

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

Aspectos Genéticos do Comportamento Suicida

Jair Segal

Orientadora: Prof. Dra. Gisele Gus Manfro

Porto Alegre, 2009

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

JAIR SEGAL

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Médicas: Psiquiatria
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Psiquiatria.**

Orientadora: Prof. Dra. Gisele Gus Manfro

2009

S454a **Segal, Jair**

Aspectos genéticos do comportamento suicida / Jair Segal ; orient. Gisele Gus Manfro. – 2009.
69 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Suicídio 2. Tentativa de suicídio 3. Polimorfismo genético
4. Depressão 5. Transtorno depressivo 6. Proteínas da membrana plasmática de transporte de serotonina I. Manfro, Gisele Gus II. Título.

NLM: WM 165

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

Dedico este trabalho a H. M.

por ter me inspirado
a buscar a compreensão do desespero,
a seguir pelos caminhos da dor
e viver a vida da forma possível.

Agradecimentos

A Sandra Leistner Segal pelo conhecimento, competência, estímulo, seriedade e exigência com que se dispôs a me ensinar as técnicas e interpretar resultados em Biologia Molecular.

A Gisele Gus Manfro, minha orientadora, pela oportunidade de me aceitar como aluno, por ter me disponibilizado tempo e ter permitido desenvolver um trabalho diferente de sua linha de pesquisa.

Aos colegas de laboratório: Laila, Rafael, Juliana, Ana Carolina, Camila, Fabiana, Marcela e Thais pela preciosa colaboração e ótima convivência.

Aos colegas do PROTAIA: Giovanni Salum pelo auxílio nas análises estatísticas e elaboração dos artigos, Letícia, Luciano, Ana Carolina, Elizeth, Andréia, Carolina, Cláudia e demais colaboradores pelo acolhimento e contribuição ao trabalho.

Aos colegas da Pós-Graduação Elisabeth Meyer pela parceria, estímulo e amizade nesta trajetória e Paulo Knapp pela capacidade e objetividade que me auxiliaram a encontrar um caminho mais fácil na condução deste projeto.

Aos colegas Emílio Salle e Renato B. Piltcher pela longa parceria e amizade.

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

Aos meus irmãos, Salomão e Fábio por terem me ajudado a abrir caminhos e servirem de modelo para o aprendizado.

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

Sumário

1. Lista de Figuras.....	7
2. Lista de Abreviaturas.....	8
3. Apresentação do trabalho.....	10
4. Resumo.....	13
5. Abstract.....	14
6. Introdução.....	15
6.1. Epidemiologia do comportamento suicida.....	15
6.2. Modelos para o comportamento suicida.....	18
6.2.1 Modelo diátese – estresse.....	19
6.3. Doenças Psiquiátricas e Suicídio.....	21
6.3.1. A comorbidade e o comportamento suicida.....	23
6.4. Agressividade e impulsividade no comportamento suicida.....	25
6.5. Abuso físico e sexual no comportamento suicida.....	27
6.6. Neurotransmissores e comportamento suicida.....	27
6.6.1. Polimorfismos genéticos e comportamento suicida.....	30
6.7. Interação Gene-Ambiente.....	33
6.8. Interação Gene-Gene.....	34
7. Justificativa do Estudo.....	35
8. Hipótese de Pesquisa.....	36
9. Objetivos.....	37
9.1. Geral.....	37
9.2. Específicos.....	37
10. Considerações Éticas.....	38

11. Referências.....	39
12. Artigos.....	44
12.1 Artigo 1.....	44
12.2 Artigo 2.....	49
13. Conclusão.....	60
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Informado.....	60
APÊNDICE B – Protocolo de Investigação para o Suicídio.....	67
Anexo 1. Apresentação parcial dos resultados.....	69

1. Lista de figuras

Figura	Página
Figura 1. Manifestações evidentes e ocultas do comportamento suicida.	17
Figura 2. Modelo diátese-estresse do comportamento suicida.	21

2. Lista de Abreviaturas

5-HTT – Gene transportador da serotonina ou *Serotonine transporter gene*
 5-HTTLPR – Polimorfismo na região promotora do gene transportador da serotonina ou *Serotonin Linked Polymorphic Region*
 A allele: alelo de baixa atividade do polimorfismo do gene da enzima catecol-orto-metil-transferase
 AA (Met/Met): genótipo homocigoto AA (Metionina) da COMT
 AG (Val/Met): genótipo heterocigoto AG Valina-para-Metionina da COMT
 CI: Intervalo de confiança, Confidence Interval
 CI95% – Intervalo de Confiança de 95%; *Confident Interval of 95%*
 COMT – Gene da Catecol *Orto-Metiltransferase*
 COMT Val158Met: substituição da valina-para-metionina no códon 158 do gene da COMT.
 DNA – Ácido desoxirribonucléico, Deoxyribonucleic Acid
 DSM – Manual diagnóstico e estatístico de transtorno mental ou *Diagnostic and Statistical Manual*
 G: alelo de alta atividade da COMT; high activity allele of COMT Polymorphism
 G>A polimorfismo: substituição da valina-para-metionina (Val/Met) no codon 158 da COMT
 GG (Val/Val): Genótipo Homocigoto da Valina do polimorfismo da COMT
 HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre
 HPA: eixo hipotálamo - hipofisário – adrenal, hypothalamic-pituitary-adrenal axis
 HPS: Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre
 HWE – Equilíbrio de Hardy-Weinberg ou *Hardy-Weinberg Equilibrium*
 L – alelo *longo do polimorfismo 5-HTTLPR*
 MAF: alelo de menor frequência, minor allele frequency
 MAOA – gene da Monoamino Oxidase A
 MDD: Depressão Maior, Major Depressive Disorder
 Met – Metionina
 Met: alelo Metionina da COMT, methionine allele of COMT Polymorphism
 Met / Met: genótipo homocigoto da metionina da COMT, methionine homozygous genotype of COMT Polymorphism
 MINI – *MINI International Neuropsychiatric Interview*
 OR – *Odds ratio*
 PCR: Reação em cadeia da Polimerase, Polymerase Chain Reaction
 RFLP – *Restriction fragment length polymorphism*
 S – alelo curto, *short do polimorfismo 5-HTTLPR*.
 SLC6A4 – *Solute Carrier Family 6 (Neurotransmitter transporter serotonin), member 4*
 SIS: Escala de Intenção de Suicídio, Suicide Intent Scale
 SNC – Sistema Nervoso Central
 SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único; *Single nucleotide polymorphism*
 SSRI – Inibidor Seletivo da Recaptação da Serotonina, *Serotonin Selective Reuptake Inhibitor*
 TCLE – Termo de Consentimento livre e esclarecido
 TPH – gene da Triptofano hidroxilase
 UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
 Val – Valina

VNTR – Número variável de repetições em *tandem*

Val: valine allele of COMT Polymorphism

Val/Met: valine-to-methionine heterozygous genotype of COMT Polymorphism

Val/Val: The Valine homozygous genotype of COMT Polymorphism

WHO: Organização Mundial da Saúde, World Health Organization

4. Apresentação do trabalho

Diversas pesquisas mostraram que o suicídio geralmente aparece associado a doenças mentais, estando o diagnóstico de depressão maior presente em 40% dos casos. Os avanços no campo da biologia molecular permitiram o emprego de métodos sensíveis e rápidos na identificação de genes candidatos associados a doenças mentais, principalmente nos transtornos afetivos. Desta forma, a detecção de variações de DNA específicas, encontradas via técnicas moleculares, são de grande valia no diagnóstico clínico. Nos últimos 20 anos, foram constatadas evidências crescentes de que o comportamento suicida tem forte determinante neurobiológico, não sendo apenas uma resposta lógica a um estresse extremo. Fatores genéticos transmitidos independentemente explicam em parte os riscos para depressão maior e para o suicídio. A identificação de genes responsáveis envolve uma pesquisa geral em todo o genoma humano. Uma alternativa para isso seria a identificação de genes candidatos nos sistemas monoaminérgicos. Várias disfunções dos neurotransmissores, tanto primárias como secundárias, parecem fazer parte da constelação de anormalidades biológicas associadas ao comportamento suicida. Os estudos de associação baseiam-se na avaliação de polimorfismos. Essas variações na seqüência do DNA podem alterar a expressão e/ou o funcionamento do produto dos genes, potencialmente aumentando o risco para o transtorno ou comportamento em questão. A serotonina tem um papel relevante na maturação e migração neuronais. A partir de estudos em animais onde, por manipulação genética, alterou-se o funcionamento da serotonina, observaram-se déficits sutis afetando as vias cerebrais envolvidas em respostas emocionais. Assim, a via serotoninérgica vem sendo a mais estudada no envolvimento de diversos transtornos psiquiátricos.

O gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) é um dos genes candidatos mais estudados no comportamento suicida. Um polimorfismo de tamanho de repetição (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*) que corresponde a uma inserção/ deleção de 44 pb na região promotora deste gene (5 - HTTLPR), que origina 2 alelos (l- *long* e s-*short*). Diversos estudos têm mostrado resultados evidenciando a associação entre o polimorfismo na região promotora, em especial a variante alélica curta (alelo “s” ou short) e o comportamento suicida. Embora Nakamura e colaboradores (2000) tenham descrito uma nova variante alélica dentro

do polimorfismo 5-HTTLPR, a esmagadora maioria dos trabalhos envolvendo este polimorfismo analisou os desfechos considerando apenas a forma bialélica. A análise de um polimorfismo de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphism ou SNP) que gera um funcionamento multialélico na região reguladora do gene (5-HTTLPR) foi muito pouco estudada associada ao comportamento suicida. Dessa forma realizamos o estudo 1, que permitiu a análise da forma multialélica deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Mesmo com um resultado negativo, este trabalho permitiu avaliar pela primeira vez, uma amostra brasileira de pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Mesmo que diversos estudos tenham encontrado associação positiva entre o polimorfismo do gene transportador da serotonina e o comportamento suicida, sugerimos que novos estudos sejam realizados baseados no modelo trialélico no sentido compreender o efeito e o papel deste polimorfismo neste comportamento.

A neurotransmissão de catecolaminas tem sido descrita como participante no comportamento suicida e a enzima catecol-orto-metil-transferase (COMT) aparece em alguns poucos estudos como estando associada a tal comportamento. Esta enzima é a maior enzima catabólica na neurotransmissão de monoaminas no cérebro. Sua participação nos atos suicidas estaria relacionada à hipótese de que alterações bidirecionais dos níveis, tanto da dopamina como noradrenalina, aumentariam o comportamento agressivo. Um polimorfismo (rs165388) no gene que codifica a enzima presente no éxon 2 do cromossomo 22q11.2 produz uma substituição de uma valina por metionina no códon 158 (COMT Val158Met) que resulta na distribuição trimodal [AA (Met/Met), AG (Val/Met) e GG (Val/Val)] da atividade da COMT em populações humanas. O alelo Metionina (Met) estaria associado a uma menor atividade da enzima comparado ao alelo G(Valina) de maior atividade. A variante Val/Met da enzima COMT é um dos mais estudados polimorfismos analisados em pacientes psicóticos e esquizofrênicos embora com poucas evidências de associação com tais doenças. Devido a existência de poucos trabalhos envolvendo este polimorfismo em pacientes não psicóticos com comportamento suicida decidimos investigar uma possível participação deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Em nossa análise (estudo2) não encontramos uma associação entre o polimorfismo (rs165388) com tentativas de suicídio em pacientes deprimidos; entretanto, mesmo com uma amostra pequena nossos resultados estão de acordo com e diversos estudos que

investigaram a relação deste polimorfismo com comportamento suicida em diferentes doenças psiquiátricas. Entretanto, nossa análise não possui poder para identificar associações de menor magnitude e mais estudos se fazem necessários.

A compreensão dos fatores genéticos que contribuem para a vulnerabilidade ao comportamento suicida ainda está longe de ser totalmente elucidada. Muitos polimorfismos genéticos já evidenciaram sua participação neste desfecho, mas com um efeito muito modesto ou com resultados controversos ou inconclusivos. Outros recursos como o estudo das interações gene-ambiente, gene-gene-ambiente, a análise de famílias, trios e de haplótipos de suscetibilidade, além do estudo de outros polimorfismos e vias de sinalização de proteínas receptoras de enzimas podem ser úteis na melhor compreensão dos fenômenos que compõem o comportamento suicida.

O aperfeiçoamento técnico tem permitido avanços como o estudo da Expressão Gênica Global no cérebro como uma perspectiva promissora. As tecnologias de “*microarray*” oferecem a possibilidade de quantificar o nível de expressão de vários milhares ou mesmo de todos os genes encontrados no genoma humano para o estudo da depressão maior entre outros transtornos mentais, mas ainda restrita aos países desenvolvidos.

4. RESUMO

Introdução: Inúmeros estudos têm associado alterações no sistema serotoninérgico com doenças psiquiátricas como a depressão e os atos suicidas. O polimorfismo funcional no gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) é descrito como uma inserção/deleção de 44 pares de base na região polimórfica do gene 5-HTT (5-HTTLPR) tendo dois alelos: “longo”(l) e “curto”(s). Diversos estudos mostraram evidências da associação da variante alélica curta (alelo “s” ou short) com o comportamento suicida. Novas variantes alélicas foram descritas dentro do polimorfismo 5-HTTLPR na forma de um polimorfismo de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphism) que gera um funcionamento multialélico na região reguladora do gene (5-HTTLPR). A maioria dos trabalhos envolvendo este polimorfismo analisou os desfechos considerando apenas a forma bialélica. As novas variantes (forma multialélica) foram pouco estudadas associadas ao comportamento suicida. Dessa forma realizamos o estudo 1, que permitiu a análise da forma multialélica deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. A enzima catecol-orto-metil-transferase (COMT) aparece em alguns estudos como estando associada ao comportamento suicida. Um polimorfismo (rs165388) no gene que codifica a enzima produz uma substituição de uma valina por metionina no códon 158 (COMT Val158Met) que resulta na distribuição trimodal [AA (Met/Met), AG (Val/Met) e GG (Val/Val)] da atividade da COMT. A variante Val/Met da enzima COMT é um dos mais estudados polimorfismos analisados em pacientes psicóticos e esquizofrênicos embora com poucas evidências de associação com tais doenças. Devido à existência de poucos trabalhos envolvendo este polimorfismo com comportamento suicida decidimos investigar uma possível participação deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio que está descrita no artigo 2.

