UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MENTAL

ITIANA CASTRO MENEZES

**Transtorno depressivo maior e transtorno bipolar:
diferenciação por fatores genéticos, hormonais
e exposição a estresse precoce**

Ribeirão Preto

2019

ITIANA CASTRO MENEZES

**Transtorno depressivo maior e transtorno bipolar:
diferenciação por fatores genéticos, hormonais
e exposição a estresse precoce**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo para a obtenção do título de Doutor em
Ciências.

Área de concentração: Saúde Mental

Orientador: Prof. Dr. Mário Francisco
P. Juruena

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Margaret de Castro

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo
e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Menezes, Itiana Castro

Transtorno depressivo maior e transtorno bipolar: diferenciação por fatores genéticos, hormonais e exposição a estresse precoce / Itiana Castro Menezes; orientador Mario Francisco Jurueña; co-orientadora Margaret de Castro - Ribeirão Preto, 2019.
220 p.

Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento. Área de concentração: Saúde Mental, 2019.

1.Depressão; 2. Bipolar; 3.Receptores de Mineralocorticóides (MR); 4.Receptores de Glicocorticóides (GR); 5.Cortisol; 6. Aldosterona; 7. Polimorfismos (SNP); 8.Estresse Precoce (EP).

Nome: MENEZES, Itiana Castro

Título: Transtorno depressivo maior e transtorno bipolar: diferenciação por fatores genéticos, hormonais e exposição a estresse precoce

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Saúde Mental

Aprovada em: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. _____	Instituição: _____
Julgamento_____	Assinatura: _____

Prof. _____	Instituição: _____
Julgamento_____	Assinatura: _____

Prof. _____	Instituição: _____
Julgamento_____	Assinatura: _____

Prof. _____	Instituição: _____
Julgamento_____	Assinatura: _____

Prof. _____	Instituição: _____
Julgamento_____	Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A todos que acreditam que podemos
fazer um mundo melhor por meio do
nosso trabalho e colaboração.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pela oportunidade de cursar um excelente curso de Pós-Graduação em Saúde Mental, de alto nível, gratuitamente e com muita qualidade.

Agradeço ao órgão de fomento CAPES, pela bolsa de doutorado recebida estes 4 anos de trabalho, para assim, poder me dedicar integralmente ao meu trabalho de como doutoranda e pesquisadora.

Gostaria de agradecer primeiramente à minha mãe, meu pai e meu irmão. Vocês são a fonte de todo meu apoio e meu amor. Meus queridos pais, se sou o que sou, foi porque me ensinaram a lutar e a seguir em busca do que acredito, apesar de qualquer dificuldade. O trajeto do doutorado é um trajeto longo e nada fácil, mas o trilhei com louvor baseado em tudo que me ensinaram e por acreditar no potencial de meu trabalho e de minha pesquisa. Acredito na construção de um mundo melhor por meio do avanço de nossos conhecimentos. Acredito nos frutos ricos que são dados pela ciência a todos nós.

À minha avó Nena, às minhas dindas Michele e Rejane, muito obrigada pelo carinho e torcida. O carinho de vocês também sempre me fortaleceu. Amo muito vocês.

Agradeço a meu orientador Prof. Mário Juruena por ter acreditado em meu potencial como pesquisadora e ter me aberto a porta para nosso grupo de pesquisa EsTraDA. Que Deus ilumine seu caminho.

Agradeço, de coração, à minha co-orientadora, Prof. Margaret de Castro. Obrigada por ter me apoiado e por ter aberto às portas do Laboratório de Endocrinologia. Sou muito grata pelo tempo e apoio que me dedicaste, mesmo em meio a seu tempo corrido como diretora da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto.

Agradeço aos amigos que fiz durante a pós-graduação, meus companheiros de EsTraDA, Cristiane Baes, Nayanne Bosaipo, Brisa Burgos, Thalita Padovan, Vinícius Borges e Camila Martins. Agradeço aos amigos de pós-graduação que fiz durante as disciplinas da USP, Letícia Marcorin, Maria

Luísa Guimarães, Alison Pereira e Luís Eduardo Bernardes, por todo apoio e carinho que experienciamos nesses meus 4 anos de USP e de Ribeirão Preto. Amigos são engrenagens fazem mais leves e nos ajudam a crescer pelos caminhos onde passamos.

Agradeço imensamente aos amigos que trabalham no Laboratório de Endocrinologia do HCFMRP-USP, José Roberto, Maria Fernanda, Gabrielly Sarria. Muito mais do que colaboração nas análises da etapa endócrina, vocês fizeram minha rotina de bancada sempre muito mais produtiva, alegre e agradável.

Obrigada às técnicas do Laboratório de Biologia Molecular do HCFMRP-USP, Wendy Turatti e Renata Sicchieri. Sou grata também a todos os pesquisadores pós-graduandos e pós-doutorandos que convivi no tempo que estive trabalhando na etapa referente à análise genética, meu muito obrigada pela ótima convivência com vocês. Agradeço, em especial, à pós-doutoranda Ana Carolina Bueno, quem foi uma ótima professora de bancada para quaisquer dúvidas que eu vinha a ter durante o desenvolvimento dos experimentos da etapa genética. Parabéns por ser essa pessoa doce que faz questão de estar sempre ajudando os outros colegas com tanto carinho.

Agradeço à convivência, ainda que rápida, com o professor Ayrton Moreira. Obrigada por esclarecimentos na área da endocrinologia.

Agradeço aos amigos que fiz em meio à convivência das horas de experimento, pós-graduandos, professores e técnicos dos laboratórios próximos. Martinha, Iana, professor Franzé, professor Sonir, foi um prazer conhecê-los.

Agradeço também ao professor Riccardo Lacchini e à professora Lucilene Cardoso. Muito obrigada pela colaboração e disponibilidade durante meu doutorado. Obrigada, prof. Norberto Cairasco pelo carinho e sempre estar incentivando nosso amor às Neurociências.

Agradeço ao Eduardo Umeoka, colega de EsTrada, por ter me aberto as portas para que eu conhecesse mais sobre o trabalho que estavam realizando no período de seu pós-doutorado na Holanda e o trabalho do seu grupo de pesquisa na Universiteit van Amsterdam. Obrigada ao professor Harm J. Krugers e seus pós-graduandos que me receberam na Universiteit van Amsterdam e às professoras Marian Jöels e Angela Sarabdjitsingh e seus pós-graduandos que

me receberam na University Medical Center Utrecht. Fico muito grata por disponibilizarem seu tempo e atenção, compartilhando comigo seu conhecimento e mais sobre sua linha de pesquisa. Este período que estive na Holanda, apesar de breve, foi muito enriquecedor.

Agradeço a todos os pacientes que dedicaram parte do seu tempo à participação da pesquisa. Apesar de momentos difíceis que estavam vivendo, acreditaram e dispuseram parte de seu tempo para colaborar com nossa pesquisa. Obrigada por acreditarem que podemos fazer a diferença mais adiante para vocês ou para os que forem acometidos pela depressão. Muito obrigada, de coração. Agradeço muito também a todos os sujeitos controle que, mesmo não sendo acometidos por depressão, dispuseram seu tempo colaborando com sua participação na pesquisa, o que irá nos ajudar a conhecer mais sobre essa doença.

Obrigada a toda equipe de enfermagem do ambulatório de humor do HCFMRP que sempre se dispôs a ajudar no que eu precisasse e que tornou meu dia-a-dia ambulatorial tão agradável. Muito obrigada aos residentes e médicos supervisores do ambulatório de psiquiatria que estiveram dispostos a compartilhar seu espaço conosco, membros da equipe de pesquisa. Ao médico psiquiatra que conheci como residente durante meu doutorado, Edson Detregiachi, obrigada pelo carinho e pela amizade cultivada após esse período. Irei sentir saudade de seu preciosismo e dedicação como psiquiatra. Muito obrigada aos membros da equipe do Hospital Dia. Vocês sempre me integraram como uma família durante o tempo que estive com vocês.

E por fim, agradeço imensamente a Deus e aos amigos de luz pela companhia, inspiração, força e proteção que deram e me dão para eu trilhe meu caminho sem pestanejar em busca de meus objetivos.

EPÍGRAFE

“Os ideais que iluminaram meu caminho e que várias vezes me deram coragem para enfrentar a vida com alegria foram bondade, beleza e verdade. Sem o sentido de bondade, sem preocupação com o mundo objetivo – o eternamente inalcançável no campo da arte e dos esforços científicos – a vida pareceria vazia para mim. Os objetivos banais dos esforços humanos – posse, ostentação e luxo – sempre me pareceram desprezíveis.”

(Albert Einstein)

RESUMO

MENEZES, I.C. **Transtorno depressivo maior e transtorno bipolar: diferenciação por fatores genéticos, hormonais e exposição a estresse precoce.** Tese (Doutorado). Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2019. 220 p.

Introdução: Ainda são escassos estudos que avaliem biomarcadores para diferenciação de transtorno depressivo maior (TDM) e transtorno bipolar (TB), relativo à etiologia desses transtornos e sua relação com a atividade do eixo Hipotalamo-Hipofíse-Adrenal e com os receptores glicocorticoides (GR) e, principalmente, com os receptores mineralocorticoides (MR). **Objetivo:** Encontrar biomarcadores genéticos e/ou hormonais e observar sua associação entre si e/ou a fatores externos (estresse precoce - EP); para compreender melhor sua fisiopatogenia e auxiliar no diagnóstico diferencial entre TDM e TB.

Material e Métodos: Participaram deste estudo N=273 sujeitos, sendo n=113 controles, n=78 unipolares e n=82 bipolares. A triagem diagnóstica de todos os sujeitos foi realizada por meio da entrevista estruturada MINI PLUS, a avaliação da história de trauma na infância foi avaliada pela escala CTQ, a avaliação de sintomas depressivos pela escala GRID-HAM-D₂₁, e demais comorbidades pelas escalas de Beck: BAI, BHS e BSI. Na busca de biomarcadores genéticos, observaram-se as frequências genotípicas e alélicas de 3 polimorfismos de receptor de GR (N363S, R22/23K e BclI) e de 2 polimorfismos de MR (MI180V e -2G/C) após realizada a discriminação alélica por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Foram avaliados de forma intragrupo as variáveis genéticas e endócrinas (e combinadas) e o efeito do EP sobre tais variáveis. Os polimorfismos, os níveis hormonais e a exposição ao EP foram comparados entre os grupos avaliando se haviam diferenças de prevalência e de perfil endócrino. Avaliando-se também se havia maior vulnerabilidade nos unipolares ou bipolares de acordo com sua gravidade em relação ao EP ou a determinado genótipo. **Resultados:** Todos os sujeitos unipolares e bipolares mostraram piora da gravidade seus sintomas depressivos frente a EP e seus subtipos, sendo eles unipolares ou bipolares. Como biomarcador hormonal, comparando-se controles x unipolares x bipolares, ou apenas unipolares x

bipolares, observamos que os níveis de cortisol e aldosterona estavam maiores em unipolares e menores em bipolares nos quadros depressivos mais graves. Também, os pacientes bipolares expostos a EP geral, abuso físico e emocional mostraram níveis mais baixos de aldosterona que bipolares que não foram expostos. Os bipolares tenderam a se mostrar mais vulneráveis que os unipolares à exposição ao EP geral e ao abuso físico, induzindo alteração nos níveis de aldosterona. Para os biomarcadores genéticos, a frequência de genótipos ou alelos não diferenciou unipolares de bipolares. Entretanto, houve maior prevalência do genótipo heterozigoto AG de GR N363S em pacientes depressivos unipolares e bipolares quando comparados com controles. Combinando-se os biomarcadores genéticos e hormonais, unipolares apresentaram níveis mais baixos de cortisol e de aldosterona quando carregavam genótipo variante GG de MR -2G/C, enquanto bipolares mostraram tendência a redução de cortisol quando carregavam o alelo selvagem G de MR MI180V. Quando comparados os genótipos por si só, intragrupo, novamente o polimorfismo MR -2G/C mostra influência sobre o fenótipo unipolar. Em unipolares, a presença do alelo variante G de MR -2G/C piora significativamente o quadro depressivo; no entanto, a presença do selvagem G de MI180V mostrou-se protetor frente ao EP. Tanto os unipolares frente aos outros 4 polimorfismos, quanto os bipolares em relação a todos os polimorfismos estudados, apresentaram piora significativa de seu quadro depressivo se expostos a EP. Bipolares mostraram uma tendência a ser mais suscetíveis que unipolares às alterações endócrinas (aldosterona) quando expostos ao EP geral e ao abuso físico. **Conclusão:** Tendo em vista os diversos achados significativos relacionados aos polimorfismos de MR, tanto para unipolares quanto para bipolares e sua influência sobre os níveis de aldosterona e cortisol basais, reforça-se a importância da função dos receptores MR dentro da etiologia do TDM e do TB; assim como o diferente funcionamento do MR entre tais transtornos psiquiátricos.

Palavras-chave: depressão; bipolar; receptor de mineralocorticoide (MR); receptor de glicocorticoide (GR); polimorfismos (SNP); cortisol; aldosterona.

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

ABSTRACT

MENEZES, I.C. **Major depressive disorder and bipolar disorder: differentiation by genetic, hormonal factors, and exposure to early-life stress.** Thesis (Doctorate). Ribeirão Preto: University of São Paulo, Faculty of Medicine, 2019. 220 p.

