressão.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Analisar polimorfismos associados à depressão;
- Avaliar a ingestão de triptofano na dieta de pacientes depressivos;
- Analisar a concentração dos níveis de serotonina, triptofano e sódio no plasma;
- Correlacionar o polimorfismo da enzima TPH 2 e a dieta

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Tendo em vista que a coleta sanguínea quando realizada de maneira correta é um procedimento quase indolor, o risco físico poderá ser acidente com material perfuro-cortante, por isso, a equipe é capacitada para a coleta e os materiais empregados serão descartáveis, o local de coleta será limpo e livre de contaminações, minimizando os riscos. Caso o acidente aconteça, o indivíduo será encaminhado ao hospital mais próximo para ser atendido pela equipe médica do local, seguindo o

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

protocolo de Exposição a Materiais Biológicos do Ministério da Saúde. Contudo, riscos com danos psicológicos (constrangimento) associados a realização das medidas antropométricas (peso e altura) e durante o preenchimento dos questionários podem existir. Por isso, o participante poderá se recusar a participar de qualquer fase da pesquisa, sua vontade será respeitada, não havendo nenhuma penalização.

BENEFÍCIOS

Inovação no método do tratamento da depressão

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Respostas ao Parecer Consubstanciado CONEP nº 1.090.031:

1. Quanto ao arquivo "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS DO PTR":

1.1. No arquivo, item "METODOLOGIA PROPOSTA, lê-se: "Número do cadastro no SIPPE -número do SIPPE- 09.018.14. O trabalho metodológico será um estudo de caso-controle." Considerando que a metodologia trata-se de um estudo observacional, solicita-se esclarecer o motivo do projeto estar inserido como caso controle e a devida adequação.

RESPOSTA: O trabalho metodológico será estudo de caso-controle que é definido como uma forma de pesquisa observacional, onde se compara dois grupos expostos a um determinado fator, o primeiro de indivíduos com determinada condição (depressão), e o segundo de indivíduos sem essa condição.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2. No item "Benefícios", lê-se: "Inovação no método do tratamento da depressão". Considerando que o desenho do projeto proposto pretende responder a questões de risco e não de terapia,

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

entende-se que o benefício do estudo não condiz com o objetivo. Solicitam-se esclarecimentos e a devida adequação.

RESPOSTA: Auxiliará no tratamento da depressão, utilizando uma nova abordagem (alimentação).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. No documento "PROJETO SIPPEE ago2014.pdf" lê-se: "As amostras deste estudo serão pacientes adultos com idade maior que 20 anos e que possuam no seu prontuário do Centro de Atenção Psicossocial(CAPS) de Alegrete, o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), os indivíduos serão convidados a participar da pesquisa, serão explicados todos os protocolos a serem realizados.":

2.1. Solicita-se esclarecer como será realizado o processo de recrutamento dos participantes de pesquisa, em especial a relação da equipe de pesquisa com as instituições coparticipantes no seu cotidiano, já que serão nesses locais que se dará o contato com os participantes. Ademais, com base na Resolução CNS nº 466 de 2012, solicita-se explicitar o processo de obtenção do consentimento dos casos e controles.

RESPOSTA: Ajustado. As amostras deste estudo serão pacientes adultos com idade maior que 20 anos e que possuam no seu prontuário do Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) de Alegrete, o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), os indivíduos. A EQUIPE DE PESQUISA ESTARÁ NA INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTES EM DIAS E TURNOS ALTERNADOS, SENDO ASSIM, OS INDIVÍDUOS QUE FOREM AO CAPS PARA ACOMPANHAMENTO OU CONSULTA SERÃO CONVIDADOS A SERÃO CONVIDADOS A PARTICIPAR DA PESQUISA, SERÃO EXPLICADOS TODOS OS PROTOCOLOS A SEREM REALIZADOS. A ROTINA DO ATENDIMENTO DA INSTITUIÇÃO NÃO SERÁ ALTERADA. A EQUIPE DO CAPS AUXILIARÃO NA SEPARAÇÃO DOS PRONTUÁRIOS DO PACIENTES COM DEPRESSÃO, POIS, SÃO ELES QUE FIZERAM O DIAGNOSTICO DO PACIENTES ANTERIORMENTE. Os critérios de inclusão serão pacientes com idade maior que 20 anos e que possuam no prontuário do CAPS o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), e que concordem em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão serão os pacientes que possuam alguma deficiência que impeça a compreensão dos questionários, não queiram participar da pesquisa e /ou não assinem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) E O GRUPO VULNERÁVEL CUJA AUTONOMIA POSSA ESTAR COMPROMETIDA POR INTERVENÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA. Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão convidados a participar da pesquisa, após serão criteriosamente selecionado entre pacientes em controle clínico.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

Através de entrevista, serão selecionados aqueles que não apresentem história pessoal ou familiar (parentes de primeiro grau) de doenças neuropsiquiátricas possivelmente associadas com o polimorfismo definidas como depressão, desordem do pânico, autismo, transtorno obsessivo-compulsivo, esquizofrenia e alcoolismo. O RECRUTAMENTO SERÁ REALIZADO ATRAVÉS DE CARTAZES QUE SERÃO DISTRIBUÍDOS NOS PRINCIPAIS LOCAIS DE ACESSO DA CIDADE. A COLETA DOS DADOS SERÃO EM UM ESPAÇO CEDIDO PELO CAPS.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.2. Solicitam-se esclarecimentos em relação ao eventual recrutamento e processo de consentimento de pacientes com depressão grave, cuja autonomia possa estar comprometida por intervenção psicofarmacológica (grupo vulnerável).

RESPOSTA: Ajustado.