Métodos: Este foi um estudo caso-controle para de genes candidatos para o comportamento suicida. A amostra foi pareada para sexo e idade e composta por indivíduos caucasianos. No primeiro estudo a amostra foi composta de 94 pacientes deprimidos que tentaram suicídio e 94 controles sem diagnóstico psiquiátrico e no estudo 2 a amostra foi de 88 pacientes e 88 controles também pareados por sexo e idade. A avaliação diagnóstica foi feita através de entrevista psiquiátrica clínica e por entrevista diagnóstica padronizada breve Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) para adultos e nos pacientes foi aplicada a escala Suicide Intent Scale (SIS). A região promotora do gene 5-HTT contendo o polimorfismo 5-HTTLPR e a região do gene COMT contendo o polimorfismo Val158Met foram amplificadas através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os produtos da PCR foram analisados por RFLP e a análise dos fragmentos resultantes foram visualizados por eletroforese em gel agarose 3%.

Resultados: No primeiro estudo não foi encontrada associação entre as novas variantes do polimorfismo 5-HTTLPR com tentativas de suicídio em pacientes deprimidos. Em nossa análise também não encontramos uma associação entre o polimorfismo (rs165388) com comportamento suicida.

Conclusão: Mesmo com resultados negativos, este trabalho permitiu avaliar pela primeira vez as novas variantes alélicas do polimorfismo do gene transportador da serotonina e analisar o polimorfismo Val158Met do gene da COMT em uma amostra brasileira de pacientes deprimidos que tentaram o suicídio. Sugerimos que novos estudos sejam realizados no sentido compreender o papel destes polimorfismos no comportamento suicida.

5. Abstract

Introduction: The serotonergic route has been intensively studied regarding the involvement in several psychiatric disorders including major depression and suicide behavior. The serotonin transporter gene (5-HTT) is one of the most studied candidate genes for suicide behavior. A polymorphism corresponding to an insertion/deletion of 44 base pairs in the promoter region of this gene (5-HTTLPR), originates two alleles (*l*- *long* e *s*-*short*). Several studies have demonstrated an evidence for the association among this polymorphism (specially the *s* variant) and suicide behavior. New allelic variants within the 5-HTTLPR polymorphism were described which generates a multiallelic functioning in the regulatory region of the 5-HTT gene. The analysis of an imbedded SNP (Single Nucleotide Polymorphism) was rarely studied in association with suicide behavior and the vast majority of publications involving this polymorphism analyzed only the biallelic form. Thus, we decided to perform study 1, which allowed a multiallelic analysis of this polymorphism in depressed patients who attempted suicide. The enzyme catechol-o-methyltransferase (COMT) has been shown in a few studies as being associated to such behavior. A polymorphism (rs165388) in the gene that codes for the enzyme produces a substitution of valine for methionine at codon 158 (COMT Val158Met) which results in the trimodal distribution ([AA (Met/Met), AG (Val/Met) e GG (Val/Val)] of the COMT activity. This is one of the most studied polymorphisms in psychotic and schizophrenic patients, although with few evidences of positive association. Because this polymorphism has been poorly studied in non psychotic patients with suicide behavior, we decided to investigate a possible participation of such polymorphism in our sample (study 2).

Methods: These are case-control candidate gene studies for suicide behavior. Subjects were cautiously paired for sex and age and all were Caucasians. The sample of the first study consisted of 94 patients and the control group was a convenience sample comprising 94 employees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) without psychiatric disorders. The second study comprised the same sample with 176 subjects also paired for sex and age (88 cases and 88 controls). Cases and controls were evaluated by a Psychiatric Interview and the Mini International Neuropsychiatry Interview (MINI). A semi-structured interview was used to access sociodemographic data and clinical history. The Beck's Suicidal Intention Scale (SIS) was used for the patients interviewed by the psychiatrist. The region of the 5-HTT gene containing the biallelic polymorphism and the region of the COMT gene containing the Val/Met polymorphism were amplified under Polymerase Chain Reaction. The amplified products of 5-HTT polymorphism were determined by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. The digestion products were visualized by 3% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide under UV light.

Results: In our first study, we did not find an association with the new allelic variants of 5-HTTLPR among depressed patients with suicide attempts. Also we did not find an association with the rs165388 polymorphism (COMT) with suicide attempts in depressed patients.

Conclusion: Even with a negative result, this work allowed, for the first time, the new allelic variants of 5-HTT and analyze the COMT Val158Met polymorphism with suicide attempts in depressed patients. We suggest more studies in order to understand the role of these polymorphisms in suicide behavior.

6. Introdução

6.1. Epidemiologia do comportamento suicida

O comportamento suicida representa uma das maiores preocupações em saúde pública na atualidade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o suicídio foi responsável por quase 2% das mortes do mundo no ano de 1998, o que o coloca na frente de mortes causadas por guerras e bem à frente das mortes por homicídio. De uma forma sucinta, a OMS define o ato suicida como “auto - agressão com graus variados de intenção letal” e suicídio como “um ato suicida com um desenlace fatal” (WHO, 1999).

A cada ano, um milhão de pessoas comete o suicídio ao redor do mundo. No total estima-se que ocorram aproximadamente 30.000 suicídios por ano nos EUA e 120.000 na Europa (Jamison, 2002). O coeficiente de mortalidade por suicídio está na população geral mundial entre 10 e 20 para cada 100.000 indivíduos. Embora os dados epidemiológicos variem entre os diferentes países, o coeficiente brasileiro está abaixo da média mundial. Entretanto, na região sul do Brasil, especificamente no Rio Grande do Sul o coeficiente de mortalidade por ano é duas vezes maior (9,88 suicídios /100.000 habitantes por ano) que a média nacional (MS/SVS, 2006). No ano de 2007, a mortalidade no Rio Grande do Sul por suicídio foi de 1099 pessoas, sendo 878 do sexo masculino e 221 do sexo feminino; sendo que a maioria (911 pessoas) utilizou métodos violentos (enforcamento e armas de fogo) (SIM / RS, 2008).

As tentativas de suicídio constituem o mais poderoso fator preditivo de um eventual suicídio completo (Harris et al., 1997) além de provocar uma

significativa morbidade resultando em gastos importantes dos recursos de saúde. Para cada suicídio ocorrem cerca de 10 tentativas de suicídio (Mann et al., 1999). Embora as mulheres façam mais tentativas de suicídio que os homens, estes tem uma mortalidade 4 vezes maior que as mulheres em suas tentativas. É sabido que 80% dos suicídios completos são de pessoas do sexo masculino (Roy, 1999). Estudos demonstram que, ser casado é um fator de proteção para os homens, enquanto ter um filho menor de dois anos de idade é um fator de proteção para o suicídio nas mulheres (Oquendo et al., 2007).

Esse problema afeta todas as idades e constitui a terceira causa de morte entre adolescentes e adultos jovens menores de 24 anos e a quarta causa mais freqüente de morte nas crianças na faixa dos 10 aos 15 anos nos Estados Unidos (Roy, 2000). No Brasil, a mortalidade proporcional por suicídio de maior magnitude é observada nas adolescentes de 15 a 19 anos (Werlang e Botega, 2004).

Em 1999, a Organização Mundial da Saúde lançou o programa SUPRE, um estudo multicêntrico de intervenção no comportamento suicida com participação de 8 países. Dentre os locais escolhidos, a cidade de Campinas (SP) participou deste estudo, sob a coordenação do Dr. Neury José Botega. O Brasil através da Portaria Ministerial nº 2.542 de 2005 criou um grupo de trabalho visando estabelecer as Diretrizes Nacionais de Prevenção do Suicídio. Em 14 de agosto de 2006 foi publicada a portaria Ministerial 1.876 que estabeleceu estas diretrizes a serem implantadas em todas as unidades federadas. Entre as ações, foi elaborado um manual dirigido à profissionais das equipes de saúde mental lançado no I Seminário Nacional

do Suicídio ocorrido em agosto de 2006 em Porto Alegre (RS) como parte da política a ser desenvolvida em todo o país.

Jamison (2002) afirma que o comportamento suicida é um ato saturado de ambivalência. Mesmo já havendo definições sobre os fatores de risco e proteção do suicídio, estes ainda se constituem insuficientes na prevenção e no tratamento do problema. Muitos suicídios ocorrem de forma inesperada e outros mesmo esperados por seu risco parecem ser imprevisíveis. Apenas uma minoria é desencadeada por eventos estressantes em pessoas com uma vida emocional saudável e, nesses casos, o risco de um comportamento suicida é geralmente temporário e potencialmente prevenível. Do ponto de vista dimensional o comportamento suicida pode ser visto como um *continuum* que inclui a ideação suicida, ameaças e gestos de risco, as tentativas de suicídio e o suicídio completo. Mas devemos estar atentos, pois nem sempre tais fenômenos são perceptíveis ou identificados facilmente.

A figura abaixo ilustra como o comportamento suicida pode se manifestar de uma forma oculta ou evidente dentro deste *continuum*.

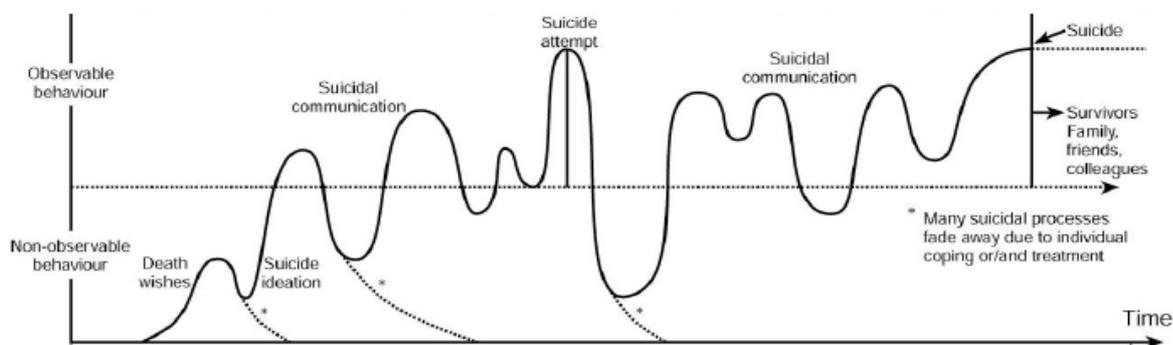


Figura 1. Adaptado de Wasserman, 2001.

Mesmo com os avanços científicos, as sociedades contemporâneas ainda tratam o problema do suicídio como algo vergonhoso, resultante de uma falência da responsabilidade pessoal, da coesão familiar ou do sistema social. Esta visão promove uma série de dificuldades na intervenção e na pesquisa desses casos e até impossibilita uma adequada notificação para fins estatísticos devido à subnotificação ou informação de dados falsos. Botega (2000) alerta para a necessidade de se levar em consideração a grande diversidade entre as regiões brasileiras, que determinam níveis variados de dificuldade de registro, comprometendo a fidedignidade dos dados e assim podendo elevar os casos de subnotificação, tornando os dados ainda mais alarmantes. Os suicídios comumente deixam de ser relatados, em parte porque os suicidas disfarçam suas ações e em parte porque nas sociedades onde ele é visto sob um juízo moralista a comunicação tende a ser evitada (Solomon, 2002).

6.2. Modelos para o comportamento suicida

Assim como os traços de comportamento normal são transmitidos de pais para filhos, certos transtornos mentais são comuns em famílias. Podemos considerar as doenças mentais ou psiquiátricas como doenças complexas, ou seja, doenças que não exibem um padrão de herança mendeliana de transmissão, mas exibem um padrão de herança familiar, sofrem alguma influência genética e tem origem ou causa dita complexa, ou seja, multifatorial. Há fatores genéticos e fatores ambientais envolvidos na gênese destas doenças. Tais fatores genéticos e ambientais podem ser, tanto fatores de risco, como fatores de proteção. De acordo com o histórico familiar pode haver uma maior suscetibilidade ou predisposição genética deste

indivíduo para ter a doença, mas fatores protetores ambientais também podem interferir na sua manifestação, diminuindo o risco de ocorrência. A combinação do efeito de fatores genéticos e ambientais de risco e os fatores protetores contribuem para a propensão individual para desenvolver a doença. Outros fatores como a idade de aparecimento, gravidade da doença e a expressão dos sintomas clínicos devem também ser considerados.

6.2.1 Modelo diátese – estresse

Nos últimos 20 anos, foram constatadas evidências crescentes de que o comportamento suicida tem forte determinante neurobiológico, não sendo apenas uma resposta lógica a um estresse extremo. Estes determinantes neurobiológicos são independentes do transtorno psiquiátrico com o qual estão associados. As pessoas que estão sob risco de suicídio tendem a fazer tentativas de modo relativamente precoce, na evolução de seus quadros (Malone et al., 1995).

Jamison (2002) afirma que “não existe nenhuma teoria simples para o suicídio, nem algoritmos invariáveis com os quais prevê-los”. Mann (1998) sugere, para a compreensão deste fenômeno, a construção de um modelo que pode ser visto ou como um modelo diátese-estresse ou um modelo gatilho-limiar que pode explicar esta suscetibilidade. A diátese (vulnerabilidade) determina como um indivíduo reage a um evento estressor e depende de fatores que moldam a sua personalidade como os fatores genéticos e ambientais, experiências infantis entre outros. Baseado neste modelo, os fatores de risco podem ser categorizados como pertencentes a um desses dois domínios (gatilho ou limiar pessoal). Entre os estressores associados aos atos suicidas está o início ou piora de uma doença

psiquiátrica aguda como a depressão, abuso de substâncias, doença orgânica, crise familiar ou eventos de vida adversos que poderiam servir como um gatilho. O evento estressor é um precipitante que determina o início (*"timing"*) de uma tentativa de suicídio (Sher et al. 2001). O limiar para um comportamento suicida também pode ser observado levando-se em conta aspectos genéticos, a história familiar de comportamentos suicidas e certos traços pessoais, tais como a presença de transtorno de personalidade borderline comórbida, comorbidade com abuso de drogas ou álcool e excessiva impulsividade. O mais importante elemento sugestivo de risco para a tentativa de suicídio é a história pregressa de outra(s) tentativa(s) de suicídio. Mas um único fator não é suficiente para desencadear um ato suicida. Se o paciente tiver, pelo menos, um fator de risco maior para cada domínio pode-se considerar um alto risco para o suicídio.

Se considerarmos a depressão como um único fator, vemos que muitos depressivos nunca se tornam suicidas e muitos suicídios são cometidos por pessoas que não são depressivas. Oquendo et al. (2000) afirmam que pacientes que tentaram o suicídio tem tanto diátese (baixo limiar) para o comportamento suicida quanto um gatilho precipitando o comportamento (estressor). Os autores observaram que alguns pacientes com depressão maior são vulneráveis para agir quando sofrem impulsos suicidas. Esta vulnerabilidade resulta da interação entre pontos gatilhos ou precipitantes e o limiar de comportamento suicida.

A seguir podemos ver o esquema do modelo proposto.