Introduction: There are still few studies evaluating biomarkers for differentiation of major depressive disorder (MDD) and bipolar disorder (BD), related to the aetiology of these disorders and its relation to the activity of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis and the glucocorticoid receptors and, mainly, mineralocorticoid receptors (MR). **Aim:** To find genetic and/or hormonal biomarkers and to observe their association with each other and/or external factors (early life stress - ELS); to better understand their pathophysiology and to improve in the differential diagnosis between MDD and BD. **Material and Methods:** A total of N = 273 subjects participated in this study, being n = 113 controls, n = 78 unipolar and n = 82 bipolar. The diagnostic screening of all subjects was performed through the MINI PLUS structured interview, the evaluation of the history of childhood trauma was evaluated by the CTQ scale, the evaluation of depressive symptoms by the GRID-HAM-D₂₁ scale, and other comorbidities by Beck's scales: BAI, BHS and BSI. In the search for genetic biomarkers, the genotypic and allelic frequencies of 3 GR receptor polymorphisms (N363S, R22 / 23K and BclI) and 2 MR polymorphisms (M1180V and -2G / C) were observed after allelic discrimination by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The genetic and endocrine (and combined) variables and the effect of ELS on these variables were evaluated intragroup. Polymorphisms, hormone levels and ELS exposure were compared between the groups by assessing whether there were differences in prevalence and endocrine profile. It was also evaluated if there was a greater vulnerability in the unipolar or bipolar according to its severity concerning the ELS or to a certain genotype. **Results:** All unipolar and bipolar subjects showed worsening of their depressive symptoms in relation to ELS and its subtypes, being unipolar or bipolar. As a hormonal biomarker, comparing unipolar x bipolar controls, or only unipolar x bipolar, we observed that cortisol and aldosterone levels were higher in unipolar and lower in bipolar in the most severe depressive episodes. Also, bipolar patients exposed

to general ELS, physical and emotional abuse showed lower levels of aldosterone than did bipolar who were not exposed. Bipolar tends to be more vulnerable than unipolar to overall ELS exposure and physical abuse, inducing alteration in aldosterone levels. For the genetic biomarkers, the frequency of genotypes or alleles did not differentiate unipolar from bipolar. However, there was a higher prevalence of GR heterozygous genotype of GR N363S in unipolar and bipolar depressive patients when compared to controls. Combining the genetic and hormonal biomarkers, unipolar had lower levels of cortisol and aldosterone when carrying GG variant genotype of MR-2G / C, while bipolar showed a tendency to reduce cortisol when they carried the wild-type G allele of MR MI180V. When comparing the genotypes by themselves, intragroup, again the MR-2G / C polymorphism shows influence on the unipolar phenotype. In unipolar, the presence of the variant G allele of MR-2G / C significantly worsens the depressive condition; however, the presence of MI180V wild-type G was protective against ELS. Both the unipolar compared to the other 4 polymorphisms and the bipolar ones concerning all polymorphisms studied presented a significant worsening of their depressive condition if exposed to ELS. Bipolar tends to be more susceptible than unipolar to endocrine changes (aldosterone) when exposed to general ELS and physical abuse. **Conclusion:** Considering the several significant findings related to MR polymorphisms, both in unipolar and bipolar and their influence on basal aldosterone and cortisol levels, we suggest the key role of MR receptor function within the aetiology of MDD and BD; as well as the different functioning of MR among such psychiatric disorders.

Keywords: depression; bipolar; mineralocorticoid receptor (MR); glucocorticoid receptor (GR); polymorphisms (SNPs); cortisol; aldosterone.

Financial support: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
ADT	Antidepressivo
AE	Abuso Emocional
AF	Abuso Físico
AF-1	Domínio de Ativação N-terminal
ANOVA	Análise de Variância
APA	Associação Americana de Psiquiatria
AS	Abuso sexual
ATI	Angiotensina I
ATII	Angiotensina II
AVP	Vasopressina
B	Grupo Bipolar
BAI	Inventários Beck de Ansiedade
BAI	Inventário Beck de Ansiedade
BDI – II	Inventário de Depressão Beck II
BDI-II	Inventário Beck de Depressão II
BHS	Escala de Desesperança de Beck
BSI	Escala de Ideação Suicida de Beck
BSI	Inventário Beck de Ideação Suicida
BZD	Benzodiazepínico

C	Grupo Controle
CA1	Região Hipocampal Corno de Amon 1
CA2	Região Hipocampal Corno de Amon 2
CAR	Cortisol ao Acordar
CBD	Domínio de Ativação C-terminal
CTQ	Questionário de Trauma na Infância (<i>Childhood Trauma Questionnaire</i>)
DBD	Domínio de Ligação do DNA
dbSNP	Base de dados
DEX	Dexametasona
DEX/CRH	Desafio de Dexametasona / Hormônio Liberador de Corticotrofina
<i>D-loop</i>	<i>Loop</i> de Dimerização
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSM	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i>)
DST	Supressão por Dexametasona
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EFC	Ensino Fundamental Completo
EFI	Ensino Fundamental Incompleto
EMC	Ensino Médio Completo
EMI	Ensino Médio Incompleto
EP	Estresse Precoce

ESC	Ensino Superior Completo
ESI	Ensino Superior Incompleto
FAM	Fluorórofo de Cor Vermelha
FE	Frequência Esperada
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
FO	Frequência Observada
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GR / hGR	Receptor de Glicocorticoide
GRID-HAM-D₂₁	Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HPA	Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
HSP	<i>Heat Shock Protein</i>
HWE	Equilíbrio de <i>Hardy-Weinberg</i>
I	Aminoácido Isoleucina
IMAO	Inibidor da Monoaminoxidase
IMC	Índice de Massa Corporal
ISRN	Inibidor Recaptação de Serotonina e Noradrenalina
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LBD	Sítio de Ligação ao Hormônio
LC	<i>Locus Coeruleos</i>

MAF	Frequência do Alelo Menor
MR / hMR	Receptor de Mineralocorticoide
N/A	Não se aplica
NA	Noradrenalina/Norepinefrina
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NE	Negligência Emocional
NF	Negligência Física
NLS	Domínio de Sinal de Localização Nuclear
nmol/L	Nanomol por Litro
NR3C1	Receptor Nuclear da Subfamília 3, grupo C, membro 1
NR3C2	Receptor Nuclear da Subfamília 3, grupo C, membro 2
NTD	Domínio N-terminal
PB	Pares de Base
p.e.	Por exemplo
PGA	<i>Power for Genetic Association Analysis</i>
pmol/L	Picomol por Litro
PVN	Núcleo Paraventricular
PST	Teste de Supressão por Prednisolona
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa ou em Tempo Real (<i>Real Time</i>)
RIA	Técnica de Radioimunoensaio
SI	Sistema Internacional de Unidades

Snc	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de Único Nucleotídeo
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TATA <i>box</i>	Região com Múltiplas Repetições dos Nucleotídeos T e A
TB	Transtorno Bipolar (bipolares)
TDM	Transtorno Depressivo Maior (unipolares)
TEPT	Transtorno do Estresse Pós-Traumático
U	Grupo Unipolar
USP	Universidade de São Paulo
UTR	<i>Untranslated Region</i>
V	Aminoácido Valina
VIC	Fluoróforo de Cor Verde
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos de todos os níveis de gravidade.....	88
Gráfico 2 - Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos até nível moderado.....	89
Gráfico 3 - Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos graves a gravíssimos.....	89
Gráfico 4 -Correlação entre os níveis de cortisol sérico e intensidade da ideação suicida dos pacientes unipolares.....	97
Gráfico 5 -Comparação da média e desvio padrão dos níveis de aldosterona sérica entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos de todos os níveis de gravidade.....	101
Gráfico 6 - Comparação da média e desvio padrão dos níveis de aldosterona sérica entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos até nível moderado.....	101
Gráfico 7 -Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadros depressivos graves a gravíssimos.....	102
Gráfico 8 -Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas depressivos heteroavaliados de pacientes unipolares.	110
Gráfico 9 -Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas depressivos autoavaliados de pacientes unipolares.....	110
Gráfico 10 Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas de desesperança de pacientes unipolares.....	111
Gráfico 11 - Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e escore de história de abuso físico de pacientes bipolares.....	111
Gráfico 12 - Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade de sintomas ansioso físico de pacientes bipolares.....	112

LISTA DE SÍMBOLOS

χ^2	Teste do Qui-quadrado
%	Percentual
dp	Desvio Padrão
F	Análise de Variância (ANOVA)
p	Nível de Significância
r^2	Correlação de Pearson
t	Teste t de Student
9999	<i>Missing Data</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparação das características sociodemográficas e clínicas da entre os grupos controle, unipolar (TDM) e bipolar (TB).....	74
Tabela 2 - Comparação de médias entre sujeitos controle, TDM e TB em relação à pontuação nas escalas psicométricas.....	77
Tabela 3. Distribuição de sujeitos - número absoluto (e porcentagem) - de acordo com intensidade de sintomas depressão e comorbidades e por subtipo de depressão.....	78
Tabela 4. Comparação do número de sujeitos e percentual por grupo considerando presença ou ausência e intensidade de subtipos de estresse precoce.....	79
Tabela 5 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D ₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	80
Tabela 6 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D ₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	81
Tabela 7 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D ₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	82
Tabela 8 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	83
Tabela 9 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	84
Tabela 10 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.....	85
Tabela 11. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos geral.....	87
Tabela 12. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos até intensidade moderada.....	87

Tabela 13. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos graves a gravíssimos.....	88
Tabela 14. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos controle.....	91
Tabela 15. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos unipolares.....	92
Tabela 16. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos bipolares.....	93
Tabela 17. Comparação dos níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos controle, unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.....	94
Tabela 18. Comparação dos níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.....	95
Tabela 19. Avaliação da correlação dos níveis de cortisol (nmol/L) com a pontuação bruta de construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.....	97
Tabela 20. Avaliação da correlação dos níveis de cortisol (nmol/L) com a níveis de gravidade dos construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.....	98
Tabela 21. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos.....	100
Tabela 22. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos até intensidade moderados.....	100
Tabela 23. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos graves a gravíssimos.....	100

Tabela 24. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos controle.....	103
Tabela 25. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos unipolares.....	104
Tabela 26. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos bipolares.....	105
Tabela 27. Comparação dos níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos controle, unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.....	106
Tabela 28. Comparação dos níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.....	107
Tabela 29. Avaliação da correlação dos níveis de aldosterona (pmol/L) com a pontuação bruta de construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.....	109
Tabela 30. Avaliação da correlação dos níveis de aldosterona (pmol/L) com a níveis de gravidade dos construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.....	109
Tabela 31. Testagem das frequências de genótipos em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg da amostra geral, e dentro dos grupos controle, unipolar e bipolar.....	114
Tabela 32. Comparação das MAF encontradas na literatura dbSNP com as MAF encontradas na amostra do estudo.....	115
Tabela 33 Comparação das MAF encontradas na literatura (Ensembl) com as MAF encontradas na amostra do estudo.....	116
Tabela 34. Comparação entre os valores de MAF nas subpopulações brasileiras estudadas considerando o gene N363S.....	117

Tabela 35 - Comparação de frequência de genótipos entre grupos.....	118
Tabela 36. Comparação da frequência de alelos (percentual) entre os grupos controle, unipolar e bipolar.....	119
Tabela 37. Comparação da frequência de alelos (percentual) entre os grupos controle e pacientes deprimidos.....	119
Tabela 38. Comparação intragrupo da amostra geral dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.....	120
Tabela 39. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de controles considerando os genótipos.....	121
Tabela 40. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de unipolares considerando os genótipos.....	122
Tabela 41. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de bipolares considerando os genótipos.....	123
Tabela 42. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.....	124
Tabela 43. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.....	125
Tabela 44. Comparação dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) na amostra geral considerando os genótipos.....	126
Tabela 45. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de controles entre os grupos considerando os genótipos.....	127
Tabela 46. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de unipolares considerando os genótipos.....	128
Tabela 47. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de bipolares entre os grupos considerando os genótipos.....	129
Tabela 48. Comparação extragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) considerando os genótipos.....	130

Tabela 49. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) considerando os genótipos.....	131
Tabela 50. Avaliação intragrupo sobre o efeito dos genótipos sobre a pontuação de sintomas de depressão heteroavaliados de unipolares.....	132
Tabela 51. Avaliação do impacto do EP sobre a pontuação dos sintomas de depressão heteroavaliados conforme os genótipos em unipolares.....	133
Tabela 52. Avaliação intragrupo sobre o efeito dos genótipos sobre a pontuação de sintomas de depressão heteroavaliados de bipolares.....	134
Tabela 53. Avaliação do impacto do EP sobre a pontuação dos sintomas de depressão heteroavaliados conforme os genótipos em bipolares.....	135

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado apontando a produção do cortisol e aldosterona a partir do colesterol (Adaptado de NELSON & COX, 2014) ...	35
Figura 2. Representação da molécula de cortisol, sua fórmula molecular e seu nome de registro segundo União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC)	36
Figura 3. Representação da molécula de aldosterona, sua fórmula molecular e seu nome de registro segundo União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC)	36
Figura 4. Esquema simplificado mostrando o funcionamento do Eixo Hipotálamo-Hipófise (Adaptado de CHROUSOS & KINO, 2007, 2009).....	38
Figura 5. Esquema simplificado sobre o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (Adaptado de BARRAS et al., 2009)	39
Figura 6. Estrutura gene GR (NR3C1) e nele estão apontadas a localização dos polimorfismos que foram estudados neste trabalho (R22/23K; N363S e BclI). (Adaptado de BRAY & COTTON, 2003; CLAES et al., 2009; ENCÍO & DETERA-WADLEIGH, 1991).....	41
Figura 7. Estrutura do gene MR (NR3C2) e nele estão apontadas a localização dos polimorfismos que foram estudados neste trabalho (MI180V e -2GC). (Adaptado de ZENNARO et al., 1995)	42
Figura 8. Apresentação de quando os receptores mineralocorticoide (MR) e glicocorticoide (GR) são ativados e sua ação. (Adaptado de JURUENA et al., 2013 e JÖELS et al., 2008).....	46
Figura 9. Apresentação da pontuação para ponto de corte para presença ou ausência e intensidades. De subtipos de EP (segundo BERNSTEIN et al., 2003; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014).....	65
Figura 10. Apresentação dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNP) estudados e as sondas utilizadas para discriminação alélica, com respectivos fluoróforos.	70