As amostras deste estudo serão pacientes adultos com idade maior que 20 anos e que possuam no seu prontuário do Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) de Alegrete, o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), os indivíduos. A EQUIPE DE PESQUISA ESTARÁ NA INSTITUIÇÃOCOPARTICIPANTES EM DIAS E TURNOS ALTERNADOS, SENDO ASSIM, OS INDIVÍDUOS QUE FOREM AO CAPS PARA ACOMPANHAMENTO OU CONSULTA SERÃO CONVIDADOS A SERÃO CONVIDADOS A PARTICIPAR DA PESQUISA, SERÃO EXPLICADOS TODOS OS PROTOCOLOS A SEREM REALIZADOS. A ROTINA DO ATENDIMENTO DA INSTITUIÇÃO NÃO SERÁ ALTERADA. A EQUIPE DO CAPS AUXILIARÃO NA SEPARAÇÃO DOS PRONTUÁRIOS DO PACIENTES COM DEPRESSÃO, POIS, SÃO ELES QUE FIZERAM O DIAGNOSTICO DO PACIENTES ANTERIORMENTE. Os critérios de inclusão serão pacientes com idade maior que 20 anos e que possuam no prontuário do CAPS o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), e que concordem em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão serão os pacientes que possuam alguma deficiência que impeça a compreensão dos questionários, não queiram participar da pesquisa e /ou não assinem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) E O GRUPO VULNERÁVEL CUJA AUTONOMIA POSSA ESTAR COMPROMETIDA POR INTERVENÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA.

Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão convidados a participar da pesquisa, após serão criteriosamente selecionado entre pacientes em controle clínico. Através de entrevista, serão selecionados aqueles que não apresentem história pessoal ou familiar (parentes de primeiro grau) de doenças neuropsiquiátricas possivelmente associadas com o polimorfismo definidas como depressão,

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

desordem do pânico, autismo, transtorno obsessivo-compulsivo, esquizofrenia e alcoolismo. O RECRUTAMENTO SERÁ REALIZADO ATRAVÉS DE CARTAZES QUE SERÃO DISTRIBUÍDOS NOS PRINCIPAIS LOCAIS DE ACESSO DA CIDADE. A COLETA DOS DADOS SERÃO EM UM ESPAÇO CEDIDO PELO CAPS.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.3. No documento "PROJETO SIPPEE ago2014.pdf" lê-se: "Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão convidados a participar da pesquisa, após serão criteriosamente selecionado entre pacientes em controle clínico". No "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_207975.pdf" de 18/10/2014, no item "Critério de Inclusão", lê-se: "Pacientes com idade maior que 20 anos e que possuam no prontuário do CAPS o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), e que concordem em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)". Solicita-se que sejam fornecidos também maiores detalhes sobre critérios de inclusão do grupo controle e o local específico do recrutamento, uma vez que o CAPS é "um serviço específico para o cuidado, atenção integral e continuada às pessoas com necessidades em decorrência do uso de álcool, crack e outras drogas". Diante do exposto, não está evidente qual a caracterização da amostra do grupo controle (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.1.f, IV.3.a e IV.4.b).

RESPOSTA: Ajustado.

As amostras deste estudo serão pacientes adultos com idade maior que 20 anos e que possuam no seu prontuário do Centro de Atenção Psicossocial (CAPS) de Alegrete, o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), os indivíduos. A EQUIPE DE PESQUISA ESTARÁ NA INSTITUIÇÃO COPARTICIPANTES EM DIAS E TURNOS ALTERNADOS, SENDO ASSIM, OS INDIVÍDUOS QUE FOREM AO CAPS PARA ACOMPANHAMENTO OU CONSULTA SERÃO CONVIDADOS A SERÃO CONVIDADOS A PARTICIPAR DA PESQUISA, SERÃO EXPLICADOS TODOS OS PROTOCOLOS A SEREM REALIZADOS. A ROTINA DO ATENDIMENTO DA INSTITUIÇÃO NÃO SERÁ ALTERADA. A EQUIPE DO CAPS AUXILIARÃO NA SEPARAÇÃO DOS PRONTUÁRIOS DO PACIENTES COM DEPRESSÃO, POIS, SÃO ELES QUE FIZERAM O DIAGNOSTICO DO PACIENTES ANTERIORMENTE.

Os critérios de inclusão serão pacientes com idade maior que 20 anos e que possuam no prontuário do CAPS o Código Internacional da Doença da depressão (F32-33), e que concordem em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão serão os pacientes que possuam alguma deficiência que impeça a compreensão dos questionários, não queiram participar da pesquisa e /ou não assinem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) E O GRUPO

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

VULNERÁVEL CUJA AUTONOMIA POSSA ESTAR COMPROMETIDA POR INTERVENÇÃO PSICOFARMACOLÓGICA.

Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão convidados a participar da pesquisa, após serão criteriosamente selecionado entre pacientes em controle clínico. Através de entrevista, serão selecionados aqueles que não apresentem história pessoal ou familiar (parentes de primeiro grau) de doenças neuropsiquiátricas possivelmente associadas com o polimorfismo definidas como depressão, desordem do pânico, autismo, transtorno obsessivo-compulsivo, esquizofrenia e alcoolismo. O RECRUTAMENTO SERÁ REALIZADO ATRAVÉS DE CARTAZES QUE SERÃO DISTRIBUÍDOS NOS PRINCIPAIS LOCAIS DE ACESSO DA CIDADE. A COLETA DOS DADOS SERÃO EM UM ESPAÇO CEDIDO PELO CAPS. ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.4. Em atenção às pendências acima, a equipe de pesquisa deverá incluir outros profissionais de saúde, i.e. psicólogos e/ou psiquiatras, envolvidos no acompanhamento dos pacientes atendidos no CAPS e essenciais para a correta identificação dos participantes de pesquisa. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Os profissionais do CAPS não participaram da pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.5. O Cronograma não está adequado, pois informa que o estudo já teve início. Solicita-se esclarecimento e, caso necessário, adequação do cronograma com relação à data de início do estudo, dado que ele ainda se encontra em análise no sistema CEP/CONEP até a presente data. (Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.f).

RESPOSTA: Ajustado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.6. O Orçamento Financeiro não está de acordo com o solicitado pela Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, item 3.3.e. Solicita-se que seja apresentado orçamento financeiro detalhado, que especifique todos os recursos, fontes e destinação, em especial os custos operacionais (recursos humanos e materiais).