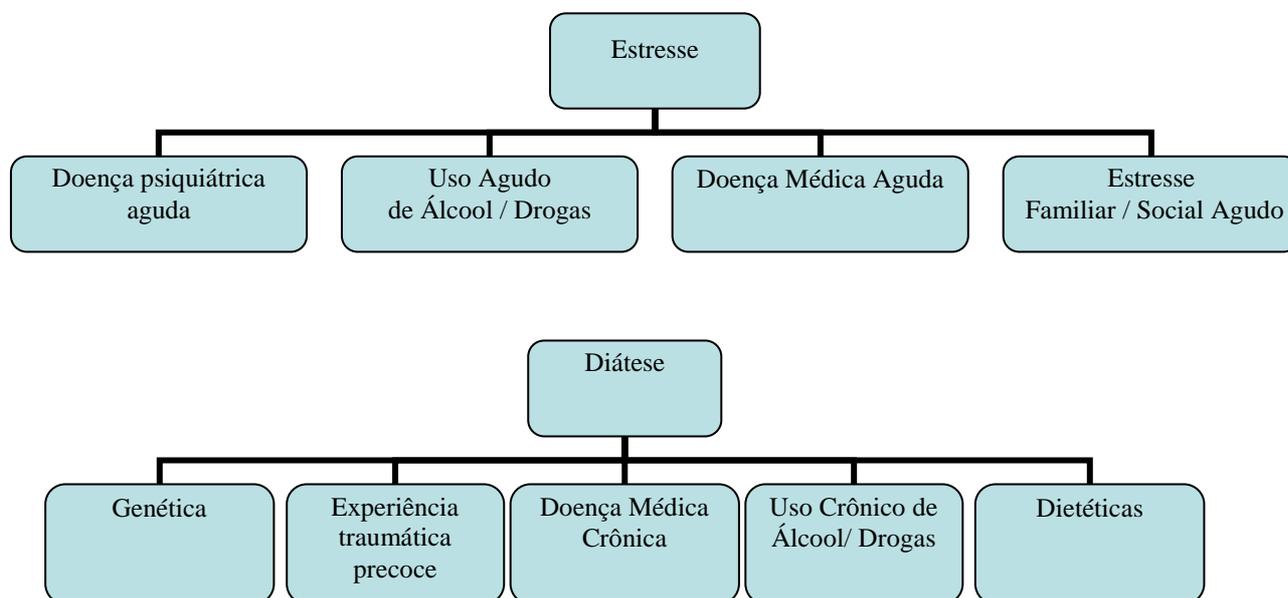


Figura 2. Modelo diátese-estresse do comportamento suicida (Mann, 1998).

6.3. Doenças Psiquiátricas e Suicídio

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

A relação entre transtornos afetivos ou do humor (que inclui mania e depressão) mostra uma poderosa associação com o suicídio onde seu risco de ocorrência tem sido bastante elevado podendo ser observado entre 10% a 25% das mortes de pessoas com depressão maior tanto unipolar como bipolar. Diversas pesquisas mostraram que o suicídio geralmente aparece

associado a doenças mentais, estando o diagnóstico de depressão maior presente em 40% dos casos (Turecki, 2001) elevando-se para além de 60% no transtorno bipolar e na distímia. O risco de mortalidade por suicídio durante a vida nos pacientes com transtornos afetivos é em torno de 7% nos homens e 1% nas mulheres (Blair-West et al., 1999).

A ideação suicida e o comportamento de risco estão presentes em famílias com história de depressão severa (Allen et al., 2005), sintomas psicóticos, comorbidade com abuso ou dependência de álcool (Bottlender et al., 2000) além de sintomas de pânico (Frank et al., 2002) e início precoce de transtorno afetivo (Carter et al., 2003). Estudos clínicos com pacientes psiquiátricos sugerem que o risco do comportamento suicida aumenta na presença de uma história familiar de suicídio; uma afirmação que também tem apoio nos achados de estudos de gêmeos e de adoção. Pacientes com história familiar de suicídio têm, em mais de 50% dos casos, o diagnóstico primário de transtorno afetivo (Roy, 1983). Em pacientes com depressão, cerca de 5% revelam uma história de suicídio em familiares de primeiro grau, e cerca de 30% a 50% dos pacientes com depressão que têm história familiar positiva para o suicídio tentam, eles próprios, o suicídio. Uma história pregressa de tentativa de suicídio está freqüentemente associada com uma tentativa de suicídio mais violenta. (Roy et al., 1999).

Estudos com gêmeos têm mostrado também evidências de um fator genético para o comportamento suicida onde a concordância para o comportamento suicida foi maior entre gêmeos monozigóticos do que nos dizigóticos (Roy et al., 2001). Em estudos com adoção foi encontrado um maior risco de suicídio para os familiares biológicos de pessoas adotadas que

cometeram suicídio quando comparadas aos familiares biológicos de indivíduos adotados do grupo controle. (Wender et al., 1986; Roy et al., 1999).

A transmissão familiar do risco de suicídio parece ser independente da transmissão familiar de doenças psiquiátricas. O risco de suicídio dos filhos de pacientes que tentaram o suicídio é maior quando comparado com a prole de pessoas que não tentaram o suicídio (Brent et al., 2002; Melhem et al., 2007).

6.3.1. A comorbidade e o comportamento suicida

Existe consenso geral de que os transtornos psiquiátricos com abuso e dependência de drogas estão associados com maior risco de suicídio, especialmente em pacientes com transtornos maiores do humor. No entanto, os ensaios publicados até o momento não distinguem o risco maior pelo abuso ou pela dependência de drogas. O abuso de drogas se inicia na adolescência e pode desempenhar papel proeminente no aumento de 300% nos casos de suicídio nesta faixa etária. Nos jovens, o abuso de drogas pode estar associado com elevada frequência à depressão e transtorno bipolar (Tondo et al., 2001). Além do transtorno do humor e do abuso de drogas, podem ser fatores de risco associados ao suicídio a deterioração social, profissional, doenças físicas e alterações nutricionais.

Os resultados de uma pesquisa realizada com 504 pacientes hospitalizados com transtorno de humor por tentativas de suicídio e abuso de substâncias demonstraram a associação do abuso de álcool e drogas com transtornos afetivos maiores e de algumas drogas com o comportamento suicida. Os riscos de suicídio são semelhantes em homens e mulheres hospitalizados, estando associados com transtornos bipolares, tanto do tipo II

quanto do tipo I (principalmente misto), assim como unipolares com o abuso de drogas. As diferenças nos riscos para abuso de drogas e comportamento suicida sugerem que o abuso de drogas e o transtorno de humor podem contribuir para o risco de suicídio com independência parcial, sendo fatores a serem estudados de modo isolado para avaliar a real participação de cada um (Tondo et al.,2001).

Por outro lado, alguns estudos não encontraram associação entre abuso de álcool e tentativas de suicídio (Valtonen et al. 2006; Galfalvy et al. 2006; Grunembaum et al., 2006).

Dessa forma o uso de álcool e drogas pode interagir com inúmeros fatores de risco associados às tentativas de suicídio entre os quais citamos piora dos sintomas depressivos, insônia, sentimentos de desesperança, estados mistos, altos níveis de impulsividade e agressão os quais podem favorecer o comportamento suicida.

A coexistência de mais de uma doença em pacientes no eixo I ou com doença simultânea nos Eixos I e II pelos critérios do Diagnostic and Statistical of Mental Disorders (DSM-IV, APA, 1994) é extremamente freqüente nos pacientes que cometeram uma tentativa de suicídio. O número de diagnósticos comórbidos aumenta substancialmente o risco para comportamento suicida (Mann, 1998).

As doenças orgânicas, em consonância com o modelo proposto por Mann (1998), aumentam o risco de atos suicidas e do suicídio, principalmente aquelas doenças que afetam o sistema nervoso central como a AIDS, epilepsia, doença de Huntington, traumatismo crânio-encefálico, insuficiência

renal crônica e acidentes vasculares cerebrais conferem um maior risco de suicídio que outras doenças (Mann et al., 1999a; Sher et al., 2001).

6.4. Agressividade e impulsividade no comportamento suicida

Traços de personalidade como fatores de vulnerabilidade ao comportamento suicida têm sido descritos desde a década de 50. A impulsividade, agressividade e hostilidade são fatores de risco para o comportamento suicida nos diferentes transtornos psiquiátricos (Mann et al., 1999a). Indivíduos com depressão maior e transtornos de personalidade com comportamento suicida, tem também uma relevante história de agressão e impulsividade (Mann et al., 1999b).

Em um estudo que comparou pacientes deprimidos americanos e espanhóis que tentaram o suicídio mostrou que os americanos fizeram tentativas de suicídio de alta letalidade e tinham história de comportamento agressivo maior que o grupo de pacientes espanhóis sugerindo que a maior letalidade das tentativas estava associada ao maior nível de agressão (Baca-Garcia et al. 2006).

A impulsividade parece ter um papel distinto em pacientes bipolares visto que esta manifestação parece ser intrínseca a este transtorno, podendo mitigar o uso desta variável como marcador para o risco de suicídio. Mas em pacientes com outras doenças psiquiátricas, como depressão maior, as tentativas de suicídio estão relacionadas à impulsividade (Oquendo et al. 2004).

Há estudos que avaliaram a desesperança, como fator preditivo de risco para o comportamento suicida. Alguns mostraram que a desesperança é um dos fatores de risco independentes para a tentativa de suicídio (Valtonen et al.

2006; Galfalvy et al. 2006). Outros a consideraram como fator de risco apenas nos casos de comportamento suicida associado ao abuso de álcool e drogas (Young et al., 1994). Oquendo e colaboradores (2004) sugerem que a desesperança poderia estar associada ao pessimismo, depressão subjetiva, razões para viver e ideação suicida podendo ser um fator preditivo para futuras tentativas de suicídio.

A maioria dos estudos tem focado na investigação do risco nas tentativas de suicídio. Brezo e colaboradores (2006) destacam que traços como desesperança, neuroticismo e extroversão têm mostrado uma associação positiva com comportamento suicida envolvendo as três dimensões (ideação, tentativa e suicídio completo) embora traços de personalidade como agressão, impulsividade, raiva, irritabilidade, hostilidade e ansiedade devam ser também investigados como possíveis marcadores de risco de suicídio.

Os traços de personalidade podem ser uma ferramenta útil a ser utilizada na medida do risco de suicídio embora devamos estar atentos à qualificação e a quantificação da contribuição destes fatores nos diferentes desfechos possíveis do comportamento suicida (ideação, tentativa ou suicídio completo) devido às possíveis diversidades conceituais e metodológicas. Brezo e colaboradores (2006) consideraram que a falta de estudos prospectivos e a inadequada avaliação de possíveis confundidores (variações genéticas e ambientais em diferentes gêneros, idades e grupos etnoculturais) devam ser levados em conta na avaliação de traços de personalidade como marcadores de risco de suicídio.

6.5. Abuso físico e sexual no comportamento suicida

O abuso na infância tem sido associado a altas taxas de comportamento suicida na fase adulta (Mann et al., 1999b). Oquendo e colaboradores (2004) comparando um grupo de tentadores e não-tentadores de suicídio com episódios de depressão maior observaram que uma maior frequência de abuso na infância no grupo de tentadores.

As taxas de abuso físico e sexual de crianças são maiores em famílias onde há história de comportamento suicida. Além disso, a história de abuso sexual, tanto nos pais como na prole destas famílias, pode ser um fator preditivo de comportamento suicida nos filhos (Brent et al., 2002).

Mann (1998) inclui as experiências traumáticas precoces como um fator intrínseco que compõe a diátese para o comportamento suicida. Estudos recentes em humanos referem que o abuso na infância altera a resposta ao estresse do eixo hipotálamo - hipofisário - adrenal (HPA) aumentando o risco de suicídio em vítimas de abuso na infância (McGowan et al., 2009).

6.6. Neurotransmissores e comportamento suicida

Através dos estudos dos transtornos afetivos, caracterizados por mania e/ou depressão, foram criadas hipóteses envolvendo princípios farmacológicos de diversas vias neuronais envolvendo neurotransmissores monoaminérgicos como a dopamina, noradrenalina e serotonina. Os neurotransmissores monoaminérgicos são sintetizados por enzimas, que os formam no corpo celular ou no terminal do neurônio. O conhecimento das vias monoaminérgicas permitiu a compreensão da fisiopatologia dos transtornos afetivos bem como dos mecanismos de ação dos antidepressivos.

Diversos estudos têm evidenciado que as proteínas e receptores envolvidos na via serotoninérgica desempenham um papel importante no comportamento suicida (Mann, 1998; Stahl, 2002). Sabe-se também que há uma interconexão entre as diversas vias neurotransmissoras. Na regulação da via serotoninérgica há o envolvimento de um receptor noradrenérgico que também regula a liberação da serotonina na fenda sináptica. Estes sistemas estão, em parte, sob um controle genético, uma vez que há uma relação entre variantes genéticas relacionadas à impulsividade, alterações psicomotoras, agressividade e anormalidades biológicas que envolvem genes e seus produtos. Fatores genéticos relacionados à síntese de neurotransmissores e receptores os quais são transmitidos independentemente, explicam em parte os riscos para depressão maior e para o suicídio. De acordo com o histórico familiar pode haver uma maior suscetibilidade ou predisposição genética deste indivíduo para ter a doença, mas fatores protetores ambientais também podem interferir na sua manifestação, diminuindo o risco dela ocorrer.

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

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

Genes candidatos como o gene da enzima triptofano hidroxilase, dos receptores da serotonina a 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{1B}, do heteroreceptor alfa adrenérgico e o gene transportador de serotonina (5-HTT) estariam relacionados às anormalidades serotoninérgicas observadas em pessoas com história de depressão maior e nos indivíduos com condutas suicidas sérias e naqueles que cometeram suicídio (Malone et al., 1995; Mann, 1998). Entre as alterações genéticas relacionadas às doenças psiquiátricas estão alguns polimorfismos. Entende-se por polimorfismo um segmento de DNA que têm mais de uma forma (ou alelo) sendo que a forma menos freqüente ocorreria em pelo menos 1% da população. Seria uma parte natural de uma variação genética e um gene polimórfico pode ou não estar relacionado a uma função alterada, ou seja, causar ou predispor para uma doença.