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO..... 30

1.1 DEPRESSÃO, TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR E TRANSTORNO BIPOLAR 31

1.2 HORMONIOS ESTERÓIDES E DEPRESSÃO 35

1.3 FATORES ENDÓGENOS (RECEPTORES DO GLICOCORTICOIDE E MINERALOCORTICOIDE E SEUS HORMÔNIOS ESTEROIDES) E EXÓGENOS (ESTRESSE PRECOCE) E SUA RELAÇÃO COM DEPRESSÃO..... 48

1.4 JUSTIFICATIVA..... 48

2. OBJETIVOS 54

2.1 OBJETIVO GERAL..... 55

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 56

3. MATERIAL E MÉTODOS..... 57

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... 58

3.2 ANALISE ESTATÍSTICA..... 58

3.3 AMOSTRA..... 60

3.3.1 Cálculo Amostral..... 60

3.3.2 Participantes..... 60

3.3.3 Critérios de Inclusão..... 61

3.3.4 Critérios de Exclusão..... 62

3.3.5 Recrutamento de Sujeitos..... 62

3.3.6 Local de Aplicação dos Testes e Triagem dos Sujeitos e Amostras Biológicas..... 62

3.3.7 Delineamento..... 63

3.4 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS..... 63

3.4.1 Avaliação Clínica e Sociodemográfica..... 63

3.4.2 Diagnóstico Psiquiátrico..... 64

3.4.3 Avaliação Psicométrica..... 66

3.4.4 Avaliação Neuroendócrina..... 68

3.4.5 Avaliação Genética 70

4. RESULTADOS..... 72

4.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS..... 73

4.2 DADOS DE ESCALAS PSICOMÉTRICAS..... 77

4.2.1 Comparação entre grupos para pontuação em escalas que mensuram depressão, ansiedade, desesperança e ideação suicida....	77
4.2.2 Influência do EP e seus subtipos sobre sintomas depressivos avaliados intra e extragrupo.....	79
4.2.2.1 Comparação entre grupos quanto à prevalência de ep.....	79
4.2.2.2 Influência do EP sobre sintomas depressivos heteroavaliados.....	80
4.2.2.3 Influência do EP sobre sintomas depressivos autoavaliados.....	83
4.3 DADOS DOS BIOMARCADORES.....	86
4.3.1 Biomarcadores Hormonais – Cortisol e Aldosterona Séricos.....	86
4.3.1.1 Cortisol Sérico.....	86
4.3.1.1.1 Influência do EP sobre os níveis de cortisol sérico.....	90
4.3.1.2 Aldosterona Sérica.....	99
4.3.1.2.1 Influência do EP e comorbidades sobre os níveis de aldosterona sérica.....	102
4.3.2 Biomarcadores genéticos – Polimorfismos de NR3C1 (GR) e NR3C2 (MR).....	113
4.3.2.1 Análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg para os genes GR e MR (amostra total e por grupo)	113
4.3.2.2 Comparação de dados sobre os polimorfismos estudados em relação a bases de dados científicas e artigo da literatura brasileira	115
4.3.2.3 Polimorfismos como biomarcadores para diferenciar unipolares e bipolares	117
4.3.3 Biomarcadores genéticos e hormonais associados para diferenciação entre unipolares e bipolares.....	120
4.3.3.1 Polimorfismos de MR e GR e cortisol sérico	120
4.3.3.2 Polimorfismos de MR e GR e aldosterona sérica	126
4.3.4 Impacto do EP em pacientes unipolares e bipolares considerando seus genótipos	132
5. DISCUSSÃO.....	136
5.1 A AMOSTRA.....	137
5.2 UNIPOLARES E BIPOLARES: INTENSIDADE DE SINTOMAS DEPRESSIVOS E O IMPACTO DO FATOR EXÓGENO, ESTRESSE PRECOCE.....	139
5.3 CORTISOL E ALDOSTERONA: FATORES ENDÓCRINOS COMO BIOMARCADORES PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE UNIPOLARES E BIPOLARES E GRAVIDADE DO QUADRO DEPRESSIVO.....	141

5.3.1 Cortisol Sérico.....	141
5.3.1.1 Alteração dos níveis de cortisol sérico frente ao estresse precoce, intensidade do quadro depressivo e comorbidades	144
5.3.2 Aldosterona Sérica.....	146
5.3.2.1 Alteração dos níveis de aldosterona sérica frente ao estresse precoce, intensidade do quadro depressivo e comorbidades.....	148
5.4 POLIMORFISMOS DE GR E MR: FREQUÊNCIAS DE GENÓTIPOS E DE ALELOS PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE UNIPOLAR E BIPOLAR....	151
5.4.1 Influência dos polimorfismos de MR e GR sobre os níveis de cortisol.....	152
5.4.2 Influência dos polimorfismos de MR e GR sobre os níveis de aldosterona.....	154
5.4.3 Gravidade do quadro depressivo em função dos genótipos de GR e MR.....	156
5.4.3.1 Suscetibilidade de unipolares ou bipolares a apresentar quadro mais grave de depressão após exposição a EP em função do genótipo.....	156
5.5 DISCUSSÃO DE PONTOS PRINCIPAIS ENCONTRADOS.....	158
5.6. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	161
6. CONCLUSÃO	163
REFERÊNCIAS.....	165
ANEXOS.....	179
ANEXO 1 – ARTIGO MENEZES & JURUENA (2017).....	180
ANEXO 2 – ARTIGO JURUENA et al. (2015).....	188
ANEXO 3 – ARTIGO MENEZES et al. (2019).....	196
ANEXO 4 - MINI PLUS.....	206
ANEXO 5 - GRID-HAM-D ₂₁	207
ANEXO 6- CTQ.....	208
ANEXO 7- BAI.....	209
ANEXO 8- BDI-II.....	209
ANEXO 9- BHS.....	209
ANEXO 10- BSI.....	209
APÊNDICE.....	210
APENDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	211
APENDICE 2 – QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO.....	213

APENDICE 3 - POLIMORFISMO RS5522 E TEMAS DE ESTUDO NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL..... 214

APÊNDICE 4 - POLIMORFISMO RS2070951 E TEMAS DE ESTUDO NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL..... 215

APÊNDICE 5 - POLIMORFISMO RS56149945 E TEMAS DE ESTUDO NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL..... 216

APÊNDICE 6 - POLIMORFISMO RS6190 E TEMAS DE ESTUDO NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL..... 218

APÊNDICE 7 - POLIMORFISMO RS41423247 E TEMAS DE ESTUDO NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL..... 220

1. INTRODUÇÃO

1.1 DEPRESSÃO, TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR E TRANSTORNO BIPOLAR

Depressão é uma doença comum, recorrente e crônica, que acomete o organismo do indivíduo como um todo, afetando o humor, as funções cognitivas, neuroendócrinas e outros sistemas do organismo, prejudicando o bem-estar pessoal, social e laboral. Cabe salientar que, atualmente a depressão é considerada a primeira causa de incapacitação no mundo (OMS, 2017) e apresenta alta taxa de alta prevalência ao longo da vida (depressão unipolar - 10-25% das mulheres e 5-12% dos homens; depressão bipolar I e II – 1,5% para ambos os sexos) (APA, 2000; KEMP et al., 2008). A depressão é multifatorial (etiologia intrínseca e extrínseca) e heterogênea, pois existem diferentes subtipos de depressão, cada qual contendo peculiaridades em sua sintomatologia (APA, 2000, 2013; JURUENA & CLEARE, 2007; JURUENA et al., 2018; MENEZES & JURUENA, 2017; MENEZES et al., 2019; WHO, 2018).

Um quadro depressivo maior é associado tanto ao transtorno depressivo maior (TDM - cuja depressão é caracterizada como unipolar), quanto ao transtorno bipolar (TB - cuja depressão é caracterizada como bipolar) e caracteriza-se pela presença, durante duas semanas ou mais, todos os dias, maior parte do dia, de humor deprimido e/ou apatia, somados a cinco dos seguintes sintomas: alteração de sono (insônia ou hipersonia), alteração cognitiva, alteração de apetite, alteração de peso, ideação suicida, culpabilidade, fadiga, agitação ou retardo motor (APA, 2013; WHO, 2018). O fator principal que difere a depressão unipolar da depressão bipolar é que no TB, além dos episódios depressivos, ocorrem episódios quadros maníacos e/ou hipomaníacos, e/ou mistos. Os episódios de mania e de hipomania são caracterizados por humor expansivo, elevado, ou irritadiço, seguido de três ou mais das seguintes características: diminuição da necessidade de sono; distractibilidade acentuada; sentimento de grandiosidade; necessidade acentuada de falar; agitação psicomotora; envolvimento em atividades de risco (sexual, físico ou financeiro, por exemplo). Quando tais sintomas pertencem a um quadro de mania, podem ser acompanhados de sintomas psicóticos e comprometem significativamente o funcionamento ocupacional e/ou social do

indivíduo. A duração dos quadros de mania é de uma semana ou mais. Em caso de hipomania, ocorrem os mesmos sintomas citados acima, no entanto, não há presença de sintomas psicóticos. Os sintomas de hipomania não devem influenciar de forma grave funcionamento ocupacional e/ou social, tornando-os mais difíceis de se diagnosticar. Na hipomania, os sintomas persistem por quatro dias ou mais (APA, 2013; MENEZES & JURUENA, 2017; WHO, 2018). Até a 4ª edição revisada do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) – (DSM-IV-TR; APA, 2000), TDM e TB compunham o capítulo chamado de Transtornos de Humor ou Transtornos Afetivos. Na 5ª edição do DSM (DSM-5; APA, 2013), TDM ganhou um capítulo chamado de Transtornos Depressivos e o TB, Transtornos Bipolares e Relacionados (MENEZES & JURUENA, 2017).

Os quadros depressivos unipolares e bipolares são semelhantes. Sem se ter conhecimento da existência de um quadro prévio de mania/hipomania ou quadro misto, não é possível realizar o diagnóstico de TB. Por isso, muitas vezes, sujeitos bipolares são erroneamente diagnosticados como unipolares. Segundo o DSM-5 (APA, 2013), isso acontece em aproximadamente 12% dos casos, e, apenas 20% dos pacientes bipolares recebem o diagnóstico correto no primeiro ano de tratamento (GRANDE et al., 2016; MENEZES & JURUENA, 2017). Young & MacPherson (2011) apontam estudos que mostram que 40% a 50% dos pacientes bipolares tipo II e do espectro bipolar (os quais são maioria dentro do transtorno bipolar) levam em torno de 10 anos para receber o diagnóstico correto. O início do tratamento de sujeitos bipolares, se tratados como unipolares, dá-se com a administração de antidepressivos, sem o uso de estabilizadores do humor. Consequentemente, ocorre uma melhora bastante rápida de sintomas negativos, mas, em seguida, há grande probabilidade de haver uma rápida ciclagem para quadro misto ou hipomania/mania. Outra consequência do tratamento incorreto do paciente bipolar é que seus quadros depressivos tendem a se tornar crônicos e mais graves. Pacientes bipolares já apresentam uma ideação suicida mais frequente que os pacientes depressivos unipolares. Ao iniciarem o tratamento com antidepressivos em monoterapia, esse risco aumenta significativamente (GRANDE et al., 2016; MARI & PITTA, 2011; MENEZES & JURUENA, 2017; MENEZES et al., 2019; STAHL, 2013; YOUNG & MacPHERSON, 2011).

Para apresentar os dados mais atuais e profundos sobre depressão – o conceito, epidemiologia, etiologia, subtipos, transtornos associados, diagnóstico diferencial entre depressões unipolares e bipolares e o tratamento – segue anexo à tese (ANEXO 1; MENEZES & JURUENA, 2017) que publicamos na revista de medicina da USP, para o qual buscamos os dados mais atualizados, inclusive em relação ao DSM-5 (APA, 2013).

Os fatores etiológicos de depressões unipolar e bipolar podem ser genéticos e ambientais. Dentre os fatores genéticos, podem-se citar alterações o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), assim como alteração no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), tendo sido os genes dos receptores destes eixos e seus hormônios (cortisol e aldosterona) alvos de estudo do presente trabalho. Dentre os fatores ambientais associados à depressão, pode-se citar a exposição a estresse precoce (WITHERS et al., 2013). Em torno de 60% dos casos de depressão foram precedidos por estressores, principalmente do tipo psicossocial. Associados à depressão na idade adulta estão exposição a estressores na infância, como morte dos pais ou cuidador responsável, privação materna, abandono pelos pais, separação dos pais e divórcio. Cerca de um quarto a um terço das crianças que passaram por esses estressores irão desenvolver depressão maior no final da segunda década de vida. Assim, pode-se considerar este um problema de saúde pública (JURUENA et al., 2015; CARPENTER et al., 2009; CARR et al., 2013; HEIM et al., 2008, 2010; MARTINS et al., 2011; MARTINS-MONTEVERDE et al., 2019; MELLO et al., 2007).