RESPOSTA: Ajustado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

3. Quanto aos documentos necessários para armazenamento de material biológico humano em biorrepositório: A análise do Protocolo de Pesquisa indica que haverá formação de biorrepositório ao longo da execução da pesquisa. Salienta-se que todos os aspectos relativos à formação de biorrepositório ao longo da execução de uma pesquisa (com ou sem possibilidade de utilização em investigações futuras) deverão ser seguidos, conforme explicitado na Resolução CNS 441/11 e na Portaria MS 2201/11. Solicita-se uma revisão das referidas normativas e apresentação de:

3.1. Justificativa quanto à necessidade e oportunidade para utilização futura das amostras biológicas coletadas no estudo em tela (se pertinente);

RESPOSTA: O projeto, entretanto, será desenvolvido na UNIPAMPA, nessa instituição se dará o armazenamento do material biológico, logo, não há instituições envolvidas.". Mesmo não havendo a utilização futura das amostras elas serão armazenada na instituição até serem analisadas. Não haverá a retenção de amostras para armazenamento em banco. Desta forma, após o término do presente estudo, todas as amostras biológicas serão adequadamente eliminadas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.2. Declaração de que toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado no biorrepositório será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa institucional e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (se pertinente);

RESPOSTA: O projeto, entretanto, será desenvolvido na UNIPAMPA, nessa instituição se dará o armazenamento do material biológico, logo, não há instituições envolvidas.". Mesmo não havendo a utilização futura das amostras elas serão armazenada na instituição até serem analisadas. Não haverá a retenção de amostras para armazenamento em banco. Desta forma, após o término do presente estudo, todas as amostras biológicas serão adequadamente eliminadas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.3. Regulamento/Regimento do(s) laboratório(s) envolvido(s) no armazenamento do material biológico dos participantes de pesquisa;

RESPOSTA: Ainda não foi aprovado o regimento dos laboratórios da UNIPAMPA.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. A análise do Protocolo de Pesquisa indica que de fato haverá formação de biorrepositório ao longo da execução da pesquisa. Assim sendo, conforme solicitado no Parecer Consubstanciado nº 946.950 de 16/02/2015, ainda que não exista previsão de armazenamento de material biológico para uso futuro, todos os aspectos relativos à formação de

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

Biorrepositório ao longo da execução de uma pesquisa (ainda que seja temporário) deverão ser seguidos, conforme explicitado na Resolução CNS nº 441 de 2011 e Portaria nº MS 2201 de 2011. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Não existe previsão de armazenamento de material biológico para uso futuro, mas todos os aspectos relativos à formação de Biorrepositório ao longo da execução da pesquisa (ainda que seja temporário) deverão ser seguidos, conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011 e Portaria nº MS 2201 de 2011. Ainda não foi aprovado o regimento dos laboratórios da UNIPAMPA.

ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA. Quando o regimento dos laboratórios da UNIPAMPA for disponibilizado, deve ser apresentado ao CEP.

RESPOSTA: Segundo o parecer da CONEP, deve ser anexado regimento de laboratórios, visando que esta regulamentação ainda não ocorreu. Foi encaminhado a NORMA OPERACIONAL Nº 001/2015-CSP de 28 de Outubro de 2015, que: Estabelece normas reguladoras para o armazenamento e utilização de materiais biológicos humanos utilizados em projetos de pesquisa da Fundação Universidade Federal do Pampa –UNIPAMPA.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.4. Termo de Acordo firmado entre as instituições participantes, contemplando formas de operacionalização, compartilhamento e utilização do material biológico humano armazenado em biorrepositório, inclusive a possibilidade de dissolução futura da parceria e a consequente partilha e destinação dos dados e materiais armazenados, conforme previsto no TCLE. Explicitando ainda o tipo e a quantidade dos materiais compartilhados, informando sua destinação após a utilização (se pertinente);

RESPOSTA: Não haverá a retenção de amostras para armazenamento em banco para futuros estudos.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.5. No cadastro do Protocolo de Pesquisa na Plataforma Brasil

("PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_207975.pdf" de 18/10/2014) foi informado que não haverá retenção de amostras para armazenamento em banco. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Não haverá a retenção de amostras para armazenamento em banco. Desta forma, após o término do presente estudo, todas as amostras biológicas serão adequadamente eliminadas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA. A análise do Protocolo de Pesquisa indica que de fato haverá formação de biorrepositório ao longo da execução da pesquisa. Assim sendo, conforme solicitado

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

no Parecer Consubstanciado nº 946.950 de 16/02/2015, ainda que não exista previsão de armazenamento de material biológico para uso futuro, todos os aspectos relativos à formação de Biorrepositório ao longo da execução de uma pesquisa (ainda que seja temporário) deverão ser seguidos, conforme explicitado na Resolução CNS 441/11 e Portaria MS 2201/11. No cadastro do protocolo de pesquisa na Plataforma Brasil, no item "Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?" deverá ser informado "sim", uma vez que o termo "banco" contempla biorrepositório ou biobanco. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: ADEQUADO

Não existe previsão de armazenamento de material biológico para uso futuro, mas todos os aspectos relativos à formação de Biorrepositório ao longo da execução da pesquisa (ainda que seja temporário) deverão ser seguidos, conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011 e Portaria nº MS 2201 de 2011. Ainda não foi aprovado o regimento dos laboratórios da UNIPAMPA.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3.6. Em relação ao transporte de material biológico de origem humana em suas diferentes modalidades e formas, o pesquisador e a instituição devem estar atentos às normas e disposições legais, em especial à Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC Nº 20 de 10 de abril de 2014, para garantir a segurança, minimizar os riscos sanitários e preservar a integridade do material transportado.