Um fator neurobiológico importante, ao se considerar o limiar de um indivíduo para agir sob impulsos suicidas, é a função serotoninérgica cerebral. Desde a década de setenta, inúmeros estudos bioquímicos têm mostrado uma associação entre a baixa atividade serotoninérgica e a agressividade, impulsividade e comportamento suicida. (Asberg et al. 1976). Há evidências de que o sistema serotoninérgico está em parte sob controle genético (Mann 1998; Van Heeringen, 2003). Assim, o risco de um comportamento suicida, os

atos agressivos, o alcoolismo e o abuso de substâncias teriam uma predisposição genética mediada por este sistema neurotransmissor (Mann, 1998; Mann et al. 1999a, 1999b, 2001). É importante notar que quanto mais baixa a serotonina cerebral, mais grave é a tentativa de suicídio, havendo, portanto, correlação direta com a letalidade (Mann et al., 1999b; Sher et al., 2001). Outro fato importante é que existe relação entre os baixos níveis cerebrais de serotonina e a agressividade, não se esquecendo que o suicídio pode ser entendido como uma auto-agressividade. De modo interessante, o sexo feminino tem um nível médio mais elevado de serotonina cerebral que o sexo masculino, e menor incidência de suicídio. (Mann et al., 1999a).

6.6.1. Polimorfismos genéticos associados ao comportamento suicida

O gene transportador da serotonina (5-HTTLPR) é um dos genes candidatos mais estudados no comportamento suicida. Localizado no cromossomo 17q11.1-12 (Lesch, 1994), o 5-HTTLPR codifica uma proteína de membrana integral que tem um papel na recaptação deste neurotransmissor na fenda sináptica (Mann, 1998). Existem dois polimorfismos neste gene que têm sido pesquisados: um VNTR que corresponde a um número variável de repetições em *tandem* no intron 2 (Lesch et al., 1994) e o polimorfismo de tamanho de repetição (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*) que corresponde a uma inserção/deleção de 44 pb na região promotora deste gene (5-HTTLPR), que origina 2 alelos (l- *long* e s-*short*). O alelo “l”, constituído de 528 pares de base, vem sendo relacionado a uma transcrição de duas a três vezes mais eficiente do gene transportador da serotonina quando comparado ao alelo “s” de 484

pares de base (Heils et al., 1996). Isso significa que o alelo “s” seria menos ativo resultando numa captação em níveis menores da serotonina na fenda sináptica. Diversos estudos têm mostrado resultados evidenciando a associação entre o polimorfismo na região promotora e o comportamento suicida (Arango et al., 2003). Em duas meta-análises, os estudos revelaram que há um maior risco de comportamento suicida nos pacientes deprimidos portadores do genótipo SS e LS evidenciando uma associação positiva entre o alelo curto com o suicídio. (Lin and Tsai, 2004; Anguelova et al. 2003). Estes dados foram confirmados em um estudo brasileiro analisando a forma bialélica (“l” e “s”) deste polimorfismo em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio (Segal et. al. 2006).

Embora Nakamura e colaboradores (2000) tenham descrito uma nova variante alélica dentro do polimorfismo 5-HTTLPR, a esmagadora maioria dos trabalhos envolvendo este polimorfismo analisou os desfechos considerando apenas a forma bialélica. A análise de um polimorfismo de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphism ou SNP) que gera um funcionamento multialélico na região reguladora do gene (5-HTTLPR). A análise funcional deste SNP demonstrou a existência de uma nova variante A no alelo L (L_A) que produz níveis mais elevados de mRNA e a variante G (L_G) deste alelo é equivalente ao funcionamento do alelo S. O mesmo SNP pode ser usado para subdividir o alelo S em S_A e S_G .

Esta variação (SNP) foi muito pouco estudada associada aos transtornos mentais e no comportamento suicida havendo poucos estudos a respeito (De Luca et al., 2005; Zalsman et al., 2006).

Os estudos genéticos moleculares registraram também polimorfismos no gene da enzima triptofano – hidroxilase (TPH), que está envolvido na síntese da serotonina. Muitos estudos têm investigado a associação entre esse polimorfismo e atos suicidas com resultados, ainda controversos, mas a sua suposta participação nestes atos estaria relacionada a um aumento da impulsividade e do comportamento agressivo-impulsivo (Roy et al. 1999).

Estudos recentes revelaram a existência de um segundo gene da triptofano hidroxilase (TPH2) o qual está altamente expresso no cérebro e que pode ser responsável pela síntese de serotonina no sistema nervoso central (Hariri and Weinberger, 2003). Alterações neste gene estariam mais relacionadas ao comportamento suicida do que alterações no gene TPH devido a sua expressão preferencial no SNC.

As monoaminas são catabolizadas pelas enzimas monoamino oxidase A (MAO A) e catecol – orto - metil - transferase (COMT) e já há alguns estudos relacionando alterações polimórficas destes genes com comportamento agressivo. A enzima da monoamino oxidase A participa da via serotoninérgica também destruindo a serotonina convertendo-a num metabólito inativo. Algumas pesquisas têm estudado também alterações na via noradrenérgica que possam estar associadas ao comportamento suicida. A baixa atividade da MAO-A resulta em elevados níveis de serotonina, noradrenalina e dopamina no cérebro, manifestando como desordens de humor e comportamento agressivo. A agressividade e impulsividade podem ser um fator de predisposição ao suicídio, o qual foi associado com uma diminuição da atividade serotoninérgica (Mann, 2001). A enzima catecol-orto-metil-transferase é a maior enzima catabólica dos neurotransmissores

catecolaminérgicos no cérebro. Poucos estudos genéticos têm mostrado uma associação positiva com tentativa de suicídio havendo um relato (Ono et al., 2004) de associação entre um polimorfismo funcional do gene da COMT em homens que cometeram suicídio, entretanto ainda não há estudos conclusivos entre o gene da MAO A e o comportamento suicida.

Sequeira e colaboradores (2004) sugerem que a variante do gene do receptor α 2A adrenérgico pode ter um papel de pequenas proporções em casos de suicídio.

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

6.7. Interação Gene-Ambiente

O fenômeno da interação gene - ambiente vem sendo intensamente estudado nos últimos anos. O modelo etiológico do comportamento suicida proposto por Mann (1998) segue esse fundamento onde os efeitos da exposição aos fatores de risco ambiental podem contribuir para a manifestação deste comportamento em indivíduos com uma determinada constituição genética. Dentre os transtornos psiquiátricos que vem sendo estudados sob esta perspectiva encontram-se a depressão, os transtornos de conduta e o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. Destacam-se os trabalhos desenvolvidos por Caspi e colaboradores (2003, 2006) os quais conduziram uma série de estudos pioneiros baseados numa coorte neozelandesa onde primariamente analisaram o polimorfismo bialélico do 5-HTTLPR e sua ação associada a eventos estressores que contribuía no

desenvolvimento de quadros depressivos. A seguir os autores propuseram um modelo metodológico para a compreensão da interação entre fatores de risco genéticos e ambientais no desenvolvimento de doenças mentais. Para tal há a necessidade do desenvolvimento de uma metodologia que avalie três pontos (gene, patógenos ambientais e o fenótipo comportamental) seguindo sete passos estratégicos (Moffit et al., 2005). Até o momento, por envolver grandes amostras e metodologia complexa, os estudos avaliando interação gene - ambiente foram feitos em países desenvolvidos e nenhum relacionado ao comportamento suicida.

6.8. Interação gene-gene

Em relação ao comportamento suicida há um estudo feito por De Luca e colaboradores (2005) onde foram avaliados indivíduos com transtorno afetivo bipolar que tentaram o suicídio analisando uma possível interação entre polimorfismos do gene da MAO A e da COMT (efeito epistático) embora não tenha sido encontrada nenhuma associação entre os polimorfismos e o desfecho na amostra estudada. Outro estudo envolvendo os polimorfismos da forma bialélica do gene 5-HTTLPR e do gene da Triptofano Hidroxilase (A218C) também não encontrou qualquer associação em vítimas de suicídio (Mergen et al., 2006).

7. Justificativa do Estudo

Levando em consideração que, a maioria dos estudos envolvendo o polimorfismo 5-HTTLPR foi realizada avaliando o sistema bialélico, e que, um estudo anterior do nosso grupo encontrou associação positiva com uma amostra menor que a atual, decidimos analisar este polimorfismo na sua forma trialélica.

As análises de polimorfismos como da Triptofano Hidroxilase, MAO e COMT foram motivadas pelos resultados conflitantes na literatura em relação ao comportamento suicida.

8. Hipótese de Pesquisa

Considerando que pacientes deprimidos tentam o suicídio freqüentemente, e que alterações nos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico estão presentes nestes pacientes, as seguintes hipóteses foram testadas:

8.1. Os genes da HTTLPR (trialélico), TPH2, MAOA e COMT estão associados ao comportamento suicida.

8.2. Polimorfismos nestes genes podem conferir uma vulnerabilidade biológica a estes indivíduos que tentam o suicídio.

9. Objetivos

9.1. Geral

Verificar a frequência dos polimorfismos HTTLPR (trialélico), TPH2, MAOA e COMT em pacientes que tentaram suicídio comparado com um grupo controle.

9.2. Específicos

Calcular a frequência dos diferentes alelos presentes em cada gene nos pacientes e no grupo controle.

Verificar se há associação entre a frequência dos polimorfismos descritos e o diagnóstico psiquiátrico de depressão nos pacientes que tentaram o suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência dos polimorfismos descritos e o diagnóstico psiquiátrico de abuso de álcool e drogas nos pacientes que tentaram o suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência dos polimorfismos descritos e o número de tentativas de suicídio.

Verificar se há associação entre a frequência dos polimorfismos descritos e o tipo de tentativas de suicídio (método violento ou não).

10. Considerações Éticas

Os pacientes que receberam atendimento global (clínico, cirúrgico, psicológico e psiquiátrico) no Hospital de Pronto Socorro após uma tentativa de suicídio foram convidados a participar do estudo, informados dos objetivos, riscos e benefícios do mesmo para o paciente, sua família e população de afetados. Os casos selecionados foram expostos a um risco mínimo, considerando o procedimento pouco invasivo necessário para sua realização. Todos os pacientes preencheram termo de consentimento informado, onde constava a possibilidade de utilização do material em outros projetos de pesquisa para estudo de outros genes candidatos. Foi oferecido para os indivíduos pesquisados e seus familiares um atendimento para esclarecimento de eventuais dúvidas quanto ao resultado e significado deste exame e dos possíveis impactos ou riscos que estejam envolvidos para os pacientes e suas famílias. Participaram do estudo somente aqueles pacientes que tiveram condições de entender e consentir os procedimentos a serem realizados. Esse estudo faz parte de uma linha de pesquisa mais abrangente da qual já se encontram em andamento projetos previamente aprovados pela Comissão Científica e Comissão de Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob n^{os} 02097, 03445, 05055 os referidos projetos também obtiveram aprovação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e pela Assessoria Científica do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre e todos os pacientes assinaram o termo de Consentimento Informado para a sua execução (Apêndice 1).

11. Referências Bibliográficas

Allen MH, Chessick CA, Miklowitz DJ, Goldberg JF, Wisniewski SR, Miyahara S, Calabrese JR, Marangell L, Bauer MS, Thomas MR, Bowden CL, Sachs GS. Contributors to Suicidal Ideation among bipolar patients with and without a history of suicide attempts. **Suicide Life Threat Behavior**, 35(6): 671-680, 2005.

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

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

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

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

Baca-Garcia E, Oquendo MA, Saiz-Ruiz J, Mann JJ, de Leon J. A pilot study on differences in aggression in New York City and Madrid, Spain and their possible impact on suicidal behavior. **Journal of Clinical Psychiatry** 67(3):375-380, 2006.

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

Botega N.J. Suicídio e Tentativa de Suicídio. In: Beny Lafer, Osvaldo P. Almeida, Renério Fráguas Jr., Eurípedes C. Miguel (Org.) **Depressão no Ciclo Vital**, pág 157-165 Porto Alegre: ArtMed, 2000 .

Bottlender R., Jaeger M., Strauss A., Möller HJ. Suicidality in bipolar compared to unipolar depressed inpatients. **European Archives of Psychiatry - Clinical Neuroscience**, 250:257-261, 2000.

Brent DA, Oquendo M, Birmaher B, Greenhill L, Kolko D, Stanley B, Zelazny J, Brodsky B, Bridge J, Ellis S, Salazar JO, Mann JJ. Familial pathways to early-onset suicide attempt: risk for suicidal behavior in offspring of mood-disordered suicide attempters. **Archives of General Psychiatry** 59(9):801-7, 2002.

Brezo J., Paris J., Turecki G. Personality traits as correlates of suicidal ideation, suicide attempts, and suicide completions: a systematic review. **Acta Psychiatrica Scandinava** 113:180-206, 2006.

Carter TD, Mundo E, Parikh SV, Kennedy JL. Early age at onset as a risk factor for poor outcome of bipolar disorder. **Journal of Psychiatric Research** 37: 297-303, 2003.

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

Caspi A., Moffitt T.E. Gene–environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. **Nature Review - Neuroscience** 7, 583–590, 2005.

De Luca V., Tharmalingam S., King N., Straus J., Bulgin N., Kennedy J.L., Association study of the serotonin transporter gene in bipolar disorder and suicidal behavior, **Psychopharmacology** 1-4, 2006.

Frank E, Cyranowski JM, Rucci P, Shear MK, Fagiolini A, Thase ME, Cassano GB, Grochocinski VJ, Kostelnik B, Kupfer DJ. Clinical Significance of lifetime panic spectrum symptoms in the treatment of patients with bipolar I disorder. **Archives of General Psychiatry** 59: 905-911, 2002.

Galfalvy H, Oquendo MA, Carballo JJ, Sher L, Grunebaum MF, Burke A, Mann JJ. Clinical Predictors of suicidal acts after a major depression in bipolar disorder: a prospective study. **Bipolar Disorders** Oct 8(5 Pt 2):586-595, 2006.

Grunebaum MF, Ramsay SR, Galfalvy HC, Ellis SP, Burke AK, Sher L, Printz DJ, Kahn DA, Mann JJ, Oquendo MA. Correlates of suicide attempt history in bipolar disorder: a stress-diathesis perspective. **Bipolar Disorder** Oct 8(5 Pt 2):551-557, 2006.

Hariri A.R. and Weinberger D.R. Functional neuroimaging of genetic variation in serotonergic neurotransmission. **Genes, Brain and Behavior** 2, 341-349, 2003.

Harris C, Barraclough B. Suicide as an outcome for mental disorders. **British Journal of Psychiatry** 170:205–228, 1997.

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

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

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

Lin P.-Y and Tsai G. Association between serotonin transporter gene promoter polymorphism and suicide: result of a meta-analysis. **Biological Psychiatry** 55, 1023-1030, 2004.

McGowan P.O., Sasaki A., D'Alessio A.C., Dymov, Labonté B., Szyf M., Turecki G., Meaney M.J. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. **Nature Neuroscience** 12 (3): 342-348, 2009.

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

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

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

Mann J.J., Waternaux C., Haas G.L., Malone K.M. Toward a clinical model of suicidal behavior in psychiatric patients. **American Journal of Psychiatry** 156,181–189, 1999b.