O estresse precoce (EP) pode ser definido por situações extremamente estressantes e/ou traumáticas vividas por um indivíduo no período da infância e adolescência. O EP abrange perda parental, divórcio parental, doenças na infância, violência familiar e exposição a cuidadores com transtornos psiquiátricos não-tratados. Ainda, há cinco classificações bem descritas de EP, que tem sido bastante abordados na literatura, e que conseguem ser detectadas por meio da aplicação de uma escala chamada “Questionário de Traumas na Infância (*Childhood Trauma Questionnaire* – CTQ)”, desenvolvida inicialmente por Bernstein et al. (1998, 2003). Tais subtipos de EP são **ABUSO EMOCIONAL**

(AE) – Agressão verbal contra o senso de valor ou de bem-estar da criança ou qualquer comportamento para humilhar ou denegrir a criança por parte de adultos ou mais velhos; **ABUSO FÍSICO (AF)** - Agressão física à criança praticada por adultos ou mais velhos que dispõe da capacidade ou quando há risco de ferir fisicamente a criança; **ABUSO SEXUAL (AS)** – Contato ou conduta sexual de um adulto ou mais velho para com um menor de idade; **NEGLIGÊNCIA EMOCIONAL (NE)** - Falha por parte dos cuidadores de prover as necessidades emocionais e psicológicas básicas à criança, como amor, senso de pertencimento, nutrição e apoio; **NEGLIGÊNCIA FÍSICA (NF)** - Falha por parte dos cuidadores de prover as necessidades físicas básicas, como alimentação, abrigo, vestimentas e cuidados à saúde (BERNSTEIN et al., 1998; 2003; CARR et al., 2013; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014).

O EP deixa graves cicatrizes na vida do indivíduo, psicológica e biologicamente. Vários estudos apontam as inúmeras alterações epigenéticas e neuroendócrinas que contribuem para ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos a partir da experiência de EP, pois é a infância o período de maior plasticidade do sistema nervoso central (BRADLEY et al., 2008; BRUNSON et al., 2001; BUNEA et al., 2017; CARPENTER et al., 2009; CARR et al., 2013; CATTANEO et al., 2015; CHEN et al., 2014; COHEN et al., 2006; FOGELMAN & CANLI, 2018; HEIM et al., 2008, 2010; JURUENA et al., 2015; MARTINS-MONTEVERDE et al., 2019; WATSON et al., 2014; WILKINSON & GOODYER, 2011).

O artigo de revisão sistemática de Carr et al. (2013) demonstrou associação de EP e seus subtipos ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos. Os artigos revisaram apontaram que os transtornos de ansiedade, psicóticos, alimentares e de personalidade estariam associados a todos os subtipos de EP; transtornos de humor e de abuso de substâncias estariam relacionados a todos, exceto NF; transtorno do estresse pós-traumático estaria relacionado a todos, exceto NE; transtornos dissociativos, apenas a NE; e transtornos disruptivos, a AF e AS.

O EP e seus subtipos induzem mudanças persistentes na habilidade do eixo HPA responder ao estresse na idade adulta e, esse fato, pode levar a uma suscetibilidade maior ao desenvolvimento de depressão. Essas anormalidades

do eixo parecem estar relacionadas às alterações na habilidade do cortisol circulante em exercer a retroalimentação negativa na secreção de hormônios do eixo HPA ao se ligarem aos MR e GR. Indivíduos com depressão e que sofreram EP apresentam maior predisposição ter o eixo HPA hiper ou hipofuncionante (HEIM et al., 2008; JURUENA, 2014; TUNNARD et al., 2014; von WERNE BAES et al., 2012).

1.2 HORMÔNIOS ESTERÓIDES E DEPRESSÃO

Hormônios esteroides (mineralocorticoides, glicorticoides e esteroides) são produzidos a partir do colesterol. O cortisol é o hormônio responsável por 95% da atividade glicocorticoide e a aldosterona é responsável por 90% da atividade mineralocorticoide (ARRIZA et al., 1987, 1988; BESSER & THONER, 2002; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017). Abaixo, segue um esquema demonstrando a produção de cortisol e aldosterona a partir do colesterol (Figura 1).

Figura 1. Esquema simplificado apontando a produção do cortisol e aldosterona a partir do colesterol (Adaptado de NELSON & COX, 2014).

Ambos, o cortisol (Figura 2) e a aldosterona (Figura 3), são produzidos no córtex da adrenal - o cortisol na região fasciculada, e os mineralocorticoides, na zona glomerulosa. Em humanos, a concentração de glicocorticoides circulantes é maior do que a concentração de aldosterona circulante (ARRIZA et al., 1987, 1988; BESSER & THONER, 2002; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017).

Cortisol (ou hidrocortisona)

(8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*S*,14*S*,17*R*)-11,17-dihydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10,13-dimethyl-2,6,7,8,9,11,12,14,15,16-decahydro-1*H*-cyclopenta[*a*]phenanthren-3-one

Figura 2. Representação da molécula de cortisol, sua fórmula molecular e seu nome de registro segundo União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (Disponível em: NCBI. PubChem Database. Hydrocortisone, CID=5754, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5754>).

Aldosterona

(8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*R*,14*S*,17*S*)-11-hydroxy-17-(2-hydroxyacetyl)-10-methyl-3-oxo-1,2,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydrocyclopenta[*a*]phenanthrene-13-carbaldehyde

Figura 3. Representação da molécula de aldosterona, sua fórmula molecular e seu nome de registro segundo União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (Disponível em: NCBI. PubChem Database. Aldosterone, CID=5839, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5839>).

O cortisol e a aldosterona podem ser transportados ligados a proteínas - como a transcortina (cortisol) e a albumina - ou em sua forma livre. Ambas as formas hormonais, ligadas a proteínas ou livres, são transportadas através do compartimento de fluido extracelular. Como o cortisol apresenta maior parte de sua fração - 90-95% - ligada a proteínas carreadoras, sua meia vida é mais longa - 60 a 90 minutos. A aldosterona apresenta meia-vida mais curta - cerca de 20 minutos - pois apenas 60% apresenta-se ligada à proteína, acelerando sua eliminação. A metabolização dos glicocorticoides e mineralocorticoides é feita no fígado, onde são degradados e conjugados especialmente com ácido glucurônico e, uma pequena parte, com sulfatos. Um quarto de tais conjugados é eliminado nas fezes e bile, enquanto o restante é carregado livremente no plasma e por meio da filtração renal, será eliminado pela urina (ARRIZA et al., 1988; BESSER & THONER, 2002; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017). O intervalo de valores de aldosterona para um indivíduo saudável adulto em posição ortostática e dieta normossódica varia entre 7-30 ng/dL ou 194,18- 832,2 pmol/L (sistema internacional de unidades - SI) no soro e de 3-19 ug/dia ou 8,32- 52,71 nmol/dia (SI) na urina de 24 horas; para o cortisol, o intervalo para adultos saudáveis pela manhã (7h-9h) é de 5-23 ug/dL ou 137,95 - 634,57 nmol/dL no soro (BURTIS, 2011).

O funcionamento do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) está representado esquematicamente na Figura 4. Este eixo atua na liberação de cortisol quando os neurônios hipotalâmicos supraquiasmáticos liberam o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina (AVP) que, por sua vez, estimulam a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o qual irá promover a liberação de cortisol ao estimular o córtex da adrenal. O cortisol liberado irá se ligar aos receptores, resultando em respostas diversas, incluindo a retroalimentação negativa, encerrando a alça de liberação hormonal de cortisol. O ACTH aumenta a produção de hormônios esteroides, inclusive aldosterona, pela mobilização de colesterol nas células corticais da adrenal. Após a liberação de cortisol, o mesmo irá realizar uma resposta de retroalimentação negativa para cessar sua liberação (GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; JURUENA et al., 2004).

Figura 4. Esquema simplificado mostrando o funcionamento do Eixo Hipotálamo-Hipófise/Pituitária (HPA) (Adaptado de CHROUSOS & KINO, 2007, 2009). ACTH: hormônio adrenocorticotrófico;. AVP: vasopressina; CRH: hormônio corticotrófico (corticotrofina), (+) estímulo para liberação; (-) inibição da liberação.

Quanto à liberação e ação dos mineralocorticoides, deve-se considerar o conhecido sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A aldosterona é sintetizada pela enzima aldosterona sintase e liberada pela concentração extracelular de angiotensina II e íon potássio (BESSER & THONER, 2002; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017). Sua ação regula a homeostase hemodinâmica por meio do controle do balanço eletrolítico ao promover a reabsorção renal de sódio e aumento da excreção de potássio simultaneamente pelas células principais dos ductos coletores e, em menor parte, pelos túbulos distais e ductos coletores (GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014). A aldosterona também exerce ação sobre as células epiteliais das glândulas sudoríparas, bexiga e trato gastrointestinal (KLOET & JÖELS, 2017).

Figura 5. Esquema simplificado sobre o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (Adaptado de BARRAS et al., 2009).

A ação do cortisol e da aldosterona se dá a partir de sua ligação a receptores chamados de receptores de mineralocorticoide (MR) e receptores de glicocorticoides (GR) (JURUENA et al., 2015; KLOET & JÖELS, 2016; HALL & GUYTON, 2017).

O gene codificante de GR humano (hGR ou GR) que é conhecido pelo nome Receptor nuclear da subfamília 3, grupo C, membro 1 (NR3C1) e está situado no cromossomo 5 (5q31.3). O receptor de GR humano (hGR) teve seu DNA codificante clonado pela primeira vez em 1985 por Hollenberg e colaboradores e teve sua estrutura compreendida por Encío & Detera-Wadleigh no ano de 1991 (BRAY & COTTON, 2003).

A estrutura gênica NR3C1 (Figura 6) é composta por 9 éxons e um tamanho mínimo de 80 kilobases. À 5' estão flanqueadas várias repetições GC

e elementos TATA e CAAT (*GC boxes*, *TATA boxes*, *CAAT boxes*). O éxon 1 é composto por 2 sítios putativos e 7 regiões, sequências estas que não sofrem tradução, mas que regulam a expressão de GR. O éxon 2 codifica a porção amino-terminal de GR que é formado por 395 resíduos, a qual está associada à função de transativação dentro do receptor. À 5' UTR (*untranslated region*) do éxon 2 fica situada a região promotora do gene. O éxon 2 compreende tal 5' UTR e mais de 1000 pares de bases (pb) codificantes. Os dois *zinc fingers* putativos são codificados separadamente pelos éxons 3 (167pb) e 4 (117pb). Ao resíduo *C de TAC*CCTC está presente o local onde ocorre o início da transcrição gênica. Existem também três sítios de *splicing* diferentes dentro do domínio de ligação do DNA. Os éxon 3 e 4 são interrompidos por um íntron com comprimento de 400pb. O domínio de ligação do cortisol é resultado da combinação de cinco éxons. O íntron localizado entre o éxon 2 e 3 possui um comprimento de 30 kilobases. O éxon 5, composto por 280pb, contém resíduos que atuam na transativação. O domínio de ligação do cortisol e segundo domínio de transativação é montado pela região 3' do éxon 5, pelos éxons 6,7 e 8, e pela região 5' do éxon 9. Os tamanhos dos éxons 5, 6, 7, 8, e 9, são, respectivamente, 351pb, 145pb, 131pb, 158 pb e 2733pb. O éxon 9 possui 2 regiões – 9alfa e 9 beta – às quais, por *splicing* resultam na produção das isoformas proteicas de GR - GR- α (codifica 777 aminoácidos – AA) e GR- β (codifica 742 AA), respectivamente. As isoformas de GR diferem entre si pela presença de radical carboxil terminal e pela incapacidade de GR- β de se ligar aos glicocorticoides. Alguns estudos apontam que GR- β atuaria no papel de inibidor de GR- α (a isoforma mais clássica). Ambas isoformas passam por distintas modificações pós-transcricionais para modulação de sua estabilidade proteica e funcional. (BRAY & COTTON, 2003; CLAES, 2003; DeRIJK & De KLOET, 2005; ENCÍO & DETERA-WADLEIGH, 1991; GROSS et al., 2009; HOLLENBERG et al. 1985; MAJER-ŁOBODZIŃSKA & ADAMIEC-MROCZEK 2017; SOUZA et al., 2014).

Ainda sobre o receptor GR- α , pode-se mencionar que sua composição possui inúmeros domínios. São eles: a) Domínio de ativação N-terminal (AF-1): é responsável pela ativação do receptor e interação com outros fatores de transcrição; b) Domínio de Ligação ao DNA (DBD) Central: permite que o GR se

ligue ao DNA por meio de seus *zinc fingers* ; c) Laço ou *loop* de dimerização (*D-loop*) atua na formação de dímeros quando o GR está ativo – é composto por cinco resíduos de aminoácidos; d) Domínio de Sinal de Localização Nuclear (NLS): uma região articulada responsável por translocar o receptor para o núcleo, atuando na mudança conformacional do receptor GR ao se ligar a seu substrato (hormônio); e) Domínio de ativação C-terminal (CBD): domínio que permite GR se ligar a outras proteínas coativadoras (MAJER-ŁOBODZIŃSKA & ADAMIEC-MROCZEK, 2017).

Figura 6. Estrutura gene GR (NR3C1) e nele estão apontadas a localização dos polimorfismos que foram estudados neste trabalho (R22/23K; N363S e BclI) (Adaptado de BRAY & COTTON, 2003; CLAES et al., 2009; ENCÍO & DETERA-WADLEIGH, 1991).

O gene codificante de MR humano (hMR ou MR; figura 7), que é conhecido pelo nome receptor nuclear da subfamília 3, grupo C, membro 2 (NR3C2), possui um tamanho de 363729 pb e está localizado no cromossomo 4 (4q31.23) (dbSNP Build ID: {build ID}). Este gene é constituído por 9 éxons, assim como o GR, mas o éxon 1 é dividido em 2 unidades (1α e 1β), ambas sendo apenas 5'UTR, mas que permitem ocorrer *splicing* alternativo e formação de diferentes variantes de MR (hMRα e hMRβ). Tais formas variantes de hMR são reguladas por dois promotores distintos. Tais promotores que contêm múltiplas sequências CG em vez de TATA *boxes* (ZENNARO et al., 1995).