RESPOSTA: Ajustado. As normas da RDC serão seguidas pelos pesquisadores e instituição. As normas da Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) RDC Nº 20 de 10 de abril de 2014, serão seguidas para garantir a segurança, minimizar os riscos sanitários e preservar a integridade do material transportado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Quanto ao TCLE, documento intitulado "TCLE 2014.pdf", postado em 17/10/2014:

4.1. No campo "Título do projeto" lê-se: "A influência de uma alimentação no polimorfismo do gene da enzima triptofano hidroxilase 2", diferente do título da pesquisa cadastrada na Plataforma Brasil e no Projeto Detalhado. Todos os documentos devem conter o mesmo título. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Ajustado. A influência de uma alimentação deficiente em triptofano em conjunto com polimorfismos do gene da enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH 2) no desenvolvimento da

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

depressão

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.2. Na página 1 lê-se: "Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de uma PESQUISA A INFLUÊNCIA DE UMA ALIMENTAÇÃO NO POLIMORFISMO DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO HIDROXILASE 2 (Dissertação de Mestrado). Este estudo está sendo realizado para identificar e caracterizar os fatores genéticos associados à doença (depressão). Será realizado em pacientes que tenham ou não de doença.". Para maior clareza, solicita-se que este trecho passe a ter a seguinte redação: "Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, de um projeto de pesquisa denominado '[nome do projeto de pesquisa de acordo com o cadastro na Plataforma de Brasil]'. Este projeto de pesquisa está sendo realizado para estudar a influência da alimentação e de fatores genéticos no desenvolvimento da depressão e incluirá pacientes com e sem esta doença.".

RESPOSTA: Ajustado.

"Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de um projeto de pesquisa denominado "A INFLUÊNCIA DE UMA ALIMENTAÇÃO DEFICIENTE EM TRIPTOFANO EM CONJUNTO COM POLIMORFISMOS DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO HIDROXILASE 2 (TPH 2) NO DESENVOLVIMENTO DA DEPRESSÃO" (Dissertação de Mestrado). Este projeto de pesquisa está sendo realizado para estudar a influência da alimentação e de fatores genéticos no desenvolvimento da depressão e incluirá pacientes com e sem depressão"

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.3. Na página 1 lê-se: "Já existem outros trabalhos associando polimorfismos (alterações no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2 - TPH -2); nos genes TPH-2 com a doença depressão.". Para maior clareza, solicita-se que este trecho passe a ter a seguinte redação: "Já existem outros trabalhos associando polimorfismos no gene TPH-2 com a doença depressão.".

RESPOSTA: Ajustado.

"Já existem outros trabalhos associando polimorfismos com a doença depressão. Porém, nenhum deles levou em consideração o fator alimentação nem dados bioquímicos, como exames de sangue das pessoas analisadas."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.4. Solicita-se informar o número de possíveis participantes de pesquisas selecionados para que

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

o participante tenha noção de sua relevância no estudo.

RESPOSTA: Ajustado.

"O número de possíveis participantes deste projeto de pesquisa será de 200, outras pesquisas também utilizam este número amostral."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.5. Solicita-se reescrever o texto incluído nos 3º e 4º parágrafos, pois apresentam informações repetidas que podem comprometer a compreensão do participante de pesquisa.

RESPOSTA: Ajustado.

"O número de possíveis participantes deste projeto de pesquisa será de 200, outras pesquisas também utilizam este número amostral. Para executar este trabalho, realizaremos uma coleta de 5 ml de sangue na qual permitirá identificar as possíveis alterações nos níveis de serotonina (uma substância cerebral), triptofano e sódio. A partir desta amostra de sangue também será extraído o seu material genético (DNA,) permitindo assim detectar alterações no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2. As informações quanto às medidas de proteção de dados individuais, resultados de exames, somente serão acessíveis aos pesquisadores envolvidos e que não será permitido o acesso a terceiros (seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos etc.)."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.6. Na página 1 lê-se: "Cabe ressaltar que esta coleta terá como ÚNICO desconforto À PICADA da agulha e NÃO deverá haver NENHUM tipo de reação local (dor, inchaço e coceira)." (destaque nosso). Solicita-se que o trecho "à picada" seja substituído por "a picada". Ainda, a coleta de sangue pode envolver outros desconfortos, tais como dor, inchaço, vermelhidão no local onde a agulha perfurar a pele, tonturas, infecção no sangue, dano de um vaso sanguíneo, dentre outros. Dessa forma, solicita-se adequar e também informar, no TCLE, as medidas para minimizar os riscos.

RESPOSTA: Ajustado.

"Cabe ressaltar que esta coleta terá como único desconforto a picada da agulha e não deverá haver nenhum tipo de reação local (dor, inchaço, vermelhidão no local onde a agulha perfurar, tonturas, danos nos vasos e coceira). O uso do sangue para qualquer outra finalidade que não seja a pesquisa deste projeto é totalmente vetado."

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.

Não é correto informar que "... não deverá haver nenhum tipo de reação local (dor, inchaço, vermelhidão no local onde a agulha perfurar, tonturas, danos nos vasos e coceira)". Assim sendo, conforme solicitado no Parecer Consubstanciado nº 946.950 de 16/02/2015, solicita-se adequar o TCLE informando ainda as medidas para minimizar estes riscos.

RESPOSTA: Cabe ressaltar que esta coleta terá como desconforto a picada da agulha e poderá haver algum tipo de reação local (dor, inchaço, vermelhidão no local onde a agulha perfurar, tonturas, danos nos vasos e coceira). Por isso, para reduzir o risco de efeitos adversos como os já citados, o profissional de saúde é treinado para realizar a coleta. O uso do sangue para qualquer outra finalidade que não seja a pesquisa deste projeto é totalmente vetado.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.7. Na página 1 lê-se: "Para executar este trabalho, realizaremos uma coleta de sangue [...]". Solicita-se informar ao participante o que será realizado com as amostras de sangue coletadas. O TCLE deve conter o consentimento de autorização para coleta, armazenamento e utilização das amostras biológicas conforme a Resolução CNS 441/11, itens 2.II e 6 e Portaria MS 2.201/11, Capítulo II, Artigos 5º e Capítulo III, Artigo 8). O documento deve informar se as amostras serão utilizadas apenas para os propósitos descritos no protocolo (e destruídas após a sua utilização) e/ou se haverá armazenamento para utilização em investigações futuras. Solicita-se, informar ao participante que, em caso de utilização das amostras em pesquisas futuras, ele será contatado novamente para fins de convite e autorização expressa do novo uso por meio de novo TCLE.

RESPOSTA: Ajustado.

"No caso de utilização das amostras em pesquisas futuras, você será convidado e contatado novamente a participar e devera assinar a autorização (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) para o uso das amostras."