Mann J.J., Brent D.A., Arango V. The Neurobiology and genetics of suicide and attempted suicide: A focus on the serotonergic system. **Neuropsychopharmacology** 24, 467-477, 2001.

Melhem NM, Brent DA, Ziegler M, Iyengar S, Kolko D, Oquendo M, Birmaher B, Burke A, Zelazny J, Stanley B, Mann JJ. Familial pathways to early-onset suicidal behavior: familial and individual antecedents of suicidal behavior. **American Journal of Psychiatry** 164(9):1364-70, 2007.

Mergen H., Demirel B., Akar T., Senol, E. Lack of association between the serotonin transporter and tryptophan hidoxilase gene polymorphisms and completed suicide. **Psychiatric Genetics** 16:53, 2006.

Moffitt TE, Caspi A, Rutter M. Strategy for investigating interactions between measured genes and measured environments. **Archives of General Psychiatry** May;62(5):473-81, 2005.

Munafo M.R. Clark T.G., Flint J. Assessing publication bias in genetic association studies: evidence from a recent meta-analysis. **Psychiatry Research** 129: 39-44, 2004.

Nakamura M., Ueno S., Sano A., Tanabe H. The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants . **Molecular Psychiatry** 5, 32-38, 2000.

Ono H., Shirakawa O., Nushida H., Ueno y. and Maeda K. Association between Catechol-O-Methyltransferase Functional Polymorphism and Male Suicide Completers. **Neuropsychopharmacology** 29, 1374-1377, 2004.

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

Oquendo MA, Galfalvy H, Russo S, Ellis SP, Grunebaum MF, Burke A, Mann JJ. Prospective study of clinical predictors of suicidal acts after a major depressive episode in patients with major depressive disorder or bipolar disorder. **American Journal of Psychiatry** 161(8): 1433-1441, 2004.

Oquendo M.A., Bongiovini-Garcia M.E., Galfalvy H., Goldberg P.H., Grunebaum M.F., Burke A.K., Mann J.J. Sex Differences in Clinical Predictors of Suicidal Acts After Major depression: A Prospective Study. **American Journal of Psychiatry** 164: 134-141, 2007.

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

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

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

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

Segal J, Pujol C, Birck A, Manfro G, Leistner-Segal S. Association between suicide attempts in south Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism. **Psychiatry Research** 143(2-3):289-91, 2006.

Sequeira, A; Mamdani, F; Lalovic, A; Anguelova, M; Lesage, A; Seguin, M; Chawky, N; Desautels, A; Turecki, G. Alpha 2A adrenergic receptor gene and suicide. **Psychiatry Research** 125, 87-93, 2004.

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

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

SIM (Sistema de Informação de Mortalidade) - **Estatísticas de Saúde: mortalidade 2007**. Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul. Vol. 32, 200p. Porto Alegre, 2008.

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

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

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

Valtonen HM, Suominen K, Mantere O, Leppämäki S, Arvilommi P, Isometsä ET. Prospective study of risk factors for attempted suicide among patients with bipolar disorder. **Bipolar Disorders** Oct 8(5 Pt 2):576-585, 2006.

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

Wasserman D. **Suicide: An Unnecessary Death**. London: Martin Dunitz, 2001

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

Werlang B.G, Botega N.J. **Comportamento Suicida**. Porto Alegre: ArtMed, 2004.

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

Young MA, Fogg LF, Scheftner WA, Fawcett JA. Interactions of risk factors in predicting suicide. **American Journal of Psychiatry**, 151:434-435, 1994.

Zalsman G., Huang Y-Y., Oquendo M.A., Burke A.K., Hu X-z., Brent D.A., Ellis S.P., Goldman D., Mann J.J. Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression. **American Journal of Psychiatry** 163, 1588-1593, 2006.

12. Artigos

12.1 Artigo 1

Novel allelic variants in the human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) among depressed patients with suicide attempt.

Publicado no periódico Neuroscience Letters 451 (2009) 79–82

12.2 Artigo 2

No Association between COMT Val158Met Polymorphism and suicide attempts in Caucasian depressed patients.

Submetido para publicação no periódico Psychiatric Genetics



Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

Novel allelic variants in the human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) among depressed patients with suicide attempt

Jair Segal^{a,b}, Laila Cigana Schenkel^c, Marcela Herbstrith de Oliveira^c, Giovanni Abrahão Salum^d, Claiton Henrique Dotto Bau^e, Gisele Gus Manfro^{a,d}, Sandra Leistner-Segal^{c,*}

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Post-Graduate Program in Medical Sciences: Psychiatry, Brazil

^b Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre, Brazil

^c Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Medical Genetics Service, Rua Ramiro Barcelos, 2350, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil

^d Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Anxiety Disorder Program, Brazil

^e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Genetics and Molecular Biology Department, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 September 2008

Received in revised form 7 November 2008

Accepted 6 December 2008

Keywords:

Depression

Genetics

Serotonin transporter linked promoter region

Suicidal behavior

Suicidality

Triallelic functional polymorphism

ABSTRACT

A polymorphism in the serotonin transporter gene (5-HTTLPR) is being extensively studied for association with suicidal behavior. A new allelic variant within the 5-HTTLPR polymorphism was described but it has not been thoroughly analyzed in the recent literature. The SNP functional analysis demonstrated that the A variant of the L allele (L_A) produces high levels of mRNA and that the G variant (L_G) is equivalent to the S allele. Our aims were to compare the frequency of 5-HTTLPR alleles in 94 depressed patients who attempted suicide compared to 94 controls free of psychiatric disorder, including the embedded SNP rs25531. Using the biallelic classification, our sample contained 62 (33%) LL, 76 (40.4%) LS, and 50 (26.6%) SS individuals. Using the functional classification system, our sample contained 43 (22.5%) LL, 84 (44.7%) LS, and 61 (32.4%) S'S' individuals, with no significant differences between cases and controls in genotypic tests in either biallelic ($\chi^2 = 2.543$; $df = 2$; $p = 0.280$) and functional models ($\chi^2 = 2.995$; $df = 2$; $p = 0.228$). The minor allele frequency (MAF) – the S allele – did not show any distributional difference between cases and controls using biallelic classification system 0.51 vs. 0.43, (OR = 1.41; CI95% 0.94 to 2.12; $p = 0.121$). Also the S' allele of the functional classification system did not show any distributional difference between the two groups 0.59 vs. 0.51 (OR = 1.35; CI95% 0.90 to 2.03; $p = 0.178$). This study provided the possibility of a re-analysis of novel 5-HTTLPR functional variants identified within L allele that alters its mRNA production and thus changes its functionality. We could not find any association between both biallelic and functional 5-HTTLPR in depressed patients with suicide attempt, being the small sample size an important limitation for these results. In conclusion, we can suggest that despite the several studies in this issue, the exact effect and role of 5-HTTLPR in genetics of suicide is still unclear and should be better investigated for future studies.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Suicide has become a serious public health problem and is among the most frequent causes of death worldwide. According to the World Health Organization [21] the annual incidence of suicide is estimated in 16 deaths to each 100,000 individuals in the general population. Suicide rates in Brazil are below the average described in international literature, nevertheless, in the southern region these rates are more than two times higher than the ones described to the country (9.88 suicides/100,000 inhabitants per year). [15]. Additionally, it is estimated that the frequency of suicide attempts is 10–40 times higher than the number of completed suicides [5] and there is a strong association between this suicide behavior and psy-

chiatric disorders including affective disorders as Major Depression [13,1].

Since the publications by Asberg et al. [3] in the seventies, several biochemical studies have demonstrated an association among the low serotonergic activity and aggressiveness, impulsivity, and suicide behavior. There are evidences that the serotonergic system is in part under genetic control [13], thus the risk of suicide and aggressive behavior, alcoholism and substance abuse could have a genetic predisposition mediated by this neurotransmitter system [13]. The serotonin transporter gene (5-HTT) codes for an integral membrane protein which has a role in the reuptake of this neurotransmitter in the synaptic cleft. A 44 base pairs insertion/deletion polymorphism in the promoter region of this gene (5-HTTLPR), originates two alleles (l – long and s – short). The "L" allele has been associated with a two- to three-fold more efficient transcription of

* Corresponding author. Tel.: +55 51 21018011; fax: +55 51 21018010.
E-mail address: ssegal@hcpa.ufrgs.br (S. Leistner-Segal).

the gene, compared to the "S" allele, which would be less active resulting in a reduced serotonin uptake [7,8].

In the last 10 years more than 300 publications have extensively analyzed the possible association of this polymorphism in several psychiatry disorders. Despite the many discrepant results there is still an ongoing interest on genetic variants of 5-HTT as possible indicator for suicidality. Three systematic reviews with meta-analyses were carried out in order to figure out the importance of the 5-HTTLPR in suicidal behavior. Anguelova et al. [2] found evidence for a significant association of the S allele with suicidal behavior. Lin and Tsai [11] have performed three joint analyses, in a single study, comparing the 5-HTTLPR between suicidal subjects and controls, between suicide attempters and non-attempters of the same psychiatric diagnoses and finally between violent or non-violent suicidal subjects compared to normal controls. They found that individuals with at least one S allele were more frequent among suicide attempters and violent suicidal subjects. Furthermore a more recent meta-analysis, [10] found a significant association between 5-HTTLPR polymorphism and suicidal behavior and supports the involvement of the brain 5-HTT in the pathogenesis of suicidal behavior.

Although studies analyzed a biallelic polymorphism, [24] described new allelic variants within the 5-HTTLPR polymorphism which generate a multiallelic functioning in the upstream regulatory region of the gene, different to what was previously described. The SNP functional analysis demonstrated that the A variant of the L allele (L_A) produces high levels of mRNA and that the G variant (L_G) is equivalent to the S allele. The same SNP can be used to subdivide the S allele in S_A and S_G .

Based on these observations, our aims were to compare the frequency of 5-HTTLPR alleles in depressed patients who attempted suicide compared to a control group free of psychiatric disorder, accounting for the new allelic variants resultant from the A/G SNP (rs25531) that alters mRNA production.

This is a case-control candidate gene study. Subjects were cautiously paired (1:1) for sex and age (maximum acceptable difference of 5 years). Cases were patients with major depressive disorder (MDD) who sought medical care and were admitted to Emergency Hospital of Porto Alegre (Hospital de Pronto Socorro – HPS) due to serious suicide attempt and were interviewed face to face by a senior psychiatrist. The control group was a convenience sample comprising employees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) who did not meet criteria for Axis I psychiatric disorders recruited between June 2006 and April 2007. The inclusion criteria were as follows: (1) MDD with serious suicide attempt for cases and absence of psychiatric disorder for controls; (2) at least 18 years old; (3) European-Brazilian ethnicity; to avoid possible interferences of ethnic differences in our results we included European-Brazilian cases and controls using skin color and morphological characteristics as predictors of Caucasian ethnicity [23]. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Blood was collected from both patients and control groups for DNA extraction after informed consent and Institutional review board approval was obtained from the ethics committee of HCPA (numbers 04-272 and 05-613).

Cases and controls were evaluated by a psychiatric interview and the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) – Brazilian version [18]. A semi-structured interview was used to access sociodemographic data and clinical history and the Beck's Suicidal Intention Scale (SIS), including 15 items, each scored 0–2 [4] was applied by the psychiatrist during the patients' interviews.

Genomic DNA was extracted from 5 ml of peripheral blood, according to the salt precipitation method [14]. Blood from patients and controls were collected and kept in the refrigerator until DNA extraction. Agarose gel electrophoresis and measurement of concentration by spectrophotometer were used for DNA quality

control. All samples were adequate for analysis as evaluated by the PCR and digestion results.

The promoter region of the 5-HTT gene containing the biallelic polymorphism was amplified using the primers described by [7]. The amplified product was digested with *MspI* restriction enzyme (New England Biolabs) which allows for the detection of the A/G (rs25531) SNP present either in the S or L allele identifying the multiallelic polymorphism (L_A , L_G , S_A and S_G variants). The digestion products were visualized by 3% agarose gel electrophoresis stained with ethidium bromide under UV light. In order to evaluate genotyping accuracy, all samples were double-checked, and no conflicting results were found in a sample of 94 patients, with 100% of concordance.

Scores are presented as mean and standard deviation (SD), count and percentage (%). Subjects were genotyped with the biallelic (S and L alleles) and the triallelic (S , L_G , and L_A alleles) classification of the same polymorphism. Kolmogorov-Smirnov test assessed normal distribution and Levene's test assessed homogeneity of variances.

Exploring data analysis was made as follows: (a) biallelic 5-HTTLPR (S/S, S/L and L/L); (b) a novel functional classification, accounting for the A/G SNP that alters the 5-HTTLPR mRNA production: S/S, S/ L_G and L_G / L_G were considered low expression genotypes (S'S'); S/ L_A and L_A / L_G were considered intermediate expression genotypes (L'S'); and L/ L_A was considered high expression genotypes (L'L'). Allelic and genotypic tests were performed, using Fisher exact test. The classic analysis of the carriers and non-carriers of the low expression allele (S', S or L_G) was also done. Additionally, we perform an exploratory analysis through stratified analysis using the following variables: presence/absence of comorbidities; use/non-use of alcohol during the suicide attempt and violent/non-violent suicide attempt. One-way ANOVAs were used to compare the SIS scores between the different groups of patients according to genotype in the two classifications.

Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium were conducted with the χ^2 test for goodness of fit. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 14.0 (SPSS for Windows 14.0, SPSS, Chicago, IL, USA) and Programs for Epidemiologists PEPI version 4.0 for DOS. The level of significance used was $\alpha=0.05$. Regarding allelic test of the primary analysis, an estimated power of 80% and a major allele frequency of .53 are able to detect odds ratio higher than 1.8.

Out of 146 patients recruited, 10 denied participating of the study, two met exclusion criteria, 34 did not meet inclusion criteria and six were excluded due to inadequate DNA for analysis, resulting in a studied sample of 94 patients. Out of 151 controls recruited, 30 denied participating in the study, 25 were excluded due to a psychiatric disorder and two were excluded due to inadequate DNA sample, resulting in 94 individuals. The most common reasons for refusing to participate among employees were the length of the scales and the lack of time to fill in the questionnaires adequately.