Figura 7. Estrutura do gene MR (NR3C2) e nele estão apontadas a localização dos polimorfismos que foram estudados neste trabalho (MI180V e -2GC) (Adaptado de ZENNARO et al. 1995).

A parte N-terminal (NTD) do receptor é codificada pelo éxon 2, o qual contém 2pb correspondentes à sua 5'UTR e 1757 pb codificantes. A NTD é composta por domínios funcionais (AF-1a que é um domínio central, e AF-1b), os quais são responsáveis pelo recrutamento de co-reguladores que modulam de forma seletiva a atividade transcricional de MR. Os éxons 3 e 4 codificam cada um dos dois *zinc fingers* presentes no domínio de ligação do DNA (DBD) do receptor. O DBD é composto por 66 aminoácidos (AA). Os éxons de 5 a 9 codificam o sítio de ligação ao hormônio (LBD) de MR, é composto por 251 aminoácidos. O LBD inclui o domínio funcional AF-2 dependente de ligante. A cada ligação, o LBD passa por um rearranjo em sua estrutura. Éxons 4, 6, 7 e 8 possuem o mesmo número de bases. As sequências de AA das regiões DBD e LBD de GR e MR apresentam alto grau de homologia, mas seus genes claramente mostram padrão de expressão tecido-específica diferentes. O gene MR é regulado por vários promotores alternativos, permitindo haver maior flexibilidade no controle de expressão. Tais promotores costumam ser associados a uma expressão gênica tecido ou desenvolvimento-específicos (ARRIZA et al., 1987; VIENGCHAREUN et al., 2007; ZENNARO et al., 1995).

Em 1988, Arriza e colaboradores, após clonarem GR e MR humanos, demonstraram as diferenças de responsividade dos GR e MR ao cortisol. Os MR seriam responsáveis pelas respostas aos glicocorticoides em nível basal, enquanto os GR seriam mais responsáveis quando houvesse alto nível de cortisol

circulante, como nos que ocorrem frente a situações de estresse, picos/ondas circadianos, em resposta à inflamação, ou gliconeogênese em situação de hipoglicemia (ARRIZZA et al., 1987, 1988; De KLOET et al., 2005; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017).

A atividade mineralocorticoide da aldosterona são altas o suficiente para manter a ativação do receptor ativado por intervalos de uma hora. Já o GR responde de forma ultradiana, considerando a sua baixa afinidade por cortisol e que é ativado progressivamente pelo aumento da frequência e amplitude das liberações hormonais de cortisol, como as que ocorrem em situações de grande ou estresse continue e nos picos circadianos (De KLOET et al., 2005). O GR, no citoplasma são monômeros que interagem de forma direta com outras proteínas regulatórias extranucleares e alteram a expressão gênica de forma indireta. Quando inativo, o GR no citoplasma está ligado a proteínas inativadoras, como chaperonas (p.e. hsp90, hsp70, hsp56). Quando no núcleo, o GR se em forma de dímeros. Os GR são receptores de ação genômica, por atuarem ou exercerem influência sobre a regulação gênica (LOSEL et al., 2003; MAJER-ŁOBODZIŃSKA & ADAMIEC-MROCZEK, 2017; MITRE-AGUILAR et al., 2015). Os GR no citoplasma podem apresentar ações não-genômicas, onde produzem alterações rápidas na atividade das vias de transdução de sinal (ALANGARI, 2010; LOSEL et al., 2003; MAJER-ŁOBODZIŃSKA & ADAMIEC-MROCZEK, 2017).

Apesar de MR possuir uma afinidade a cortisol maior do que GR (dez vezes maior), ele recebe esse nome pois exerce um papel chave na homeostase hemodinâmica por modular o transporte de íons e fluidos ao ligar-se com os mineralocorticoides (GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & , 2014). Na literatura mais antiga, considerando sua alta afinidade, MR era conhecido como receptor de corticosteroide tipo 1, enquanto GR era conhecido por receptor de corticosteroide tipo 2 (REUL & KLOET, 1985; MEIJER et al., 2000). Os MR e GR são expressos em vários tecidos. Ambos receptores produzem resposta a partir de elementos comuns de resposta a DNA e quando coexpresso podem ativar uma série de genes em conjunto (ARRIZA et al., 1988).

Os receptores podem atuar de forma sinérgica ou antagônica (GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014). Os MR atuam em uma parte limitada da rede gênica responsiva a GR, quando os níveis de cortisol estão baixos. No entanto, a atividade gênica máxima se daria quando houvesse a atividade de GR, a qual é estimulada por níveis mais altos de cortisol, como quando em situações de estresse (ARIZZA et al., 1988; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014).

Assim como os GR, os MR também se classificam como MR de ação lenta (ação genômica), MR de ação rápida (ação não-genômica). Inicialmente, o cortisol se liga aos MR de ação lenta (ação genômica), devido à sua maior afinidade e de forma contínua, ainda quando o hormônio se apresenta em níveis basais. Tais receptores são continuamente ativados e regulam o limiar de resposta ao estresse. Os MR de ação lenta promovem o tráfego de canais iônicos e receptores entre o compartimento intracelular e a superfície celular. Havendo o aumento dos níveis de cortisol frente a uma situação aguda de estresse, os MR de resposta rápida (não-genômica) são ativados em questão de minutos. Tais MR estão situados na ou próximos à membrana plasmática de terminais pré e pós-sinápticos - principalmente dos pré-sinápticos -, e apresentam uma afinidade menor pelo cortisol do que o MR de ação lenta. Os MR de ação rápida irão atuar sobre os canais iônicos dependentes de voltagem ou ligante-dependentes, aumentando a probabilidade de ocorrer a liberação de vesículas sinápticas de glutamato. Neste momento, ocorre também a motilidade lateral das subunidades dos receptores de glutamato (De KLOET et al., 2005; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL & GUYTON, 2017; JÖELS et al., 2008, 2013).

Considerando o contexto cognitivo da ação dos MR de ação rápida e lenta, o de ação rápida atuaria na aprendizagem de uma estratégia simples para facilitar a codificação da memória aversiva. Haveria uma resposta rápida para reação imediata ao perigo e formação de estratégias a perigo imediatos, que a longo prazo podem não ser muito adaptativas, pois a memória de trabalho e a capacidade de tomada de decisão de forma consciente estariam prejudicadas.

Já o MR de ação lenta atuaria na melhora de formação de memórias conceituais, assim como melhora da memória de trabalho a capacidade de tomada de decisão de forma mais racional, com menos interferência emocional. A resposta retardada deste MR em relação ao de membrana é importante para que haja a recuperação pós-estresse e armazenamento de informações que sejam relevantes para um uso futuro. Em seguida à ação dos MR de ação lenta, inicia-se a ativação dos receptores GR (ação genômica). Para sua ação, os GR ligam a receptores intracelulares e são translocados ao núcleo, onde irão afetar a transcrição gênica por meio de transrepressão – processo exercido por uma proteína quando esta inibe a atividade de outra proteína. Na fase de recuperação tardia, os monômeros de GR, por transrepressão, interagem com fatores de transcrição. Porém, essa supressão não é uniforme. Dímeros de GR também podem, contrariamente à ação anterior, ativar sistemas de CHR extra-hipotalâmicos, sistemas aminérgicos ascendentes e enzimas metabólicas. Os MR de membrana atuam sinergicamente com o receptor CRH, AVP e melanocortinas para as reações de neuroendócrinas, simpáticas, de medo, ou de luta-ou-fuga. Enquanto isso, os GR atuam na tentativa de suavizar as reações do estresse inicial. O balanço adequado do funcionamento de MR/GR é fundamental para a homeostase do organismo, ou sua falta pode resultar em funcionamento inadequado ou excessivo, comprometendo a resiliência e promovendo o fenótipo vulnerável a doenças relacionadas à exposição ao estresse (De KLOET et al., 2005; GOMEZ-SANCHEZ & GOMEZ-SANCHEZ, 2014; HALL, 2014; JÖELS et al., 2008, 2013).

NÍVEL DE CORTISOL	RECEPTOR	FUNÇÃO
BASAL	MR (ação genômica)	<ul style="list-style-type: none">○ Estabilização da excitabilidade○ Sensibilidade do sistema de resposta ao estresse○ Retroalimentação proativa○ Seleção de resposta comportamental
FRENTE A ESTRESSE	MR + GR	<ul style="list-style-type: none">• Supressão da resposta exacerbada ao estresse• Recuperação ativação do sistema de resposta ao estresse• Retroalimentação reativa• Facilitação de formação de memória

Figura 8. Apresentação de quando os receptores mineralocorticoide (MR) e glicocorticoide (GR) são ativados e sua ação (Adaptado de JURUENA et al., 2013; JÖELS et al., 2008).

Em 1985, Reul & De Kloet descreveram a distribuição dos MR e GR no encéfalo de ratos e sua afinidade de ligação por corticosteroides. Foi possível observar a diferença topográfica considerável no encefálo como um todo e no hipocampo entre os dois receptores. MR estaria mais restrito ao septo lateral e hipocampo (subículo dorsal, CA1 e giro denteado). GR apresentar-se-ia de forma mais dispersa pelas regiões do septo lateral, giro denteado, núcleo do trato solitário, amígdala cortical, núcleo paraventricular, locus ceruleus, subículo hipocampal e região CA1. Artigos da literatura atual corroboram com a informação. Segundo De Kloet et al. (2005) e Reul et al. (2015), a distribuição de GR é variada e desigual pelos neurônios e células gliais e sua maior densidade estaria na região parvocelular do núcleo paraventricular (PVN) hipotalâmico e nos neurônios límbicos aferentes que modulam PVN transsinapticamente por vias que reforçam com uma rede inibitória hipotalâmica GABA que circunda o PVN. Altas concentrações de GR também apresentam-se no hipocampo, neocórtex e núcleo supraóptico. O sistema límbico expressa MR, principalmente, no giro denteado, áreas CA1 e CA2 hipocampais, septo lateral e amígdala. A coexpressão de MR e GR pode ser observada claramente em células piramidais do hipocampo, giro denteado, núcleo amigdaliano e lateral septal e áreas corticais.

A interação do sistema SRAA e do eixo HPA tem sido cada vez mais enfatizada. Os trabalhos de Murck et al. (2012, 2014) apresentam de forma bastante clara a interação entre SRAA e outros sistemas importantes. A atividade simpática e a secreção dos neuropeptídeos CRH e AVP pelo hipotálamo (núcleo paraventricular - PVN) estimula a pituitária a liberar ACTH. O ACTH irá induzir o córtex da adrenal a secretar cortisol. O SRAA, além disso, a atividade simpática depende da ativação do locus coeruleus (LC), o qual está conectado ao PVN, fazendo esse ciclo ter uma retroalimentação positiva. Após a noradrenalina (NA) ser produzida pelo sistema nervoso simpático, a NA aumenta a secreção de CRH (a partir do PVN) e este, por sua vez, ativa a liberação de NA pelo LC. O sistema nervoso simpático irá enviar sinal para conversão do angiotensinogênio em angiotensina I (ATI) pela enzima renina, e a ATI será convertida em angiotensina II (ATII) pela enzima conversora de angiotensina (ECA). A ATII irá estimular a liberação de aldosterona pelo córtex da adrenal (HALL & GUYTON, 2017; MURCK et al., 2012, 2014;).

A atividade de PVN e LC depende das estruturas límbicas, principalmente das aferências amigdalíanas. Existem também conexões entre hipocampo e PVN. Tais conexões são medidas pelos neuropeptídeos ácido gama-aminobutírico (GABA), glutamato e CRH. A partir de certo nível, o cortisol circulante poderá inibir (ao ligar-se no PVN ou hipocampo) ou acelerar (ao ligar-se a receptores amigdalíanos) a atividade do eixo HPA. O acesso do cortisol e aldosterona ao encéfalo é regulado pela barreira hematoencefálica, via glicoproteína-p. A liberação de CRH a partir do PVN parece ser resultado da estimulação direta de ATII. O NTS tem conexão estreita com o sistema nervoso simpático e é o principal alvo específico do sistema nervoso central (SNC) para a aldosterona. Além disso, recebe aferências e manda eferências para núcleo central amigdaliano e hipotalâmico (HALL & GUYTON, 2017; MURCK et al., 2012, 2014).

1.3 FATORES ENDÓGENOS (RECEPTORES DO GLICOCORTICOIDE E MINERALOCORTICOIDE E SEUS HORMÔNIOS ESTEROIDES) E EXÓGENOS (ESTRESSE PRECOCE) E SUA RELAÇÃO COM DEPRESSÃO

O EP tem um papel significativo como fator etiológico nas anormalidades deste eixo nos quadros depressivos, como já demonstrados em alguns estudos presentes na literatura, considerando que o eixo HPA é ativado em resposta à maioria dos estressores. No entanto, a literatura permanece controversa quanto à hipo ou à hiperativação deste eixo em pacientes depressivos (BUNEA et al., 2017; CARPENTER et al., 2009; CARR et al., 2013; FOGELMAN & CANLI, 2018; HEIM et al., 2008; JURUENA, 2014; JURUENA et al., 2015; NEWPORT et al., 2004; NEMEROFF et al., 2003; SHEA et al., 2005; von WERNE BAES et al., 2012).

Para avaliar o funcionamento dos GR e MR em sujeitos com depressão, alguns pesquisadores, a partir da década de 70, iniciaram a realização de desafios farmacológicos. Tais desafios consistem na administração de fármacos agonistas e antagonistas de GR e MR e a observação dos níveis de cortisol (JURUENA et al., 2015).