ANÁLISE: PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.

Existe uma evidente contradição nos seguintes trechos: "A amostra biológica (sangue) NÃO SERÁ UTILIZADA PARA INVESTIGAÇÕES FUTURAS, SENDO DESTRUÍDAS APÓS A UTILIZAÇÃO." (destaque nosso) e "No caso de UTILIZAÇÃO DAS AMOSTRAS EM PESQUISAS FUTURAS, você será convidado e contatado novamente a participar e devera assinar a autorização (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) para o uso das amostras. Assim sendo, conforme solicitado no Parecer Consubstanciado nº 946.950 de 16/02/2015 solicita-se informar ao participante o destino das

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

acesso a terceiros (seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos etc.).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

iv. informação quanto às medidas de proteção de dados individuais, resultados de exames e testes, bem como do prontuário, que somente serão acessíveis aos pesquisadores envolvidos e que não será permitido o acesso a terceiros (seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos etc.).

RESPOSTA: As informações quanto às medidas de proteção de dados individuais, resultados de exames, somente serão acessíveis aos pesquisadores envolvidos e que não será permitido o acesso a terceiros (seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos etc.).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

v. informação quanto a medidas de proteção contra qualquer tipo de discriminação ou estigmatização, individual ou coletiva.

RESPOSTA: As informações quanto às medidas de proteção de dados individuais, resultados de exames, somente serão acessíveis aos pesquisadores envolvidos e que não será permitido o acesso a terceiros (seguradoras, empregadores, supervisores hierárquicos etc.).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.9. Na página 1 lê-se: "Serão avaliados peso e estatura, você responderá os questionários sobre sintomas depressivos (tristeza, desânimo, etc.) e também sobre como é sua alimentação." O documento deve informar o tempo aproximado que o participante levará para preencher os questionários. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Ajustado.

"Serão avaliados peso e estatura, você responderá os questionários sobre sintomas depressivos (tristeza, desânimo, etc) e também sobre como é sua alimentação, o tempo estimado para responder aos questionários é de 30 minutos."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.10. Na página 1 lê-se: "As informações COLETADOS neste estudo são SECRETAS, e não serão REVELADOS, portanto, os pacientes não serão identificados fora da pesquisa." (destaque nosso). Para maior clareza, solicita-se que este trecho passe a ter a seguinte redação: "As informações coletadas neste estudo são confidenciais, e não serão reveladas, portanto, você não será

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.750-521

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5878

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

identificado fora da pesquisa."

Ainda, considerando que o participante da pesquisa tem direito ao sigilo e à confidencialidade e a equipe do estudo tem o dever de garanti-lo, solicita-se adequação, devendo-se descrever de modo claro e afirmativo que será assegurada a garantia de sigilo, com a descrição dos procedimentos para tal, ou seja, como os dados e documentos serão anonimizados antes de serem encaminhados pela equipe responsável pelos cuidados do participante do estudo para qualquer outra instância, seja para monitoramento, auditoria, inspeção ou outros pesquisadores (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.i e IV.3.e).

RESPOSTA: Ajustado.

"As informações coletadas neste estudo são confidenciais, e não serão reveladas, portanto, você não será identificado fora da pesquisa. A amostra biológica (sangue) não será utilizada para investigações futuras, sendo destruídas após a utilização. Todos os documentos serão armazenado no período de 5 anos pelos pesquisadores responsáveis, assegurando assim, o sigilo das informações. No caso de utilização das amostras em pesquisas futuras, você será convidado e contactado novamente a participar e devera assinar a autorização (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) para o uso das amostras."

ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA. Solicita-se substituir a expressão "As informações coletadas..." por "As informações coletadas...". Ainda, conforme solicitado no Parecer Consubstanciado nº 946.950 de 16/02/2015, solicita-se descrever de modo claro e afirmativo que será assegurada a garantia de sigilo, com a descrição dos procedimentos para tal, ou seja, como os dados e documentos serão anonimizados antes de serem encaminhados pela equipe responsável pelos cuidados do participante do estudo para qualquer outra instância, seja para monitoramento, auditoria, inspeção ou outros pesquisadores (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.i e IV.3.e).

RESPOSTA: As informações coletadas neste estudo são confidenciais, e não serão reveladas, portanto, você não será identificado fora da pesquisa. A amostra biológica (sangue) não será utilizada para investigações futuras, sendo destruídas após a utilização. Todos os documentos serão armazenado no período de 5 anos pelos pesquisadores responsáveis, assegurando assim, o sigilo das informações.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.11. Na página 2 lê-se: "Ao mesmo tempo, aproveitamos a ocasião para ressaltar que a sua participação será de grande valor para a ciência e, ao mesmo tempo, para as pessoas com a

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

doença depressão, uma vez que as informações obtidas com a realização deste trabalho poderão ajudar no tratamento dos pacientes com depressão e assim começar a adicionar alimentos ricos em triptofano na sua alimentação junto à medicação habitual." (destaque nosso). Solicita-se excluir todo o trecho, considerando que as informações descritas podem induzir o participante a aceitar o convite para participar do estudo, comprometendo assim o exercício da autonomia.

RESPOSTA: Ajustado. O trecho foi excluído.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.12. Na página 2 lê-se: "Não haverá nenhum tipo de custo para o senhor (a) em qualquer fase do estudo. Também não haverá pagamento pela sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será paga pelo orçamento da pesquisa.". Cabe ressaltar que, como prevê o item IV.3.g da Resolução CNS nº 466 de 2012, deve ser garantido ao participante de pesquisa E DE SEU ACOMPANHANTE, quando necessário, o ressarcimento de despesas decorrentes da participação no estudo, tais como transporte e alimentação nos dias em que for necessária sua presença para consultas ou exames. Assim sendo, solicita-se que a garantia de ressarcimento dos gastos decorrentes da participação no estudo seja apresentada de modo claro e afirmativo. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Ajustado.