The final sample was composed by 188 individuals. Of those, 108 (57.4%) were women, with a mean age of 35.8 ± 10.4 with no differences between cases and controls (35.8 ± 10.4 vs. 35.9 ± 10.4 , respectively; $t = -0.044$, $p = 0.965$). Suicide attempts were classified as violent ($n = 48$; 51.1%) or non-violent (46; 48.9%). Injuries by burns ($n = 10$; 10.6%), poisoning by chemicals ($n = 10$; 10.6%), gunfire ($n = 7$; 7.4%), piercing objects ($n = 6$; 6.4%), fall from heights ($n = 5$; 5.3%), cutting ($n = 4$; 4.3%), hanging ($n = 3$; 3.2%), and car crashes ($n = 3$; 3.2%) were considered violent attempts, while non-violent attempts were due to drug intoxications ($n = 46$; 48.9%). Regarding comorbidity 23 (24.5%) met criteria for alcohol dependence, 10 (10.6%) for alcohol and drug dependence; and 1 (1.1%) for drug dependence only. Thirty-four patients (36.2%) have used alcohol during the suicide attempt. The majority of the cases ($n = 53$; 56.4%)

have an impulsive suicidal ideation, 33 (35.1%) a persistent suicidal ideation and 3 (8%) a manipulative suicidal ideation.

Using the biallelic classification, our sample contained 62 (33%) LL, 76 (40.4%) LS, and 50 (26.6%) SS individuals. Using the functional classification system, our sample contained 43 (22.5%) L'L, 84 (44.7%) L'S', and 61 (32.4%) S'S' individuals, with no significant differences between cases and controls in genotypic tests in either biallelic ($\chi^2 = 2.543$; $df = 2$; $p = 0.280$) and functional models ($\chi^2 = 2.995$; $df = 2$; $p = 0.228$). The minor allele frequency (MAF) – the S allele – did not show any distributional difference between cases and controls using biallelic classification system 0.51 vs. 0.43, (OR = 1.41; CI95% 0.94 to 2.12; $p = 0.121$). Also the S' allele of the functional classification system did not show any distributional difference between the two groups 0.59 vs. 0.51 (OR = 1.35; CI95% 0.90 to 2.03; $p = 0.178$).

There were no differences between SIS scores between genotypes in biallelic ($F = 0.012$; $df = 2$; $p = 0.988$) and triallelic ($F = 0.388$; $df = 2$; $p = 0.679$) forms. Additionally, tests with genotypes, dominant and recessive models as well as exploratory analysis stratifying for presence/absence of comorbidities; use/non-use of alcohol during the suicide attempt and violent/non-violent suicide attempt failed to find any significant association at a 0.05 level of significance (data not shown, available upon request). We did not perform any type of correction for multiple comparisons since there were no statistically significant findings.

This study provided the possibility of a re-analysis of novel 5-HTTLPR functional variants identified within L allele that alters its mRNA production and thus changes its functionality. We could not find any association between either biallelic and functional 5-HTTLPR and suicide attempt. Exploratory data analysis, regarding genotypes, dominant and recessive models as well as exploratory analysis of presence/absence of comorbidities, use/non-use of alcohol during the suicide attempt and violent/non-violent suicide attempt also failed to find any significant association.

Three meta-analyses [2,11,10] results have shown a positive genetic association between the short (s) form of the 5HTT allele and suicidal behavior using the biallelic model, regarding this, why our study were not able to observe this association? We can observe that the OR encountered in this systematic reviews are very small and therefore it is unlikely that a study with a small sample size would find a positive association regarding the lack of statistical power. However, it should be noted that none of the studies included on these meta-analysis have examined this question in light of the functional embedded A/G SNP. What changes a functional polymorphism could produce in the real effect of the 5-HTTLPR on suicide attempt?

De Luca et al. [6] demonstrated that the frequency of the G allele was too rare in Caucasians to produce a significant effect (<1%) in their huge sample of violent suicide attempters with bipolar disorder. On the other hand Zalsman et al. [22] found the allelic frequency of L_G to be 0.09–0.14 in Caucasians and 0.24 in African-Americans. Our results showed that among L alleles the frequency of L_G allele was substantial (0.15) and exactly 30 subjects were classified differently from the biallelic to the functional model regarding the functional SNP. Therefore, specially for a gene with a small expected effect, any subject allocated in a group that not consider the mRNA production (biallelic), could biased the joint result of a combined analysis. Considering this, we think future systematic reviews should better investigate, if any, the effect size of the association between this polymorphism and suicide in light of the novel functional variants. Additionally, we should discuss the clinical implications of these small effect sizes.

In addition to the substantial changes on the interpretation of the data, we should note that we also did not find any positive result with the biallelic model. Beyond lack of statistical power, the sample characteristics should also be taken into consideration in order

to explain our results that are not in accordance to the literature. Our sample is restricted to depressed patients diagnosed by DSM-IV criteria, to patients admitted to an emergency hospital due to serious suicide attempt, to Caucasian population and did not include suicide completers. So this homogeneous population might differ from samples included in meta-analysis that grouped several types of phenotypes within the same analysis. Considering this, the association between the 5-HTTLPR and suicide may be due to the other phenotypes included in the broader phenotype definition.

This study was the first to evaluate this novel allelic variant in the human serotonin transporter gene linked polymorphism in depressed suicide attempters and also the first one to investigate it in Brazilian population. In the southern region of Brazil, we have the highest mortality coefficient of all Brazilian regions and also the lowest rate of admixture due to the influences received by Portuguese, Italians, Germans and Spanish descendants. Additionally, we should note that suicide behavior is a very complex phenotype, ranging from completed suicide to attempted suicide and the experiencing of suicide ideation occurring in individuals with different psychiatric diagnosis. It is already known that intermediate phenotypes are more likely to be determined by the genome than structured diagnoses interview [19], therefore the possibility of epiphenomenon should also be considered in the study of genetics of suicide in depressive patients.

In conclusion we can suggest that despite the several studies performed in this issue, the exact effect and role of 5-HTTLPR in genetics of suicide is still unclear and should be better investigated for future studies. The small sample size could be an important limitation to this study. Larger studies are necessary, investigating the functional variants of this 44 pb insertion/deletion and with refinement in nosology in order to search for more heritable traits of depression and suicide.

Acknowledgments

This project was supported by FIPE-HCPA (grant number 05613). We thank CNPq and FAPERGS for research scholarships.

References

- [1] J. Angst, F. Angst, H.H. Stassen, Suicide risk in patients with Major Depressive Disorder, *Journal of Clinical Psychiatry* 60 (Suppl. 2) (1999) 57–62.
- [2] M. Anguelova, C. Benkelfat, G. Turecki, A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: II. Suicidal behavior, *Molecular Psychiatry* 8 (2003) 646–653.
- [3] M. Asberg, L. Traskman, P. Thoren, 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? *Archives of General Psychiatry* 33 (1976) 1193–1197.
- [4] A.T. Beck, D. Shuyler, I. Herman, Development of suicidal intent scales, in: A.T. Beck (Ed.), *The Prediction of Suicide*, Charles Press, Philadelphia, PA, 1974, pp. 45–56.
- [5] J.M. Bertolote, A. Fleischmann, Suicide Behavior Prevention: WHO Perspectives on Research, *American Journal of Medical Genetics* 133C (2005) 8–12.
- [6] V. De Luca, S. Tharmalingam, N. King, J. Straus, N. Bulgin, J.L. Kennedy, Association study of the serotonin transporter gene in bipolar disorder and suicidal behavior, *Psychopharmacology* (2005) 1–4.
- [7] A. Heils, A. Teufel, S. Petri, G. Stober, P. Riederer, D. Bengel, P. Lesch, Allelic Variation of Human Serotonin Transporter Gene Expression, *Journal of Neurochemistry* 66 (6) (1996) 2621–2624.
- [8] K.P. Lesch, U. Baling, J. Gross, K. Strauss, B.L. Wollosin, D.L. Murphy, P. Riederer, Organization of the human serotonin transporter gene, *Journal of Neural Transmission* 95 (1994) 157–162.
- [10] D. Li, L. He, Meta-analysis supports association between serotonin transporter (5-HTT) and suicidal behavior, *Molecular Psychiatry* (2006) 1–8.
- [11] P.-Y. Lin, G. Tsai, Association between serotonin transporter gene promoter polymorphism and suicide: result of a meta-analysis, *Biological Psychiatry* 55 (2004) 1023–1030.
- [13] J.J. Mann, The neurobiology of suicide, *Nature Medicine* 4 (1998) 25–30.
- [14] S.A. Miller, D.D. Dykes, H.S. Polesky, A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acid Research* 16 (7) (1988) 1215.
- [15] Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana de Saúde, Unicamp, *Prevenção do Suicídio – Manual dirigido a profissionais de saúde mental*, Brasil, 2006.
- [18] D.V. Sheehan, Y. Lecrubier, K.H. Sheehan, P. Amorim, J. Janavs, E. Weiller, T. Hergueta, R. Baker, G.C. Dunbar, Mini International Neuropsychiatric Interview

- (MINI): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10, *Journal of Clinical Psychiatry* 59 (Suppl. 20) (1998) 22–23.
- [19] J.W. Smoller, E. Gardner-Schuster, J. Covino, The genetic basis of panic and phobic anxiety disorders, *American Journal of Medical Genetics C Seminar Medical Genetics* 148 (2) (2008) 118–126.
- [21] World Health Organization www.who.int/entity/mental_health/prevention/suicide/en/suicideprev_gp_port.pdf Prevenção do Suicídio: Um manual para Médicos Clínicos Gerais, Departamento de Saúde Mental, Transtornos Mentais e Comportamentais, Genebra, 2000.
- [22] G. Zalsman, Y. Huang, M.A. Oquendo, A.K. Burke, X. Hu, D.A. Brent, S.P. Ellis, D. Goldman, J.J. Mann, Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression, *American Journal of Psychiatry* 163 (2006) 1588–1593.
- [23] V.M. Zembizski, S.M. Callegari-Jacques, M.H. Hutz, Application of an African Ancestry Index as a genomic control approach in a Brazilian population, *Annals of Human Genetics* 70 (2006) 822–828.
- [24] M. Nakamura, S. Ueno, A. Sano, H. Tanabe, The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants, *Molecular Psychiatry* 5 (2000) 32–38.

12.2 Artigo 2 - Submetido para publicação no periódico Psychiatric Genetics

No Association between COMT Val158Met Polymorphism and suicide attempts in Caucasian depressed patients.

Authors:

Jair Segal^{1,2}, Laila Cigana Schenkel³, Marcela Herbstrith de Oliveira³, Rafael Rebelo e Silva³, Giovanni Abrahão Salum⁴, Gisele Gus Manfro^{1,4}, Sandra Leistner-Segal^{3*}.

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Post-Graduate Program in Medical Sciences: Psychiatry, Brazil.

2. Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre (HPS), Brazil.

3. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Medical Genetics Service, Brazil.

4. Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Anxiety Disorder Program, Brazil.

*Correspondence to:

Sandra Leistner-Segal
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, *Medical Genetics Service*
Rua Ramiro Barcelos, 2350
CEP 90035-903
Porto Alegre - RS - Brazil
Tel.: +55 51 21018011; fax: +55 51 21018010.

E-mail address: ssegal@hcpa.ufrgs.br

Abstract

Suicidal behavior is partially determined by genetic factors, supporting a search for related genes. Several lines of evidence suggest that genes may predispose to suicide by modulating impulsive and impulsive-aggressive behaviors. One candidate gene in the study of suicidal behavior is the gene encoding the enzyme catechol-o-methyl-transferase (COMT) which is a major catabolic enzyme for catecholamine neurotransmitters in the brain. Catecholaminergic neurotransmission has been suggested to be involved in suicidal behavior, because bidirectional alterations of both dopamine and norepinephrine levels are evidenced to increase aggressive behavior. There are few genetic association studies with this polymorphism with either suicidal behavior or non-psychotic clinical populations. The aim of the present study was to investigate whether the COMT Val158Met polymorphism was associated with depressed patients with suicide attempts. The sample was composed by 88 European Brazilian Caucasian patients with a suicide attempt paired 1:1 by sex and age with healthy controls, The minor allele frequency (MAF) in the whole sample was $A=0.43$, with no significant deviation from Hardy Weinberg Equilibrium ($\chi^2=2.079$, $df=1$, $p=0.149$) in control sample. There were no differences for the MAF between cases and controls, 0.39 vs. 0.46 ($OR=0.76$; $CI_{95\%}$ 0.50 to 1.16 ; $\chi^2_{Yates}=1.406$, $df=1$, $p=0.236$) respectively. Also regarding the genotypic test there were no differences between frequency of genotypes in cases [$AA=21(23.9\%)$, $AG=27(30.7\%)$, $GG=40(45.5\%)$] and controls [$AA=22(25\%)$, $AG=37(42\%)$, $GG=29(33\%)$] ($\chi^2=3.339$, $df=2$, $p=0.188$). In conclusion, this is the first study investigating COMT Val158Met and suicide in European-Brazilian patients and we were not able to find any association. This association is controversial, observed only in some studies but not replicated in others. Therefore, larger studies are needed to better investigate this association.

Keywords: depression, genetics, catechol-o-methyl-transferase, suicidal behavior, suicidality, COMT functional polymorphism.

Abbreviations:

A allele: low activity allele of catechol-o-methyl-transferase Polymorphism

AA (Met/Met): Methionine homozygous genotype of COMT Polymorphism

AG (Val/Met): Valine-to-Methionine heterozygous genotype of COMT Polymorphism

COMT: enzyme catechol-o-methyl-transferase

COMT Val158Met: valine-to-methionine substitution at codon 158 COMT Polymorphism

CI: Confidence Interval

DNA: Deoxyribonucleic Acid

G allele: high activity allele of COMT Polymorphism

G>A polymorphism: valine-to-methionine (Val/Met) substitution at codon 158

GG (Val/Val): The Valine homozygous genotype of COMT Polymorphism

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HPS: Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre

MAF: minor allele frequency

Met: methionine allele of COMT Polymorphism

Met/ Met: methionine homozygous genotype of COMT Polymorphism

MDD: Major Depressive Disorder

MINI: Mini Intervention Neuropsychiatry Interview

OR: Odds Ratio

PCR: Polymerase Chain Reaction

SIS: Suicide Intent Scale

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

Val: valine allele of COMT Polymorphism

Val/Met: valine-to-methionine heterozygous genotype of COMT Polymorphism

Val/Val: The Valine homozygous genotype of COMT Polymorphism

WHO: World Health Organization

Introduction

Suicidal behavior represents one of the biggest public health concerns in the contemporary world (Marusic, 2006). Although the epidemiological data vary from country to country, suicide rates in Brazil are below average, estimated in 16 deaths to each 100.000 individuals in the general population according to the World Health Organization (WHO, 2000). Nevertheless, in the southern region of Brazil these rates are more than two times higher than the ones described to the country (9.88 suicides/100.000 inhabitants per year) (MS/SVS, 2006).

Several arguments suggest that suicidal behavior is a disorder on its own, although psychiatric disorders are major contributing factors and about 90% of suicide attempters have a psychiatric diagnosis according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder. The majority of all suicides occur associated to mood disorders and major depression is the most common psychiatric disturbance related to suicide. (Mann, 1998; Bondy et al., 2006).