O primeiro teste desenvolvido para avaliar a função de GR em pacientes com depressão, utilizava apenas a administração de dexametasona (agonista GR) e é conhecido por teste de supressão por dexametasona (DST). Foi o desafio mais amplamente utilizado, mas sua sensibilidade é baixa (20 a 50%) (CARROLL et al., 1976; JURUENA et al., 2015). Em seguida, foi desenvolvido o teste DST com estimulação de corticotrofina (desafio DEX/CRH), cuja sensibilidade é alta (>80%) (VON BARDELEBEN & HOLLSBOER, 1991). A limitação destes testes é que o cortisol possui afinidade tanto por GR quanto por MR, mas estes consideram apenas a sensibilidade de GR ao utilizar a dexametasona. Mais adiante, Pariante et al. (2002) desenvolveram um novo desafio utilizando prednisolona (Teste de Supressão por Prednisolona - PST), fármaco este que apresenta comportamento mais semelhante ao cortisol do que

à dexametasona. A prednisolona tem afinidade tanto por GR quanto por MR. Nos trabalhos de Juruena et al. (2006, 2009, 2010) que utilizaram o PST, foi possível observar que os pacientes depressivos apresentavam uma disfunção seletiva da sensibilidade de GR, enquanto a de MR permanecia intacta.

Para avaliação dos MR no eixo HPA de pacientes depressivos, novos desafios foram criados. Dessa vez, por meio da administração de fludrocortisona (agonista MR) e espironolactona (antagonista MR). Para avaliação de função de MR, os sujeitos dos estudos de Baes et al. (2014) e Otte et al. (2010) ingeriram fludrocortisona (agonista MR) e os sujeitos dos estudos de Juruena et al. (2013) e Young et al. (2003) ingeriram espironolactona (antagonista MR). Baes et al. (2014) encontraram um aumento no funcionamento da atividade de MR em pacientes depressivos comparados a controles, assim como Young et al. (2003); Otte et al. (2010) e Juruena et al. (2010), uma redução.

Um artigo escrito por nosso grupo de pesquisa (ANEXO 2; JURUENA et al., 2015) revisou os resultados encontrados na literatura sobre a função de GR e MR na depressão e influência de EP sobre o funcionamento do eixo HPA. Comparando-se os resultados obtidos pelos estudos que compuseram esta revisão, pode-se observar que esses ainda são controversos. Artigos que abordam o papel da aldosterona (e a função do SRAA) em pacientes depressivos ainda são escassos (MURCK et al., 2012, 2014), principalmente se comparada à quantidade de estudos existentes que avaliam cortisol (e eixo HPA) neste mesmo grupo.

Como pacientes com depressão apresentam uma disfunção do eixo HPA e SRAA, é possível que polimorfismos presentes em seus receptores (GR e MR) contribuam para desequilíbrio nestes eixos e tais alterações serem os agentes etiológicos de distúrbios depressivos (DeRIJK et al., 2006, 2008; VALIENGO et al., 2012; Van LEEUWEN et al., 2010), na presença ou não de EP (JURUENA et al., 2015; McGOWAN et al., 2009; OBERLANDER et al., 2008). No artigo de

revisão crítica e sistemática produzido pelo grupo (ANEXO 3; MENEZES et al., 2019), pode-se observar que o tema biomarcador genético para depressão apresenta um número considerável de artigos; contudo, a maioria deles não diferencia os subtipos de depressão, o que é muito importante, considerando a heterogeneidade da doença.

Da busca sistemática em Menezes et al. (2019), apenas cinco dos artigos utilizaram biomarcadores genéticos para diferenciar unipolares de bipolares, mas nenhum deles investigou o gene de MR e/ou GR (polimorfismo, expressão gênica ou protéica, epigenética) como biomarcador genético como o presente estudo o fez. Abaixo segue a descrição dos polimorfismo elencados como biomarcadores para diferenciação entre unipolares e bipolares:

a) **MR MI180V ou rs5522:** polimorfismo do tipo *missense* localizado dentro do éxon 2 do gene NR3C2. A troca de bases G (selvagem) por A ocasiona a troca de aminoácido Valina (V) por Isoleucina (I) por [GTT → ATT] no códon 180. O Alelo da Frequência Menor Global (MAF) (G) de rs5522 é de 0,11 e o MAF mais alto encontrado em uma população é de 0,29. Ao alelo A é atribuído o fenótipo benigno de Pseudoaldosteronismo Tipo I Dominante. Segundo o Ensembl, considerando as populações por continente, os MAF(G) são 0,07, 0,17, 0,15, 0,08 e 0,10 para África, América, Leste Asiático, Europa e Sul-Asiático, respectivamente (dbSNP Build ID: {build ID}, Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5522; Derijk et al., 2006; Ensembl, disponível em http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=4:148435823-148436823;v=rs5522;vdb=variation;vf=5259 ; van Leeuwen et al., 2011). Alelo da Frequência Menor Global (MAF) é o termo usado para se referir à frequência com que o segundo alelo mais comum ocorre em uma dada população, cuja função é distinguir um polimorfismo comum de uma variação rara. Por exemplo, se tivermos três alelos com diferentes frequências como 0,50, 0,49, 0,01, o MAF será 0,49 (dbSNP Build ID: {build ID}; disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/docs/rs_attributes.html). Na seção

de Apêndice, vide apêndice 2, há uma tabela que apresenta as áreas em que este polimorfismo foi estudado até a data de finalização da escrita desta tese.

b) MR -2G/C ou rs2070951: polimorfismo localizado a dois nucleotídeos de distância à montante (*upstream*) do sítio de translação do éxon 2 do gene NR3C2. Apesar de não estar dentro do íntron, a região onde este polimorfismo se localiza dentro da região regulatória de Kozac e pode regular a expressão de MR, produzindo algum efeito sobre o SNC por meio da modificação da proteína MR. O alelo C é associado ao fenótipo de pseudoaldosteronismo tipo I dominante. O MAF do polimorfismo rs2070951 é MAF(G) 0,5 e o MAF mais alto encontrado em uma população é de 0,5 (dbSNP Build ID: {build ID}, Disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=2070951; Derijk et al., 2006; Ensembl, disponível em http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=4:148436362-148437362;v=rs2070951;vdb=variation;vf=1490419; van Leeuwen et al., 2011). Segundo o Ensembl, considerando as populações por continente, os MAF(G) são 0,84, 0,45, 0,24, 0,51 e 0,32 para África, América, Leste Asiático, Europa e Sul-Asiático, respectivamente (Ensembl, disponível em http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=4:148436362-148437362;v=rs2070951;vdb=variation;vf=1490419). Na seção de Apêndice, vide apêndice 3, há uma tabela que apresenta as áreas em que este polimorfismo foi estudado até a data de finalização da escrita desta tese.

c) GR N363S ou rs56149945 (antigo rs6195): polimorfismo do tipo *missense* e recebe esse nome, pois este localiza-se no códon 363 do éxon 2 do gene GR e resulta na troca do aminoácido Asparagina (N) por uma Serina (S) (AAT→ AGT), ao haver a troca do alelo selvagem A por G. O polimorfismo apresenta MAF(G) de 0,01 e o MAF(G) mais alto já observado em uma população foi de 0,03. O alelo G foi associado com o fenótipo resistente à glicocorticoide. Segundo o Ensembl, considerando as populações por continente, os MAF(G) são 0,00, 0,01, 0,00, 0,02 e 0,00 para África, América, Leste Asiático, Europa e Sul-Asiático, respectivamente (dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=56149945; Ensembl, disponível em http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/

[Explore?r=5:143399252-143400252;v=rs56149945;vdb=variation;vf=11087143\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=6190)

Na secção de Apêndice, vide apêndice 4, há uma tabela que apresenta as áreas em que este polimorfismo foi estudado até a data de finalização da escrita desta tese.

d) **GR R22/23K ou rs6190:** polimorfismo situado no éxon 2 do gene GR, sendo seguinte a outro polimorfismo. Tais consistem em mutações nos códons 22 e 23. O primeiro polimorfismo (códon 22: GAG→GAA) não ocasiona a troca de aminoácido (rs6189), mantendo a transcrição de Ácido Glutâmico (Glu). No entanto, a mutação em rs6190 (códon 23) leva à troca de aminoácido, sendo Arginina (Arg) trocada por Lisina (Lis), quando o alelo ancestral G é trocado por A (AGG→AAG). O MAF global para esse polimorfismo é MAF(A) é de 0,01 e o maior MAF encontrado em uma população foi de 0,05. Segundo o Ensembl, considerando as populações por continente, os MAF(A) são 0,00, 0,01, 0,00, 0,03 e 0,02 para África, América, Leste Asiático, Europa e Sul-Asiático, respectivamente (dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=6190; Ensembl, disponível em http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=5:143400272-143401272;v=rs6190;vdb=variation;vf=5918; Russcher et al. 2005a). Na secção de Apêndice, vide apêndice 5, há uma tabela que apresenta as áreas em que este polimorfismo foi estudado até a data de finalização da escrita desta tese.

e) **GR BcII ou rs41423247:** polimorfismo intrônico que está situado a 646 pares de base à jusante (*downstream*) do éxon 2. Tal mutação consiste na troca do alelo selvagem G por C. Ao buscar na literatura pelo termo “BcII”, é possível encontrar muitos artigos que se referem a uma enzima de restrição com o mesmo nome, mas que não é o polimorfismo rs41423247. Tal enzima de restrição foi e ainda é amplamente usada em estudos que utilizam clonagem ou que abordam o tema hemofilia. O MAF de rs41423247 é 0,25 e o MAF mais alto já encontrado em uma população foi de 0,44. Segundo o Ensembl, considerando as populações por continente, os MAF(G) são 0,20, 0,26, 0,00, 0,24 e 0,38 para

África, América, Leste Asiático, Europa e Sul-Asiático, respectivamente (dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em dbSNP Build ID: {build ID}, disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=41423247; Ensembl, disponível em: http://Jul2018.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Citations?r=5:143398510-43399510;v=rs41423247;vdb=variation;vf=10807627; International HapMap Consortium, 2005). Na secção de Apêndices, vide apêndice 6, há uma tabela que apresenta as áreas em que este polimorfismo foi estudado até a data de finalização da escrita desta tese.

1.4 JUSTIFICATIVA

A maioria dos pacientes bipolares tipo II ou do espectro bipolar apresentam quadros depressivos bem marcados, mas quadros de hipomania que demoram a ser identificados pelos pacientes e pelos médicos. Isso faz com que muitos desses permaneçam anos com o diagnóstico errado de depressão unipolar e, dessa forma, anos com um tratamento inadequado e ineficaz. Estudar biomarcadores para diferenciação entre TDM e TB é importante na busca de fatores que auxiliem maior precisão diagnóstica desses pacientes. Associados aos marcadores biológicos, conhecer o impacto gerado por fatores externos – como o estresse precoce – pode auxiliar no diagnóstico desses pacientes e talvez também a auxiliar no diagnóstico diferencial.

Por isso, para a presente tese, além de se avaliar os níveis de cortisol e aldosterona dos pacientes com depressão unipolar e bipolar e controles, avaliou-se polimorfismos de GR e MR na população brasileira e seu efeito sobre os níveis de cortisol e aldosterona da amostra, na presença ou ausência de EP. O EP foi investigado como um possível fator diferencial para o diagnóstico entre os subtipos de depressões, ou como fator agravante do quadro depressivo (influenciando o prognóstico) quando na presença de determinado fator endógeno (fatores genéticos ou hormonais).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar marcadores ambientais, como estresse precoce, e marcadores endógenos, hormonais e/ou genéticos, sua interação e influência como fator etiológico e para diagnóstico diferencial entre Transtorno Depressivo Maior e Transtorno Bipolar.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a frequência de exposição ao EP e seus subtipos em unipolares ou bipolares, ou se tal exposição agrava a intensidade de seu quadro depressivo (intra e extragrupo);
- Comparar as concentrações de aldosterona e cortisol séricos basais entre os grupos;
- Buscar saber se as concentrações de aldosterona e cortisol séricos basais entre os grupos são alteradas na presença de EP (intragrupo e extragrupo) e se os diferentes polimorfismos exercem alterações nos níveis hormonais de unipolar e/ou bipolares;
- Avaliar se a frequência dos polimorfismos de GR e MR varia entre controles, unipolares e bipolares;
- Avaliar se os polimorfismos de GR e MR por si só, ou na presença de EP, pioram o quadro depressivo de unipolares e/ou bipolares;
- Explorar mais o eixo HPA em relação aos receptores GR e, principalmente, MR;
- Conhecer mais a dinâmica do funcionamento do SRAA e HPA e seus receptores MR e GR nas diferentes psicopatologias que levam a quadros depressivos (TDM e TB).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP) da Universidade de São Paulo (USP), sob registro CAAE 31124114.3.0000.5440.

Para participar da pesquisa, todos os sujeitos precisaram ler, compreender, concordar e assinar o TCLE, que estavam de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos do Conselho Nacional da Saúde – resolução **466/12**.

Os testes ou o ambiente de testagem deste estudo não ofereceram riscos à integridade física ou psicológica dos participantes. A participação foi voluntária e o sujeito tinha a liberdade de desistir de participar a hora que desejar sem sofrer qualquer prejuízo.

3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises dos dados obtidos no presente estudo foram realizadas através do aplicativo *Statistical Package for the Social Science* (SPSS, versão 20.0). O nível de significância estabelecido foi de $p \leq 0,05$ e nível de confiança de 95%. A checagem de normalidade da amostra e dos grupos foi realizada com o teste de Shapiro-Wilks. O teste *posthoc* utilizado foi o teste de Bonferroni.