"Não haverá nenhum tipo de custo para o senhor (a) em qualquer fase do estudo. Também não haverá pagamento pela sua participação. Se existir qualquer despesa adicional é garantido o ressarcimento das despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, ela será paga pelo orçamento da pesquisa. Se você sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, têm direito à indenização, por parte do pesquisador, do patrocinador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa."

ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.

Para maior clareza, solicita-se que o trecho "Se existir qualquer despesa adicional é garantido o ressarcimento das despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, ela será paga pelo orçamento da pesquisa." passe a ter a seguinte redação: "Se existir qualquer despesa adicional, para o senhor (a) ou seu acompanhante, ela será paga pelo orçamento da pesquisa."

RESPOSTA: Se existir qualquer despesa adicional, para o senhor (a) ou seu acompanhante, ela será paga pelo orçamento da pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

4.13. Na página 2 lê-se: "Este termo será escrito em duas vias, ficando uma CÓPIA com o/a senhor (a) e outra com o pesquisador." (Destaque nosso). Tendo em vista que a via entregue ao Participante de Pesquisa representa as garantias oferecidas pelo Pesquisador Responsável e pelo Patrocinador, solicita-se que a palavra em destaque seja substituída por "via" (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.3.f).

RESPOSTA: Ajustado.

"Este termo será escrito em duas vias, ficando uma via com o/a senhor (a) e outra com o pesquisador."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.14. Não constam garantias de indenização em caso de danos decorrentes da participação no estudo.

Ressalta-se que o participante sempre tem direito a indenização por danos relacionados à pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens II.7, IV.3.h e V.7). Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Ajustado. "Se você sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, têm direito à indenização, por parte do pesquisador, do patrocinador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa."

ANÁLISE: PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA. Solicita-se excluir a expressão "do patrocinador", uma vez que o projeto de pesquisa conta com financiamento próprio.

RESPOSTA: Se você sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, têm direito à indenização, por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.15. Solicita-se que seja inserida no TCLE a informação de que o pesquisador, ou pessoa por ele delegada e sob sua responsabilidade deverá conceder o tempo adequado para que o convidado a participar da pesquisa possa refletir, consultando, se necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-los na tomada de decisão livre e esclarecida (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.1.c).

RESPOSTA: Ajustado.

"Você terá tempo necessário para que possa refletir, consultando, se necessário, seus familiares ou

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.750-521

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5878

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

outras pessoas que possam ajudá-los na tomada de decisão livre e esclarecida."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.16. Solicita-se que o documento contenha uma breve descrição do que é Comitê de Ética em Pesquisa e CONEP, qual o seu papel na avaliação e monitoramento de uma pesquisa, o endereço, horário de funcionamento e as suas formas de contato (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d).

RESPOSTA: Ajustado.

"Assim, se ainda tiver qualquer dúvida o senhor (a) poderá realizar uma ligação a cobrar para o número do coordenador da pesquisa (55 99996050) ou Comitê de Ética em Pesquisa- CEP (55 3413 4321). O CEP e Comissão Nacional de Ética e Pesquisa- CONEP são responsáveis pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, o endereço: Campus Uruguaiana – BR 472, Km 592, Prédio Administrativo – Sala 23, Caixa Postal 118, Uruguaiana – RS, horário de funcionamento: 8h-17h (segunda-sexta)."

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.17. Na página 2, no campo data, lê-se: "Alegrete ____ 2014.". Solicita-se adequação, tendo em vista que o projeto ainda se encontra em análise no sistema CEP/CONEP até a presente data.

RESPOSTA: Ajustado. "Alegrete __/__/ 15".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.18. Para garantir a integridade do documento, solicita-se que sejam inseridos os números de cada página, bem com a quantidade total delas (p.e. 1 de 2).

RESPOSTA: Ajustado. "Página 2 de 2".

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.19. O TCLE deve conter um campo para as rubricas do pesquisador responsável e do participante da pesquisa ou seu responsável (ou a informação de que todas as páginas devem ser rubricadas), em todas as páginas, devendo ambos assinar a última página do documento (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d). Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Ajustado.

"Rubrica do pesquisador responsável: _____"

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.750-521

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5878

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

Rubrica do participante da pesquisa: _____ "

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_207975.pdf	05/09/2016 21:52:42		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_SIPPEE.pdf	05/09/2016 21:52:17	SAMARA MARQUES DOS REIS	Aceito
Outros	Norma_Operacional.pdf	05/09/2016 21:49:02	SAMARA MARQUES DOS REIS	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA.pdf	05/09/2016 21:47:24	SAMARA MARQUES DOS REIS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO_2016.pdf	09/07/2016 20:26:15	SAMARA MARQUES DOS REIS	Aceito
Outros	TERMO DE CONFIDENCIALIDADE.pdf	19/05/2015 21:33:29		Aceito
Outros	AUTORIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO.pdf	19/05/2015 21:28:02		Aceito
Outros	AUTORIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO2.pdf	19/05/2015 21:27:09		Aceito
Outros	INSTRUMENTOS DE PESQUISA.pdf	19/05/2015 21:25:13		Aceito
Folha de Rosto	FOLHA DE ROSTO 2014.pdf	25/03/2014 10:40:55		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.808.637

BRASILIA, 11 de Novembro de 2016

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

ANEXO B – ASPECTOS ÉTICOS (TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: A influência de uma alimentação no polimorfismo do gene da enzima triptofano hidroxilase 2

Coordenadores: Andrés Delgado Cañedo e José Arthur Chies

Pesquisador responsável: Samara Marques Dos Reis

Instituição: Universidade Federal do Pampa – Unipampa/Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS

Telefone celular do pesquisador para contato (inclusive a cobrar) (55) 99996050

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, de uma PESQUISA A INFLUÊNCIA DE UMA ALIMENTAÇÃO NO POLIMORFISMO DO GENE DA ENZIMA TRIPTOFANO HIDROXILASE 2 (Dissertação de Mestrado). Este estudo está sendo realizado para identificar e caracterizar os fatores genéticos associados à doença (depressão). Será realizado em pacientes que tenham ou não de doença. Pacientes com depressão podem apresentar alterações (também denominadas polimorfismos) no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH-2) e/ou possuir baixos níveis de uma substância (triptofano) no sangue.