Suicidal behavior is partially determined by genetic factors, supporting a search for related genes. Several lines of evidence suggest that genes may predispose to suicide by modulating impulsive and impulsive-aggressive behaviors (Turecki, 2001). One candidate gene in the study of suicidal behavior is the gene encoding the enzyme catechol-o-methyl-transferase (COMT) which is a major catabolic enzyme for catecholamine neurotransmitters in the brain. Catecholaminergic neurotransmission has been suggested to be involved in suicidal behavior, because bidirectional alterations of both dopamine and norepinephrine levels are evidenced to increase aggressive behavior. (Rujescu et al., 2003).

A common G>A polymorphism (rs165388) is present in exon 2 of the COMT gene located on chromosome 22q11.2. This mutation produces a valine-to-methionine (Val/Met) substitution at codon 158 (COMT Val158Met) which results in a trimodal distribution of COMT activity [AA (Met/Met), AG (Val/Met) and GG (Val/Val)] in human populations. The Methionine allele of COMT (A allele) has been found to be associated with low COMT activity. In fact, the Met/ Met genotype has shown a three to fourfold decrease in COMT activity compared to the Val/Val genotype. The Valine (Val) allele is also referred to as the high activity allele or the G allele.

The COMT Val/Met variant has been one of the most studied candidate polymorphisms for psychoses and schizophrenia but the vast majority of case–

control studies have failed to find evidence for this association (Craddock et al., 2006). There are few genetic association studies with this polymorphism with either suicidal behavior or non-psychotic clinical populations. The results of these studies remain controversial. Russ et al. (2000) did not find any association regarding genotype or allele frequencies and suicidal behavior among 51 patients with different ethnic origin compared to 51 controls without formally screening for psychiatric disorders. Nolan et al. (2000) described an increased frequency of the Met allele in male schizophrenic and schizoaffective patients who had attempted suicide by violent means. In an opposite direction, one study referred that aggressive behavior in schizophrenic patients was related to the Val/Val genotype (Jones et al., 2001). Another study reporting an association between suicide and the Met allele focused on completed suicide on a Japanese population suggesting that the Val/Val genotype could protect against suicide (Ono et al., 2004).

The aim of the present study was to verify the COMT genotype distributions and allele frequencies in a southern European-Brazilian Caucasian sample and to investigate whether the COMT Val158Met polymorphism is associated with depressed patients with suicide attempts regarding these controversial results in the literature.

Material and Methods

This is a case-control study where subjects were cautiously paired (1:1) for sex and age (maximum acceptable difference of 2 years). The case population studied consisted of patients admitted to an Emergency Hospital of Porto Alegre (Hospital de Pronto Socorro - HPS) due to serious suicide attempt and requiring medical care either at the emergency ward or at the intensive care unit due to a life-threatening condition and fulfill DSM-IV diagnostic criteria for Major Depressive Disorder (MDD). The studied sample consisted of 88 patients out of 146 patients recruited; 10 denied participating of the study, 36 did not meet inclusion criteria and 12 were excluded due to inadequate DNA quality for analysis.

The control group was a convenience sample comprising employees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) without psychiatric disorders, recruited between June 2006 and April 2007. Out of 151 employees recruited, 30 denied participating in the study, 25 were excluded due to a psychiatric disorder and 8 were excluded due to inadequate DNA sample, resulting in 88 individuals. The most

common reasons for refusing to participate among employees were the length of the scales and the lack of time to fill in the questionnaires adequately.

Inclusion criteria includes: (1) at least eighteen years old and (2) European-Brazilian ethnicity, which was evaluated through skin color and morphological characteristics. According to some studies of southern Brazilian people, skin color and morphological characteristics are good predictors of Caucasian ethnicity (Salzano and Bortolini, 2002). Cases and controls were evaluated by a Psychiatric Interview and the Mini International Neuropsychiatry Interview (MINI) - Brazilian version (Sheehan et al., 1998). A semi-structured interview was used to access sociodemographic data and clinical history. The Beck's Suicidal Intention Scale (SIS) was used for the patients interviewed by the psychiatrist, including 15 items, each scored 0 to 2 (Beck et al., 1974)

Blood was collected from both control and patients groups for DNA extraction after informed consent. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. Institutional review board approval was obtained from the ethics committee of HCPA (Numbers 04-272 and 05-613).

DNA Analysis

Genomic DNA was extracted from 4 ml of peripheral blood, according to the salt precipitation method (Miller et al., 1988). The region of the COMT gene containing the Val/Met polymorphism was amplified using the primers described by Rotondo et al. (2002).

COMT genotypes were determined by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis using *NlaIII* restriction enzyme according to the manufacturer's instructions (New England Biolabs). The digestion products were subjected to electrophoresis on a 3% agarose gel stained with ethidium bromide under UV light, allowing the observation of a 114 bp fragment characteristic of the GTG (valine) codon 158 allele and/or a 96 bp fragment characteristic of the ATG (methionine). In order to evaluate genotyping accuracy, all samples were double-checked, and no conflicting results were found in a sample of 88 patients, with 100% of concordance. The genotype results are shown as: AA (Met/Met), AG (Val/Met) and GG (Val/Val).

Statistical Analysis

Data are presented as mean \pm standard deviation, count and percentage (%). Allelic and genotypic tests were performed, using Chi-square test with and without continuity Yates correction respectively. Additionally, we perform an exploratory analysis through stratified analysis using the following variables: presence/absence of comorbidities; use/non-use of alcohol during the suicide attempt and violent/non-violent suicide attempt using the same tests described above. One-way ANOVAs were used to compare the SIS scores between the different groups of patients according to genotype in the two classifications.

Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium were conducted with the χ^2 test for goodness of fit. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 14.0 (SPSS for Windows 14.0, SPSS, Chicago, IL, USA) and Programs for Epidemiologists PEPI v. 4.0 for DOS. The level of significance used was $\alpha=0.05$. Regarding allelic test of the primary analysis, an estimated power of 80% and a minor allele frequency of .043 we are able to detect odds ratio higher than 2.5.

Results

The final sample was composed by 88 cases paired to 88 controls, 112 (63.6%) were women, with a mean age of 35.4 ± 10.45 with no differences between cases and controls (35.1 ± 10.74 vs. 35.7 ± 10.2 , respectively; $t=0.345$, $p=0.730$). There were no significant differences between cases and controls regarding marital status, employment status and educational level ($p>0.05$; data not show).

Suicide attempts were classified as violent ($n=40$; 45.5%) or non-violent (48; 54.5%). Injuries by burns ($n=9$; 10.2%), poisoning by chemicals ($n=8$; 9.1%), gunfire ($n=6$; 6.8%), piercing objects ($n=6$; 6.8%), fall from heights ($n=3$; 3.4%), cutting ($n=5$; 5.7%), hanging ($n=3$; 3.4%), and car crashes ($n=2$; 2.3%) were considered violent attempts, while non-violent attempts were due to drug intoxications ($n=48$; 54.5%). Regarding comorbidity 19 (21.6%) met criteria for alcohol dependence, 7 (8%) for alcohol and drug dependence; and 1 (1.1%) for drug dependence only. Twenty-seven patients (30.7%) have used alcohol during the suicide attempt. The mean of SIS was 15.6 ± 4.79 .

The minor allele frequency (MAF) of the COMT in the whole sample was $A=0.43$, with no significant deviation from Hardy Weinberg Equilibrium ($\chi^2=2.079$, $df=1$, $p=0.149$) in control sample. There were no differences between the MAF between cases and controls: 0.39 vs. 0.46 ($OR=0.76$; $CI_{95\%}$ 0.50 to 1.16 ; $\chi^2_{Yates}=1.406$, $df=1$, $p=0.236$) respectively. Also regarding the genotypic test there were no differences between frequency of genotypes in cases [$AA=21(23.9\%)$, $AG=27(30.7\%)$, $GG=40(45.5\%)$] and controls [$AA=22(25\%)$, $AG=37(42\%)$, $GG=29(33\%)$] ($\chi^2=3.339$, $df=2$, $p=0.188$).

There were no differences between SIS scores between the three genotypes ($F=0.975$; $df=2$; $p=0.381$). Additionally, tests with genotypes, dominant and recessive models as well as exploratory analysis stratifying for presence/absence of comorbidities; use/non-use of alcohol during the suicide attempt and violent/non-violent suicide attempt failed to find any significant association at a 0.05 level of significance (data not shown, available upon request). We did not perform any type of correction for multiple comparisons since there were no statistically significant results.

Discussion

We were not able to shown an association between the studied polymorphism and suicide attempt in depressed patients. Our results on violent and nonviolent suicide attempters with major depressive disorder are consistent with the results of several studies even with different psychiatric phenotypes. (Russ et al., 2000; Liou et al., 2001; De Luca et al., 2005 and Zalsman et al., 2008).

Some authors tried to associate personality traits as aggression and anger-related traits (Rujescu et al., 2003; Baud et al., 2007) with the COMT polymorphism but none of them are conclusive and there were conflictive results. Rujescu et al.(2003) did not find any differences in allele/genotype frequencies between suicide attempters and controls but they suggested that the COMT low-activity homozygotes (Met/Met) were over-represented in violent suicide attempters, indicating that the functional COMT polymorphism may modify the phenotype of suicidal behavior rather than being involved in the genetic susceptibility to suicidal behavior itself. In contrast, Baud et al. (2007) found different allele and genotype distributions between patients and controls. The females' suicide attempters have a significant higher frequency of

the Val/Val (high activity) genotype associated with greater trait anger and risk of suicide attempt, particularly violent suicide attempt, while the same effect was not observed in males. These results were in opposition to Nolan et al. (2000) who found the Met (A) allele to be more frequent in male schizophrenic and schizoaffective patients who had made violent suicide attempts and differs from Ono et al. (2004) who found the absence of the high activity phenotype in male suicides. The personality traits as an endophenotype for molecular genetic investigation can be a strategy for parsing complex biological systems but there are some difficulties to measure and quantify the myriad ways it can express (Savitz et al., 2006). In this way these studies remain controversial and do not offer clear evidence about the association of COMT polymorphism in suicidal behavior.

One metaanalises (Kia-Keating et al., 2007) suggested an association between COMT alleles and suicidal behavior (OR=1.25, 95% CI(1.01–1.56), $z=2.03$, $P=0.04$) but there were some important limitations like possible sampling and ethnicity bias and different kind of outcomes such as suicide risk, suicide attempters and completed suicide were included in this analysis.

Our study has some limitations. First, we have to consider that with this sample size we are able to show only a major role of this gene in suicide attempt in depressed patients, since only OR higher than 2.5 could be detected. Second, analysis is restricted to European-Brazilian sample. However, in spite of our small sample size of depressed suicide attempters, we are in accordance with the results of some studies like Zalsman et al. (2008). In our study we did not observe any allele/genotype differences with respect to lethality of suicide attempts or violence of method of attempt and any kind of difference about gender /sex difference in violence of method of attempt.

Conclusion

In conclusion, the results of the present study showed that the COMT Val158Met polymorphism did not play a major role in the genetics of suicide attempt among European-Brazilian depressed patients. Larger studies are necessary, investigating this functional polymorphism in order to demonstrate and try to characterize a clear association between genetic variation at COMT and suicide attempt.

Acknowledgments

This project was supported by FIPE-HCPA (grant number 05613).

We thank CNPq and FAPERGS for research scholarships.

References

- Baud P, Courtet P, Perroud N, Jollant F, Buresi C and Malafosse A. (2007) Catechol-O-Methyltransferase Polymorphism (COMT) in Suicide Attempters: A Possible Gender Effect on Anger Traits. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **144B**:1042–1047.
- Beck AT, Shuyler D, Herman I. (1974). Development of suicidal intent scales. In: Beck AT, editor. *The Prediction of Suicide*. Philadelphia, PA: Charles Press, pp. 45-56.
- Bondy B, Buettner A and Zill P. (2006). Genetics of suicide. *Mol Psychiatry* **11**, 336-351.
- Craddock N, Owen MJ, O'Donovan MC. (2006). The catechol-O-methyltransferase (COMT) gene as a candidate for psychiatric phenotypes: evidence and lessons. *Mol Psychiatry* **11**(5): 446–458.
- De Luca V, Tharmalingam S, Sicard T, Kennedy JL. (2005). Gene-gene interaction between MAOA and COMT in suicidal behavior. *Neurosci Lett* Jul 22-29; **383**(1-2):151-4.
- Jones G, Zammit S, Norton N, Hamshere ML, Jones SJ, Milham C, Sanders RD, McCarthy GM, Jones LA, Cardno AG, Gray M, Murphy KC, Owen MJ. (2001). Aggressive behavior in patients with schizophrenia is associated with catechol-O-methyltransferase genotype. *Br J Psychiatry* Oct **179**:351-5.
- Kia-Keating BM, Glatt SJ, Tsuang MT. (2007). Meta-analyses suggest association between COMT, but not HTR1B, alleles and suicidal behavior. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. Dec 5; **144B** (8):1048-53.
- Liou YJ, Tsai SJ, Hong CJ, Wang YC, Lai IC.(2001). Association analysis of a functional catechol-O-methyltransferase gene polymorphism in schizophrenic patients in Taiwan. *Neuropsychobiology* Jan **43** (1):11-4.
- Mann JJ. (1998). The neurobiology of suicide. *Nature Medicine* **4**:25-30.
- Marusic, A. (2006). Suicidology Meeting Genetics - What about Suicidologists? *Crisis* **27**(3): 105-106.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HS. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* **16** (7):1215.
- Ministério da Saúde. Organização Pan-Americana de Saúde.Unicamp. (2006). Prevenção do Suicídio – Manual dirigido a profissionais de saúde mental, Brasil.

Nolan KA, Volavka J, Czobor P, Cseh A, Lachman H, Saito T, Tiihonen J, Putkonen A, Hallikainen T, Kotilainen I, Räsänen P, Isohanni M, Järvelin MR, Karvonen MK. (2000). Suicidal behavior in patients with schizophrenia is related to COMT polymorphism. *Psychiatr Genet* Sep **10** (3): 117-24.

Ono H, Shirakawa O, Nushida H, Ueno Y, Maeda K. (2004). Association between catechol-O-methyltransferase functional polymorphism and male suicide completers. *Neuropsychopharmacology* Jul **29** (7):1374-7.

Rotondo A, Mazzanti C, Dell'Osso L, Rucci P, Sullivan P, Bouanani S, Gonnelli C, Goldman D, Cassano GB. (2002). Catechol o-methyltransferase, serotonin transporter, and tryptophan hydroxylase gene polymorphisms in bipolar disorder patients with and without comorbid panic disorder. *Am J Psychiatry* Jan **159** (1): 23-9.