Para dados qualitativos, foram utilizadas estatísticas descritivas como frequência simples, porcentagens, médias e desvio padrão da média ($\pm dp$) e

teste qui-quadrado (χ^2) (Apresentados nas Tabelas e resultados “ χ^2 ” e “p” quando for Teste Qui-quadrado assintótico; e, apenas valor de “p” quando for Teste Qui-quadrado Exato). Pode-se definir como variáveis qualitativas etnia, sexo, nível de escolaridade, estado civil, tabagismo, etilismo, tentativa de suicídio, presença de doenças clínicas, presença de EP e seus subtipos, histórico familiar de doenças psiquiátricas, frequência de sujeitos pertencentes a uma determinada intensidade de sintoma depressivo, ansiedade e desesperança, exposição a determinado nível de subtipo de EP, frequências de alelos e genótipos e desvio do equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (HWE).

Para comparação de dados quantitativos foram utilizados os seguintes testes paramétricos (entre parênteses, os testes utilizados quando dados não paramétricos): para variação intragrupo utilizou-se teste *t* (*t*) para uma amostra (teste de Wilcoxon); para variação extragrupo: para comparar-se dois grupos independentes, utilizou-se Teste *t* de student não-pareado (teste de Mann-Whitney); para comparar três grupos ou mais independentes para um fator, ANOVA (*F*) de uma via (teste de Kruskal-Wallis); para comparar três grupos ou mais independentes para dois fatores, ANOVA de duas vias. Os dados quantitativos foram: idade, IMC, número de doenças clínicas, número de tentativas de suicídios, número de internações psiquiátricas, escores para as escalas GRID-HAM-D₂₁, CTQ, BDI, BAI, BHS, BSI, nível de cortisol e aldosterona basais séricos.

Para os cálculos estatísticos que utilizaram as medidas hormonais como variável dependente, considerando que testes paramétricos são mais robustos que os não-paramétricos, utilizou-se seus valores convertidos em logaritmo, para que houvesse distribuição normal dos dados. Correlações entre duas variáveis quantitativas contínuas foram realizadas com testes como a correlação de Pearson (quando dados paramétricos) e/ou Rho de Spearman (quando dados não-paramétricos). Valores positivos representam uma relação diretamente proporcional e os negativos, inversamente proporcional. Classificação para os graus de coeficiente de correlação usados neste estudo são os propostos por Dancey e Reidy (2006). Segundo esses autores, de 0-0,09, a correlação é inexistente; de 0,10 a 0,29, é fraca; de 0,30 a 0,59, é moderada; de 0,6 a 0,99 é forte; 1 é uma correlação perfeita.

3.3 AMOSTRA

3.3.1 Cálculo Amostral

O tamanho inicial planejado para que fosse possível obter um nível de poder amostral de 80% foi de N=213, sendo controles n=113, n=75 depressão unipolar e n=75 depressão bipolar. Esta estimativa é resultante de um algoritmo que revela o poder do tamanho amostral considerando as seguintes variáveis: risco relativo, prevalência dos transtornos afetivos na Região Metropolitana de São Paulo (11%) (ANDRADE et al., 2012), erro alfa de 0,05, razão de 1:1,5 entre casos e controles. Para se obter um poder amostral de 80% na etapa genética do trabalho, utilizou-se o software algorítmico chamado Power for Genetic Association Analysis - PGA (Disponível em <http://dceg.cancer.gov/tools/analysis/pga>).

3.3.2 Participantes

Para o desenvolvimento do projeto da presente tese, três grupos de sujeitos foram recrutados – grupo controle (sujeitos com ausência de transtorno psiquiátrico), grupo unipolar (sujeitos diagnosticados com Transtorno Depressivo Maior) e grupo bipolar (sujeitos diagnosticados com Transtorno Bipolar, independentemente do tipo ou pertencentes ao espectro bipolar). Os participantes dos 3 grupos foram serão avaliados quanto à presença de comorbidades clínicas e psiquiátricas e estilo de vida.

Os grupos foram pareados por sexo e faixa etária. Todos os sujeitos, independentemente do grupo, estavam na faixa etária entre 18 e 65 anos. Todos

os sujeitos do estudo eram clinicamente avaliados por profissional de saúde mental e excluídos se encaixarem em algum dos critérios de exclusão, ou se não preencherem os critérios de inclusão.

3.3.3 Critérios de Inclusão

No grupo controle foram aceitos sujeitos provenientes do corpo de estudantes e profissionais da USP em Ribeirão Preto e/ou da comunidade local. Estes precisaram apresentar ausência de transtornos psiquiátricos, ausência de sintomas depressivos. Esses critérios foram avaliados com instrumentos psiquiátricos e psicométricos que serão apresentados mais adiante no texto.

Dos grupos clínicos fizeram parte pacientes do serviço de saúde pública de Ribeirão Preto (SP) e região, com diagnóstico atual de Transtorno Depressivo Maior (grupo unipolar) ou Transtorno Bipolar (grupo bipolar). O diagnóstico de depressão poderia ainda vir acompanhado da presença ou ausência de história de EP, de acordo com o *Childhood Trauma Questionnaire (CTQ; BERNSTEIN et al., 1994; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014)* e, também, da presença ou ausência de comorbidades clínicas e/ou psiquiátricas de eixo I ou eixo II associadas ao diagnóstico principal de TDM ou TB, conforme o DSM-IV-TR e DSM-5 (APA, 2000; APA, 2013).

3.3.4 Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão, independentemente do grupo, eram os seguintes: a) ter transtornos mentais causados por uma condição médica geral ou resultantes de efeitos fisiológicos diretos do uso de uma substância, ou causado por sua dependência; b) ter retardo mental, déficits cognitivos, doenças progressivas e degenerativas neurológicas, estar em episódio psicótico agudo. Participante era excluído do grupo controle quando apresentava sintomas depressivos de intensidade leve ou mais grave, ou quando era confirmada por meio da avaliação clínica e dos instrumentos psiquiátricos a presença de qualquer transtorno psiquiátrico. Em caso de detecção de transtorno psiquiátrico em algum sujeito que houvera se candidatado para o grupo controle, este era orientado a buscar e/ou, encaminhado a um serviço de saúde mental.

3.3.5 Recrutamento de Sujeitos

O presente estudo foi amplamente divulgado na USP, especialmente no HCRP e nas faculdades que abarcam cursos na área da saúde, e na cidade de Ribeirão Preto por meio de cartazes, e-mails e mídias virtuais e tradicionais (televisão).

3.3.6 Local de Aplicação dos Testes e Triagem dos Sujeitos e Amostras Biológicas

Todos os sujeitos foram triados e participaram da pesquisa nas dependências da USP, principalmente no ambulatório de humor da HCFMRP e Hospital Dia de Saúde Mental. As amostras biológicas foram processadas nos laboratórios de Endocrinologia (Ensaio e Molecular) da HCFMRP. Antes de

serem processadas, as amostras biológicas eram armazenadas a temperaturas de -20°C ou -70°C, dependendo da necessidade do material para que se mantivessem sem degradações até o dia da análise.

3.3.7 Delineamento

O delineamento do estudo foi transversal, caso-controle, não-randomizado e não-cego. A partir da seleção dos participantes com depressão, eles foram avaliados e alocados de acordo com seus respectivos diagnósticos em três grupos – unipolares ou bipolares - utilizando-se o *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI PLUS; SHEEHAN et al., 1998; AMORIM, 2000) e avaliados quanto à presença de EP segundo CTQ (BERNSTEIN et al., 1994; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014). Para serem incluídos no grupo com EP, os pacientes deveriam ter vivenciado pelo menos subtipo de EP em intensidade de moderado a extremo, de acordo com a avaliação do CTQ.

3.4 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS

Todos os sujeitos – tanto do grupo clínico quanto controle – passaram pelos mesmos testes e procedimentos durante sua participação do estudo.

3.4.1 Avaliação Clínica e Sociodemográfica

Nesta etapa foram avaliadas características como idade, gênero, etnia, nível de escolaridade, estado civil, crença religiosa, histórico familiar de

transtornos psiquiátricos, histórico de tentativas de suicídio, dentre outras características avaliadas pelo questionário sociodemográfico desenvolvido pelo grupo de pesquisas. Além disso, foram realizadas perguntas sobre a saúde do sujeito, realizando exame físico, de sangue e de urina para alguns testes laboratoriais.

3.4.2 Diagnóstico Psiquiátrico

Para realizar o diagnóstico psiquiátrico investigando presença ou ausência de depressão, de transtornos de personalidade, de EP e para se fazer a alocação dos sujeitos por grupo foram utilizados os seguintes instrumentos, respectivamente:

- A) MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW PLUS (MINI PLUS; SHEEHAN et al., 1998; AMORIM, 2000) – Entrevista semiestruturada utilizada para triar sujeitos quanto à presença ou ausência de transtornos psiquiátricos. Esta versão da MINI baseia-se no DSM-IV, sendo adaptável para o DSM-5. Sendo mais detalhada que a MINI original, também gera diagnósticos positivos para os principais transtornos de humor e psicóticos. A MINI PLUS explora prioritariamente transtornos atuais e a cotação das questões se dá de forma dicotômica. Também, algoritmos são integrados à estrutura do questionário, possibilitando excluir ou estabelecer diagnósticos ao longo da entrevista com o participante. Esta escala foi desenvolvida para ser utilizada na prática clínica e/ou em pesquisa de psiquiatria e atenção primária (AMORIM, 2000).

B) *Childhood Trauma Questionnaire* (CTQ; BERNSTEIN et al., 1994; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014) – O CTQ é um questionário retrospectivo que investiga a presença de estresse precoce que sejam do tipo abuso emocional, físico e sexual e negligência emocional e física. Este questionário é composto de 28 itens no padrão de pontuação escala *likert* às quais correspondem à frequência à qual o sujeito estava exposto àquela situação enquanto crescia (1-nunca; 2- poucas vezes; 3- às vezes; 4- muitas vezes; 5- sempre). A pontuação total pode variar de 5 a 25 pontos. Existem pontos de corte para considerar a presença dos subtipos de estresse precoce conforme figura abaixo. A escala original inicialmente contava com 70 itens, mas foi reduzida a 28 itens baseados em análises fatoriais exploratórias e confirmatórias por Bernstein e colaboradores (1994). A escala utilizada neste trabalho é a de 28 itens e foi traduzida para o português brasileiro e validada na mesma população por Grassi-Oliveira e colaboradores (2006, 2014).

SUBTIPO DE EP	PONTUAÇÃO E NÍVEIS DE EXPOSIÇÃO AO EP			
	Nenhum	Baixo a Moderado	Moderado a Severo	Severo a Extremo
SUBTIPOS DE EP				
Abuso Emocional	5 a 8	9 a 12	13 a 15	≥ 16
Abuso Físico	5 a 7	8 a 9	10 a 12	≥ 13
Abuso Sexual	5	6 a 7	8 a 12	≥ 13
Negligência Emocional	5 a 9	10 a 14	15 a 17	≥ 18
Negligência Física	5 a 7	8 a 9	10 a 12	≥ 13
SEM EP		COM EP		

Figura 9. Apresentação da pontuação para ponto de corte para presença ou ausência e intensidades. De subtipos de EP (segundo BERNSTEIN et al., 2003; GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014) EP: Estresse Precoce.

3.4.3 Avaliação Psicométrica

Para avaliação da gravidade de sintomas de ansiedade, depressão, ideação suicida, desesperança e impulsividade, serão aplicados os seguintes instrumentos psicométricos:

A) *GRID Hamilton Depression Rating Scale* (GRID-HAM-D) (HAMILTON, 1960; Williams et al., 2008; Henrique-Araújo et al., 2014) – A Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão utilizada no presente projeto é uma versão adaptada transculturalmente para o português do Brasil (HENRIQUE-ARAÚJO et al., 2014) da versão americana de Bech et al. (2003). A GRID-HAM-D é uma variação da Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton (HAM-D) desenvolvida por Hamilton em 1960. A GRID-HAM-D é uma entrevista heteroaplicada semiestruturada que é composta não apenas pela intensidade de sintomas depressivos, mas atribui a eles a frequência destes ocorridos na última semana (incluindo o dia de hoje) para pontuar a gravidade da resposta a cada questão. A versão da GRID-HAM-D escolhida para este projeto foi a de 21 questões (GRID-HAM-D₂₁), a qual além das 17 questões tradicionais, inclui 4 questões extras não-pontuáveis sobre variação diurna do humor, despersonalização e desrealização, sintomas paranoides, sintomas obsessivos-compulsivos. Das 21 perguntas, 8 contêm 5 graduações de gravidade 0-4 pontos (sintoma ausente, leve, moderado e grave) a severo) e 9 itens possuem 3 graduações de intensidade com pontuação de 0-2 pontos (ausente, leve e acentuado). Tais graduações devem ser relacionadas à frequência que esses sintomas ocorrem para que se atribua o escore final de tal item. As frequências são classificadas como ausente, ocasional (menos de 3 dias, até 3 dias da semana), grande parte do tempo (3 a 5 dias da semana, 31-51% do tempo), quase o tempo todo (6-7 dias da semana, mais que 75% da semana). O escore total da escala vai de 0-64 pontos, sendo de 0-8 pontos ausência de depressão, de 9-15 pontos depressão mínima, de 16-22 pontos depressão moderada, de 23-28 pontos depressão grave e 29-64 pontos depressão gravíssima.

B) Inventários Beck de Ansiedade – BAI (CUNHA, 2001) – Este é um Instrumento autoaplicável de avaliação de sintomas ansiosos originalmente desenvolvido por *BECK* et al. (1996) e validado em população brasileira por Cunha (2001). Contém 21 afirmações sobre sintomas ansiosos, nas quais o sujeito irá designar a intensidade em relação àquela afirmação que ele viveu na última semana incluindo o dia de hoje. Dentro de cada sentença o sujeito deve marcar uma das opções seguintes: Absolutamente não (0 pontos); Levemente - Não me incomodou muito (1 ponto); Moderadamente – Foi muito desagradável, mas pude suportar (2 pontos); Gravemente – Dificilmente pude suportar (3 pontos). O escore varia de 0 a 63 pontos, sendo de 0-10 pontos ansiedade mínima, 11-19 pontos ansiedade leve, 20-30 pontos ansiedade moderada e 31-63 ansiedade grave.