Por este motivo, seus dados genéticos, como também os dados referentes à alimentação são de grande importância. Já existem outros trabalhos associando polimorfismos (alterações no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2 - TPH -2); nos genes TPH-2 com a doença depressão. Porém, nenhum deles levou em consideração o fator alimentação nem dados bioquímicos, como exames de sangue das pessoas analisadas. Neste trabalho, está sendo pesquisado se a alimentação deficiente em triptofano pode influenciar, junto com as alterações do gene da enzima triptofano hidroxilase 2, no desenvolvimento da doença depressão.

Para executar este trabalho, realizaremos uma coleta de sangue na qual permitirá identificar as possíveis alterações nos níveis de serotonina (uma substância cerebral), triptofano e sódio. A partir desta amostra de sangue também será extraído o seu material genético (DNA,) permitindo assim detectar alterações no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2.

Visto a importância em saber se o paciente é portador dos polimorfismos (alterações no gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase 2 - TPH -2) em questão, estaremos coletando 5 ml de sangue dos voluntários para realizar o diagnóstico genético e também dosar alguns marcadores bioquímicos. Cabe ressaltar que esta coleta terá como único desconforto à picada da agulha e não deverá haver nenhum tipo de reação local (dor, inchaço e coceira). O uso do sangue para qualquer outra finalidade que não seja a pesquisa deste projeto é totalmente vetado.

Serão avaliados peso e estatura, você responderá os questionários sobre sintomas depressivos (tristeza, desânimo, etc) e também sobre como é sua alimentação. Esperamos que as perguntas realizadas não causem nenhum tipo de constrangimento e, se assim for, sinta-se livre para nos falar o que desejar responder.

Todas as informações serão coletadas pelos pesquisadores que são capacitados para a realização das medidas e coleta sanguínea. Embora as medidas corporais e os questionários não apresentem riscos físicos, você pode se sentir constrangido ao ser medido (estatura e massa

corporal) ou em responder alguma questão. Caso isso ocorra, você poderá se recusar a participar do estudo ou de uma parte dele, sua vontade será respeitada, não havendo nenhuma penalização.

As informações coletadas neste estudo são secretas, e não serão revelados, portanto, os pacientes não serão identificados fora da pesquisa.

Ao mesmo tempo, aproveitamos a ocasião para ressaltar que a sua participação será de grande valor para a ciência e, ao mesmo tempo, para as pessoas com a doença depressão, uma vez que as informações obtidas com a realização deste trabalho poderão ajudar no tratamento dos pacientes com depressão e assim começar a adicionar alimentos ricos em triptofano na sua alimentação junto à medicação habitual.

Por meio deste documento e a qualquer momento, você poderá tirar suas dúvidas que ainda tenha sobre o estudo em qualquer aspecto que quiser. Também poderá desistir de participar a qualquer momento, sem sofrer qualquer tipo de crítica por parte dos pesquisadores.

Não haverá nenhum tipo de custo para o senhor (a) em qualquer fase do estudo. Também não haverá pagamento pela sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será paga pelo orçamento da pesquisa. Assim, se ainda tiver qualquer dúvida o senhor (a) poderá realizar uma ligação a cobrar para o número do coordenador da pesquisa (55 99996050) ou Comitê de Ética e Pesquisa (55 3413 4321). Este termo será escrito em duas vias, ficando uma cópia com o/a senhor (a) e outra com o pesquisador.

Seu nome e identidade serão mantidos em sigilo, e os dados da pesquisa serão guardados em local seguro pelo pesquisador responsável. Os resultados poderão ser divulgados em publicações científicas (revistas relacionadas à saúde e ciência).

Assim que o trabalho estiver concluído você será convidado a participar de uma reunião no Centro de Atenção Psicossocial de Alegrete no qual o nosso grupo de pesquisa apresentará as informações obtidas e ficará aberto para esclarecer tudo aquilo que pudermos responder através do conhecimento que tivemos.

Nome do Participante da Pesquisa / ou responsável: _____

Assinatura do Participante da Pesquisa

Nome do Pesquisador Responsável: SAMARA MARQUES DOS REIS

Assinatura do Pesquisador Responsável- SAMARA MARQUES DOS REIS

Alegrete __/__/__

ANEXO C– INVENTÁRIO DE BECK II (BDI-II)

Instruções:

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Por favor, leia cada uma delas cuidadosamente. Depois, escolha uma frase de cada grupo, a que melhor descreva o modo como você tem se sentido nas **duas últimas semanas, incluindo o dia de hoje**. Faça um círculo em volta do número (0,1,2,ou 3), correspondente à afirmação escolhida em cada grupo. Se mais de uma afirmação em um grupo lhe parecer igualmente apropriada, escolha a de número mais alto neste grupo. Verifique se não marcou mais de uma afirmação por grupo, incluindo o item 16 (Alterações no padrão de sono) e o item 18 (Alterações de apetite).