Rujescu D, Giegling I, Gietl A, Hartmann AM and Möller HJ. (2003). A Functional Single Nucleotide Polymorphism (V158M) in the COMT Gene Is Associated with Aggressive Personality Traits. *Biol Psychiatry* **54**:34–39.

Russ MJ, Lachman HM, Kashdan T, Saito T, Bajmakovic-Kacila S. (2000). Analysis of catechol-O-methyltransferase and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in patients at risk for suicide. *Psychiatry Res* Feb **14**; 93(1):73-8.

Salzano FM and Bortolini MC. (2002). *The Evolution and Genetics of Latin American Populations*. Cambridge: Cambridge University Press.

Savitz JB, Cupido CL, Ramesar RS. (2006). Trends in Suicidology: Personality as an Endophenotype for Molecular Genetic Investigations. *PLoS Med* May **3**(5):0619-0623.

Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T *et al.* (1998). Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry* **59** (suppl 20): 22-23.

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

World Health Organization. (2000). *Prevenção do Suicídio: Um manual para Médicos Clínicos Gerais*. Departamento de Saúde Mental, Transtornos Mentais e Comportamentais, Genebra.
www.who.int/entity/mental_health/prevention/suicide/en/suicideprev_gp_port.pdf

Zalsman G, Huang YY, Oquendo MA, Brent DA, Giner L, Haghghi F, Burke AK, Ellis SP, Currier D, Mann JJ. (2008). No association of COMT Val158Met Polymorphism with suicidal behavior or CSF Monoamine Metabolites in Mood Disorders. *Arch Suicide Res* **12** (4):327-35.

9. Conclusão

O comportamento suicida tem sido foco de atenção de pesquisadores ao redor do mundo pela sua alta frequência. A nossa disposição em investigar as novas variantes polimórficas do gene 5-HTTLPR baseou-se na possibilidade de se analisar a participação deste polimorfismo em uma dimensão específica do comportamento suicida, no caso as tentativas de suicídio em pacientes deprimidos. Mas nossa decisão em analisar o referido polimorfismo ocorreu, principalmente, em função de recentes descobertas do funcionamento multialélico. A enorme quantidade de trabalhos que analisaram a forma bialélica comparada aos poucos estudos feitos até então na forma multialélica serviram de motivação para explorar mais este polimorfismo. Vieses de publicação envolvendo estudos genéticos de associação, incluindo metanálises, podem ser frequentes principalmente pelo fato de estudos com achados negativos deixarem de ser publicados aumentando artificialmente a aparente magnitude de efeito desses achados (Munafo et al., 2004). Mesmo que nossos achados tenham sido negativos, sabemos que nossas limitações residem no tamanho amostral, reduzido pelo pareamento que retirou da amostra também todos pacientes de origem não-caucasiana. Mas os diversos trabalhos com o polimorfismo 5-HTTLPR na forma bialélica com associação positiva mostram de forma inequívoca a importância de se investigar tal polimorfismo no comportamento suicida, em especial nas tentativas de suicídio.

Da mesma forma o estudo com o polimorfismo COMT Val158Met descrito no artigo 2 seguiu a nossa hipótese que considerava a possibilidade de haver uma alteração na via serotoninérgica nos pacientes que tentaram o suicídio em função da alteração na disponibilidade de serotonina na fenda sináptica fruto da maior ou

menor destruição das monoaminas pelas enzimas Catecol-orto-metiltransferase e também Monoamino Oxidase A.

No caso da COMT nossos achados referendam os dados da literatura mundial principalmente aqueles com maior tamanho amostral e com maior preocupação na análise de potenciais vieses. Ressaltamos que muitos artigos que acharam uma associação positiva tentaram vincular tais alterações genéticas a determinados traços de personalidade. Este tipo de investigação vem sofrendo alguns relevantes questionamentos. Ebstein (2006) questiona *a priori* quantos genes são estimados na contribuição de fenótipos de comportamento tão complexo como a personalidade. Afirma que sob certas circunstâncias poucos polimorfismos genéticos (menos que o esperado) parecem contribuir para tal. Além disso, o pequeno tamanho de efeito, a herança poligênica, as influências ambientais e principalmente as limitações de instrumentos auto aplicativos (*self-report*) torna difícil que estudos utilizando um único instrumento ou paradigmas experimentais possam melhorar a qualidade e a compreensão de como os genes podem atuar sobre aspectos ou traços da personalidade. Dessa forma os atuais estudos avaliando fenótipos específicos de temperamento e caráter revelam valor em si, mas também apresentam deficiências a serem superadas.

De Luca e colaboradores (2005) entre alguns outros autores não encontraram associação entre o polimorfismo da MAO A e comportamento suicida. Sabemos que a MAO-A é a principal enzima de metabolização da serotonina, adrenalina e noradrenalina e também dopamina. A habilidade da MAO em catabolizar neurotransmissores faz desta enzima importante candidata ao estudo de doenças neurológicas e psiquiátricas. Considerando que o gene da MAO-A está localizado no cromossomo X, a análise deve ser estratificada por sexo, já que evidências

demonstram diferenças na freqüência entre homens e mulheres no comportamento em estudo. Também de acordo com a funcionalidade e estudos moleculares prévios, os alelos da MAO-A u-VNTR podem ser divididos em dois grupos, contendo alta atividade e baixa atividade transcricional. Alelos curtos, 2R e 3R, apresentam baixa atividade, enquanto que os alelos longos, 3.5R, 4R e 5R, alta atividade. Genótipos de baixa atividade apresentam os dois alelos curtos, genótipos de alta atividade apresentam os dois alelos longos, já os genótipos intermediários correspondem a um alelo longo e um curto. A referida estratificação impossibilitou uma adequada análise em nossa amostra, pois ao parearmos o estudo (sexo e idade), o nosso tamanho amostral reduziu significativamente o poder deste estudo (principalmente devido às diferenças marcantes entre gênero do total da amostra).

Da mesma forma a análise do polimorfismo da Triptofano hidroxilase (TPH2) na nossa amostra revelou uma distribuição alélica e genotípica sem diferenças entre casos e controles sendo similar às freqüências da população em geral. Assim, foi descartada a possibilidade de ser considerado um achado negativo e, portanto não relevante para publicação.

Ainda que nossos estudos não tenham encontrado associação entre os diferentes polimorfismos das vias monoaminérgicas, em especial a serotoninérgica, com tentativa de suicídio em pacientes deprimidos, consideramos estes achados pertinentes e alinhados as principais linhas de pesquisa mundiais principalmente pelas limitações tecnológicas e de custeio que enfrentamos em nosso país. É evidente que se faz necessário um aprimoramento em nossa linha de pesquisa, principalmente visando melhorar o tamanho amostral de casos e controles.

A compreensão dos fatores genéticos que contribuem para a vulnerabilidade ao comportamento suicida ainda está longe de ser totalmente elucidada. Muitos

polimorfismos genéticos já evidenciaram sua participação neste desfecho, mas com um efeito muito modesto ou com resultados controversos ou inconclusivos. O estudo das interações gene-ambiente, gene-gene-ambiente, a análise de famílias, trios e de haplótipos de suscetibilidade, além do estudo de outros polimorfismos e vias de sinalização de proteínas receptoras de enzimas podem ser úteis na melhor compreensão dos fenômenos que compõem o comportamento suicida podem ser alternativas.

O aperfeiçoamento técnico tem permitido avanços como o estudo da Expressão Gênica Global no cérebro como uma perspectiva promissora. As tecnologias de “*microarray*” oferecem a possibilidade de quantificar o nível de expressão de vários milhares ou mesmo de todos os genes encontrados no genoma humano para o estudo da depressão maior entre outros transtornos mentais, mas ainda restrita aos países desenvolvidos.

Outra abordagem promissora relaciona-se ao campo da epigenética. Sabe-se que os indivíduos nascem com o material genético necessário para expressar todas as proteínas do organismo. Mas não se pode esquecer a ação e a responsividade a qual esta bagagem genética pode sofrer pela influência ambiental em aspectos relacionados ao desenvolvimento do indivíduo e de doenças. Dessa maneira, o “epigenoma” serve como uma interface entre o ambiente dinâmico e o genoma estático. Estudos envolvendo mecanismos genéticos via metilação podem influenciar o funcionamento de genes atenuando ou silenciando sua expressão. Ainda estamos longe deste tipo de abordagem, mas as perspectivas futuras apontam nesta direção o que poderá servir para o desenvolvimento de ferramentas diagnósticas mais apuradas, identificando melhor populações em risco e o desenvolvimento de programas e estratégias específicas para a prevenção do comportamento suicida.

Referência não citada na bibliografia da tese e artigos

Ebstein R.P. The molecular genetic architecture of human personality: beyond self-report questionnaires. *Molecular Psychiatry* 11, 427- 455, 2006.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Informado

Projeto de Pesquisa: “Estudo dos haplótipos de suscetibilidade ao comportamento suicida em pacientes deprimidos que tentaram o suicídio”

Este projeto de pesquisa tem como objetivo estudar os pacientes que procuraram atendimento no Hospital de Pronto Socorro devido a uma tentativa de suicídio. Durante o atendimento se buscará obter informações sobre os possíveis motivos e causas que possam ter levado a tentativa de suicídio e assim buscar o tratamento adequado para cada situação. Os pacientes que buscam o HPS serão convidados a participar de um estudo sobre o suicídio que envolve a avaliação genética. Essa avaliação será feita a partir da coleta de 10 ml de sangue dos pacientes que aceitarem participar deste projeto. A razão de se estudar o sangue dos pacientes é que se sabe que há uma possível relação genética com condutas autodestrutivas, incluindo o suicídio e a impulsividade. Assim através da análise de sangue se investigará a presença de um fator que pode estar relacionado com o desenvolvimento da doença depressiva e com o suicídio.

Risco e Desconforto

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

Benefícios

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

Recusa ou Descontinuação da participação

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

Pelo presente termo, declaro que fui informado, de forma clara e detalhada, sobre o presente projeto de pesquisa, e que tive minhas dúvidas esclarecidas por_____. Fui igualmente informado sobre a garantia da manutenção do anonimato, da privacidade das informações que forneci e também recebi respostas e esclarecimentos sobre todos os procedimentos envolvidos nesta pesquisa. Declaro também que estou de pleno acordo com a minha participação neste projeto.

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável

Responsabilidade do pesquisador

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

Nome e Assinatura do pesquisador ou associado

Porto Alegre, ____ de _____ de 200__.

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

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

Prontuário:

DN: ___/___/_____ Idade:

Estado civil: solteiro () casado () separado () divorciado () viúvo ()

Religião:

Local de trabalho: Trabalho informal: Desempregado:

Endereço:

Telefone:

Procedência: Meio urbano: () Meio Rural: ()

Grau de instrução/ escolaridade:

Local onde estuda:

Raça / Etnia: Branco () Negro () Mulato () Amarelo () Mestiço ()

Responsável ou cônjuge:

Telefone e endereço da referência:

Número de filhos: Idade dos filhos:

Status sócio-econômico: Renda média pessoal/familiar:

Estrutura social da família: () Integrada () Desintegrada () Refeita

Dados da história:

Método utilizado:

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

Ideação: Persistente: () Tipo impulsiva: () Tipo manipulativa: ()

Fatores desencadeantes presentes:

Morte de familiar: ()

Briga e/ou Rompimento de relacionamento afetivo: ()

Perdas materiais: ()

Motivo não compreensível () Qual:

Número de tentativas anteriores:

Tipos de tentativas:

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

Número de internações psiquiátricas:

Uso ou abuso de substâncias psicoativas: (comorbidades)

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

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

História familiar de doença mental

Doença bipolar:
Esquizofrenia:
Drogadição:
Alcoolismo:
Transtornos de personalidade:
Outro:

História de internações psiquiátricas na família:

Local de atendimento:

História de suicídio na família:

Tipo de tentativa utilizada:

Escala de Intenção Suicida (SIS - Suicide Intent Scale, Beck et al, 1974).

	0	1	2
	Alguém presente	Alguém p/ perto	Ninguém p/ perto
Cronometragem	Intervenção provável	Intervenção não é provável	Intervenção altamente improvável
Precaução	Sem precauções	Precauções passivas	Precauções ativas
Auxílio	Auxílio notificado	Auxílio contactado	não notificado
Atos finais (testam., seguro)	nenhum	Pensar	realizar
Preparação	nenhuma	mínima	extensiva
Bilhete	Nenhum	Imaginado/ rasgado	presente
Comunicação	Nenhum	Equivocada	inequívoca
Propósito	Manipular pessoas obter atenção	Componentes 0 e 2	escapar, cessar ou resolver problemas
Expectativa de Fatalidade	morte é improvável	Morte possível	Morte certa
Letalidade	Achava não seria letal	Não tinha certeza	> ou = ao que pensou
Seriedade	Não muito séria	incerteza	Tentativa séria
Atit.viver/morrer	Não quis morrer	Componentes 0 e 2	Quis morrer
Socorro médico	morte improvável	Incerteza se poderia ser evitada	certo da morte
Premeditação	Nenhum; impulsivo	considerado por 3 hs	considerado por +3 hs
Total			

Anexo 1 - Apresentação Parcial dos Resultados

- I Seminário Nacional de Prevenção do Suicídio, realizado em Porto Alegre, 2006; como debatedor da mesa “Experiência de acolhimento no comportamento suicida”.
- 13th International Summer School in Behavioral Neurogenetics, Florianópolis, 2006; Poster “Association between suicide attempts in South Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism”.
- II Congresso da Associação de Suicidologia da América Latina e Caribe, Belo Horizonte, 2007; como palestrante do trabalho “Association between suicide attempts in South Brazilian depressed patients with the serotonin transporter polymorphism (HTTLPR) e Tryptophan hydroxilase gene (TPH1)”.
- II Congresso da Associação de Suicidologia da América Latina e Caribe, Belo Horizonte, 2007; Prêmio de melhor Pôster “N251K polymorphism in the α_{2a} -adrenoceptor gene and suicide attempt”.
- II Congresso da Associação de Suicidologia da América Latina e Caribe, Belo Horizonte, 2007; Pôster “Association of the Tryptophan hydroxilase A218C polymorphism with suicide attempt in Brazilian depressed patients.
- XXV Congresso Brasileiro de Psiquiatria, Porto Alegre, 2007; relator da Mesa “A pesquisa genética na área do comportamento suicida”.
- Simpósio Internacional sobre Epidemiologia e Prevenção do Suicídio, Salvador, 2008; apresentador do tema “Avanços na Genética do Suicídio” na Mesa-redonda: Comportamento Suicida- Avanços nas Pesquisas Brasileiras.