<p>1. Tristeza</p> <p>0 Não me sinto triste.</p> <p>1 Eu me sinto triste grande parte do tempo.</p> <p>2 Estou triste o tempo todo.</p> <p>3 Estou tão triste ou tão infeliz que não consigo suportar.</p> <p>2. Pessimismo</p> <p>0 Não estou desanimado(a) a respeito do meu futuro.</p> <p>1 Eu me sinto mais desanimado(a) a respeito do meu futuro do que de costume.</p> <p>2 Não espero que as coisas dêem certo para mim.</p> <p>3 Sinto que não há esperança quanto ao meu futuro. Acho que só vai piorar.</p> <p>3. Fracasso passado</p> <p>0 Não me sinto um(a) fracassado(a).</p> <p>1 Tenho fracassado mais do que deveria.</p> <p>2 Quando penso no passado vejo muitos fracassos.</p> <p>3 Sinto que como pessoa sou um fracasso total.</p> <p>4. Perda de prazer</p> <p>0 Continuo sentindo o mesmo prazer que sentia com as coisas de que eu gosto.</p> <p>1 Não sinto tanto prazer com as coisas como costumava sentir.</p> <p>2 Tenho muito pouco prazer nas coisas que eu costumava gostar.</p> <p>3 Não tenho mais nenhum prazer nas coisas que costumava gostar.</p> <p>5. Sentimentos de culpa</p> <p>0 Não me sinto particularmente culpado(a).</p> <p>1 Eu me sinto culpado(a) a respeito de várias coisas que fiz e/ou que deveria ter feito.</p> <p>2 Eu me sinto culpado(a) a maior parte do tempo.</p> <p>3 Eu me sinto culpado(a) o tempo todo.</p>	<p>6. Sentimentos de punição</p> <p>0 Não sinto que estou sendo punido(a).</p> <p>1 Sinto que posso ser punido(a).</p> <p>2 Eu acho que serei punido(a).</p> <p>3 Sinto que estou sendo punido(a).</p> <p>7. Auto-estima</p> <p>0 Eu me sinto como sempre me senti em relação a mim mesmo(a).</p> <p>1 Perdi a confiança em mim mesmo(a).</p> <p>2 Estou desapontado(a) comigo mesmo(a).</p> <p>3 Não gosto de mim.</p> <p>8. Autocrítica</p> <p>0 Não me critico nem me culpo mais do que o habitual.</p> <p>1 Estou sendo mais crítico(a) comigo mesmo(a) do que costumava ser.</p> <p>2 Eu me critico por todos os meus erros.</p> <p>3 Eu me culpo por tudo de ruim que acontece.</p> <p>9. Pensamentos ou desejos suicidas</p> <p>0 Não tenho nenhum pensamento de me matar.</p> <p>1 Tenho pensamentos de me matar, mas não levaria isso adiante.</p> <p>2 Gostaria de me matar.</p> <p>3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.</p> <p>10. Choro</p> <p>0 Não choro mais do que chorava antes.</p> <p>1 Choro mais agora do que costumava chorar.</p> <p>2 Choro por qualquer coisinha.</p> <p>3 Sinto vontade de chorar, mas não consigo.</p>
--	--

<p>11. Agitação</p> <p>0 Não me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes.</p> <p>1 Eu me sinto mais inquieto(a) ou agitado(a) do que me sentia antes.</p> <p>2 Eu me sinto tão inquieto(a) ou agitado(a) que é difícil ficar parado(a).</p> <p>3 Estou tão inquieto(a) ou agitado(a) que tenho que estar sempre me mexendo ou fazendo alguma coisa.</p> <p>12. Perda de interesse</p> <p>0 Não perdi o interesse por outras pessoas ou por minhas atividades.</p> <p>1 Estou menos interessado pelas outras pessoas ou coisas do que costumava estar.</p> <p>2 Perdi quase todo o interesse por outras pessoas ou coisas.</p> <p>3 É difícil me interessar por alguma coisa.</p> <p>13. Indecisão</p> <p>0 Tomo minhas decisões tão bem quanto antes.</p> <p>1 Acho mais difícil tomar decisões agora do que antes.</p> <p>2 Tenho muito mais dificuldade em tomar decisões agora do que antes.</p> <p>3 Tenho dificuldade para tomar qualquer decisão.</p> <p>14. Desvalorização</p> <p>0 Não me sinto sem valor.</p> <p>1 Não me considero hoje tão útil ou não me valorizo como antes.</p> <p>2 Eu me sinto com menos valor quando me comparo com outras pessoas.</p> <p>3 Eu me sinto completamente sem valor.</p> <p>15. Falta de energia</p> <p>0 Tenho tanta energia hoje como sempre tive.</p> <p>1 Tenho menos energia do que costumava ter.</p> <p>2 Não tenho energia suficiente para fazer muita coisa.</p> <p>3 Não tenho energia suficiente para nada.</p> <p>16. Alterações no padrão de sono</p> <p>0 Não percebi nenhuma mudança no meu sono.</p> <p>1a Durmo um pouco mais do que o habitual.</p> <p>1b Durmo um pouco menos do que o habitual.</p> <p>2a Durmo muito mais do que o habitual.</p> <p>2b Durmo muito menos do que o habitual.</p> <p>3a Durmo a maior parte do dia.</p> <p>3b Acordo 1 ou 2 horas mais cedo e não consigo voltar a dormir.</p>	<p>17. Irritabilidade</p> <p>0 Não estou mais irritado(a) do que o habitual.</p> <p>1 Estou mais irritado(a) do que o habitual.</p> <p>2 Estou muito mais irritado(a) do que o habitual.</p> <p>3 Fico irritado(a) o tempo todo.</p> <p>18. Alterações de apetite</p> <p>0 Não percebi nenhuma mudança no meu apetite.</p> <p>1a Meu apetite está um pouco menor do que o habitual.</p> <p>1b Meu apetite está um pouco maior do que o habitual.</p> <p>2a Meu apetite está muito menor do que antes.</p> <p>2b Meu apetite está muito maior do que antes.</p> <p>3a Não tenho nenhum apetite.</p> <p>3b Quero comer o tempo todo.</p> <p>19. Dificuldade de concentração</p> <p>0 Posso me concentrar tão bem quanto antes.</p> <p>1 Não posso me concentrar tão bem como habitualmente.</p> <p>2 É muito difícil para mim manter a concentração em alguma coisa por muito tempo.</p> <p>3 Eu acho que não consigo me concentrar em nada.</p> <p>20. Cansaço ou fadiga</p> <p>0 Não estou mais cansado(a) ou fadigado(a) do que o habitual.</p> <p>1 Fico cansado(a) ou fadigado(a) mais facilmente do que o habitual.</p> <p>2 Eu me sinto muito cansado(a) ou fadigado(a) para fazer muitas das coisas que costumava fazer.</p> <p>3 Eu me sinto muito cansado(a) ou fadigado(a) para fazer a maioria das coisas que costumava fazer.</p> <p>21. Perda de interesse por sexo</p> <p>0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.</p> <p>1 Estou menos interessado(a) em sexo do que costumava estar.</p> <p>2 Estou muito menos interessado(a) em sexo agora.</p> <p>3 Perdi completamente o interesse por sexo.</p>
--	---

Subtotal página 2

Subtotal página 1

Pontuação total