C) Inventário de Depressão Beck II (BDI – II; GORESTEIN et al., 2012) - Segunda edição do instrumento BDI - originalmente desenvolvido por *BECK* et al. (1996) – que avalia a intensidade de sintomas depressivos. Essa segunda versão do BDI foi validado em população brasileira por Gorestein et al. (2012). BDI-II é um questionário autoaplicável com 21 itens com quatro sentenças, as quais variam de 0 a 3 pontos de acordo com a gravidade crescente dos sintomas. O sujeito deve responder ao inventário considerando a última semana, incluindo o dia do teste. Os escores variam de 0-63 pontos, sendo de 0-13 depressão não-considerável (pontuação mínima); de 14-19 humor deprimido leve, de 20-28 humor deprimido moderado; e de 29-63 humor deprimido grave.

D) Escala de Desesperança de Beck (BHS; CUNHA, 2001) – A BHS é uma escala autoaplicável, validada na população brasileira por Cunha et al. (2001) que composta por 20 afirmações que contém frases de esperança e desesperança, às quais os sujeitos devem classificar, de acordo com o que sentem na última semana, incluindo o dia de hoje, como certas (c) ou erradas (e) aos assinalar optando por um dessas opções. O escore varia de 0-20 pontos, sendo pontuado cada vez que o sujeito assinalar (c) para sentenças com peso desesperançoso, ou (e) para sentenças esperançosas. Escores de 0-4 são

considerados nível de desesperança mínima, de 5-8 desesperança baixa, de 9-13 desesperança moderada e de 14-20 desesperança grave.

E) Escala de Ideação Suicida de Beck (BSI; CUNHA, 2001) – A BSI é uma escala autoaplicável composta por 21 questões, cujas opções variam em pontuação conforme a gravidade da resposta. A soma da pontuação total possui um valor máximo de 44 pontos. Neste questionário, o sujeito deve responder às 5 questões iniciais (como um *screening*). Caso o sujeito pontue mais que zero nas questões 4 e 5, ele deve seguir respondendo as questões 6 a 21. Caso contrário, apenas as 5 iniciais e questões 20 e 21. As duas últimas questões apresentam apenas caráter investigativo do caso, não somando pontuação. Esta escala não possui pontos de corte para gravidade leve, moderada ou intensa. Considera-se a gravidade apenas de forma contínua (quanto maior o escore mais alta a ideação suicida).

3.4.4 Avaliação Neuroendócrina

Os soros dos sujeitos foram utilizados para análise de cortisol e aldosterona. O cortisol plasmático foi analisado por radioimunoensaio e a aldosterona já foi analisada, restando uma pequena parcela de amostras por analisar, por quimiluminescência. Os resultados obtidos na etapa endócrina foram pareados aos resultados de polimorfismos de GR e MR da mesma amostra na etapa genética. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Endocrinologia no HCFMRP.

a) Análise de Cortisol

O cortisol sérico foi analisado por meio de técnica de radioimunoensaio (RIA) que é a técnica padrão-ouro para análise de cortisol, assim de outras moléculas pequenas que exigem uma especificidade maior. Tal técnica de mensuração foi padronizada pelo Laboratório de Imunoensaios do setor de Endocrinologia do HCFMRP e utilizou 50uL de soro por ensaio. O anticorpo utilizado para as análises nesse projeto é o mesmo anticorpo utilizado para as análises da rotina do HCFMRP (Kit Anticortisol F-79-I 20/9 E.P.M. Prof. Vieira). A medida fornecida foi dada em ug/dL, mas foi convertida para a unidade do sistema internacional nmol/L ao multiplicar-se a antiga unidade por 27,59. As amostras de um total de N=234 sujeitos (controles=97; unipolares=69; bipolares=68). Os valores considerados normais para sujeitos adultos pela manhã é de 5,4-25 ug/dL (148,98 – 689,75 ng/L – SI). Os coeficientes de variação intra e entre-ensaios foram 5,9% e 14,3% respectivamente.

b) Análise de Aldosterona

A aldosterona sérica foi mensurada no Laboratório de Endocrinologia pelo método de quimioluminescência no aparelho da Liason utilizando-se kits da DiaSorin (N=235 ensaios – n controles=103; n unipolares=67; n bipolares=65). Para a análise, foram utilizados 150uL de soro por ensaio. Os resultados liberados pelo aparelho são dados em ng/dL, mas foram convertidos para a unidade do sistema internacional pg/L multiplicando-se 27,74. Os valores considerados normais para sujeitos adultos em posição ortostática e normossódica é de 5-30 ng/dL (138,7 – 832,2 pg/L – SI). Não houve variabilidade intraensaio, considerando que a técnica foi realizada de forma automatizada e o valor é desprezível. Também, não houve variabilidade entre ensaios, considerando que todas as amostras foram dosadas por mesmo kit (mesmo lote, data de vencimento e fabricante).

3.4.5 Avaliação Genética

Essa etapa foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular do setor de Endocrinologia do HCFMRP. Foi genotipad o material genético de N=273 sujeitos (n=113 controles; n=78 unipolares; n=82 bipolares) utilizando-se a técnica de PCR em tempo real - aparelho Applied Biosystems® 7500 Real-Time PCR Systems, após extração de DNA de sangue total coletado com tubo EDTA (BD Vacutainer ®) utilizando-se o kit de extração de DNA (Sigma-Aldrich®). Todos os ensaios foram realizados em duplicata. As sondas para discriminação alélica, as tampas adesivas e as placas para qPCR utilizados eram da fabricante ThermoFisher Scientific®. Os mixes utilizados nas reações de qPCR eram da fabricante Promega®.

Os polimorfismos analisados são os localizados no gene NR3C2 (MR) - rs5522 (MRI180V) e rs2070951 (-2G/C) – e no gene NR3C1 (GR) - rs56149945 (N363S); rs6190 (R22/23K) e rs41423247 (BclI). O desenho das sondas e seus respectivos fluoróforos serão apresentados na figura 10.

SNP	S/V	SONDAS	F
MI180V	S	5'-TGACACATGATAGGGCTTTTAACAA <u>C</u> GGCGCGCATGACGCCACCATTTCACG-3'	FAM
	V	5'-TGACACATGATAGGGCTTTTAACAA <u>T</u> GGCGCGCATGACGCCACCATTTCACG-3'	VIC
2G/C	S	ACTGTGGTAGCCTTTGGTCTCCATC <u>C</u> CTAACAAATAAATTTACATTAAAAA	VIC
	V	ACTGTGGTAGCCTTTGGTCTCCATC <u>G</u> CTAACAAATAAATTTACATTAAAAA	FAM
N363S	S	5'-ACCTATTCCAAT <u>T</u> TTTCGG-3'	VIC
	V	5'-CCTATTCCAAC <u>C</u> TTTCGG-3'	FAM
R22/23K	S	5'-CACATCTCCCCT <u>C</u> TCCTGA-3'	VIC
	V	5'-CACATCTCCCCT <u>T</u> TCCTGA-3'	FAM
Bcl I	S	5'-CTCTTAAAGAGATT <u>G</u> ATCAGC-3'	VIC
	V	5'-CTCTTAAAGAGATT <u>C</u> ATCAGC-3'	FAM

Figura 10. Apresentação dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNP) estudados e as sondas utilizadas para discriminação alélica, com respectivos fluoróforos. Nota: F: fluoróforo; FAM: fluorórofo de cor vermelha; VIC: fluoróforo de cor verde; S: alelo selvagem; V: alelo variante; SNP: polimorfismo de único nucleotídeo.

O processo de amplificação e genotipagem no aparelho de qPCR levou cerca de 2h por placa. O processo todo compreende o *pre-read* a 60°C por 1 minuto, seguido de 40 ciclos de amplificação, cujas temperaturas aplicadas foram as seguintes: 92°C para desnaturação, 37°C para anelamento, 60°C para extensão e emissão dos fluoróforos. Em seguida, fez-se um *post-read* a 60°C por 1 minuto e a identificação do genótipo de cada amostra a partir de qual(is) fluoróforo(s) as amostras haviam emitido.

Para cada poço contendo as amostras foram pipetadas 3,125 µL de mix da marca Promega®, 0,156 µL de sonda (Thermo Fisher Scientific®), 3,5 µL de DNA. Para os poços controles da placa, substituiu-se o DNA por 3,5 µL água miliQ.

4. RESULTADOS

4.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

As primeiras tabelas são referentes aos dados sociodemográficos da amostra e dos testes psicométricos. Os grupos estudados – controle, unipolar e bipolar – não apresentam diferença significativa para idade ($F=2,098$; $p=0,126$), índice de massa corporal (IMC) ($F=1,985$; $p=0,142$), sexo ($\chi^2=3,114$; $p=0,2121$), subpopulação (cor/etnia; $p=0,302$) e algumas doenças como cardiopatia ($p=0,104$), hiperglicemia ou diabetes *mellitus* ($\chi^2=0,298$; $p=0,289$), epilepsia ($p=0,219$) e alergias ($p=0,669$) (Tabela 1).

Quanto ao nível de escolaridade ($CxUxB$; $\chi^2=60,176$; $p<0,001$), ao estado civil ($CxUxB$; $p=0,007$); à presença de doenças clínicas ($\chi^2=26,259$; $p<0,001$) [como por exemplo dor crônica ($\chi^2=20,896$; $p<0,001$) e alteração da função tireoidiana ($\chi^2=11,519$; $p=0,003$)], uso de anticoncepcional hormonal ($\chi^2=10,534$; $p=0,005$), à presença de EP ($\chi^2=71,394$; $p<0,001$), houve diferença entre unipolares e controles, e bipolares e controles, mas não entre unipolares e bipolares. Maior parte da população controle apresentou ensino superior completo, estado civil solteiro, sem doenças clínicas e sem EP. Ainda, quase metade das mulheres do grupo controle fazia uso de anticoncepcional hormonal; proporção bem maior que as do grupo unipolar e bipolar que também faziam uso. Já a amostra de unipolares e bipolares é composta por sujeitos na sua maioria com escolaridade até ensino médio completo, casados, com alguma doença clínica, e, pelo menos, metade dos sujeitos do grupo com história de EP e familiares com transtornos psiquiátricos.

Os sujeitos bipolares apresentaram diferença em relação ao grupo unipolar e controle quanto ao maior número de internações psiquiátricas, maior número de tentativas de suicídio e maior percentual de sujeitos com parentes também com transtorno psiquiátrico. Além disso, apresentaram diferença em relação ao grupo unipolar em relação ao tratamento medicamentoso com anticonvulsivante e lítio. Sabe-se que anticonvulsivantes, assim como o lítio, é

comumente utilizado como estabilizador de humor (MENEZES & JURUENA, 2017; YATHAM et al., 2013). Esse é o provável motivo do consumo maior de anticonvulsivantes do grupo bipolar comparando-o ao unipolar, considerando que entre as comorbidades, a prevalência de epilepsia não apresentou diferença entre os grupos ($p=0,219$) (Tabela 1).

Tabela 1- Comparação das características sociodemográficas e clínicas da entre os grupos controle, unipolar (TDM) e bipolar (TB)

AMOSTRA - N=273 (100%)					
	CONTROLES (n=113)	UNIPOLARES (n=78)	BIPOLARES (n=82)	CxUxB	UxB
GÊNERO, feminino n (%)	79 (69,91)	62 (79,49)	66 (80,49)	$\chi^2=3,699$; $p=0,157$	$\chi^2=0,025$; $p=0,874$
IDADE, anos ($\pm dp$)	37,20 (15,27)	41,17 (12,34)	40,18 (12,59)	$F=2,098$; $p=0,126$	$t=0,469$; $p=0,619$
IMC, Kg/m² ($\pm dp$)	26,52(5,80)	28,33 (6,42)	27,92 (6,33)	$F=1,985$; $p=0,142$	$t=0,344$; $p=0,732$
SUBPOPULAÇÃO n (%)				$p=0,302$	$p=0,289$
Branco (a)	84 (74,34)	59 (75,64)	51 (62,19)		
Amarelo (a)	3 (2,65)	1 (1,28)	1 (1,22)		
Índio (a)	3 (2,65)	1 (1,28)	3 (3,66)		
Negro (a)	23 (20,35)	17 (21,79)	27 (32,93)		
ESCOLARIDADE, nível (%)				$p<0,001b, c$	$t=2,474$; $p=0,791$
EFI	2 (1,57)	17 (25,00)	14 (17,72)		
EFC	0 (0)	7 (10,29)	9 (11,39)		
EMI	3 (2,65)	4 (5,88)	3 (3,80)		
EMC	15 (13,27)	6 (8,82)	23 (29,11)		
ESI	29 (25,66)	15 (22,06)	15 (18,99)		
ESC	64 (56,64)	19 (27,94)	15 (18,99)		
ESTADO CIVIL				$p=0,007 b, c$	$\chi^2=4,420$; $p=0,220$
Solteiro	61	26	27		
Casado/Amasiado	42	35	38		
Separado/ Divorciado	6	12	35		
Viúvo	4	4	0		
TABAGISMO, n (%)*	7	7	14	$\chi^2=2,147$; $p=0,147$	$\chi^2=6,441$; $p=0,04$
Uso de Drogas Ilícitas, n (%)	0	0	0	0	0
DOENÇAS CLÍNICAS, n (%) #	45 (40,91)	56 (75,68)	52 (	$\chi^2=26,259$; $p<0,001$	$t=2,091$; $p=0,148$
Cardiopatia	1 (0,9)	2 (2,56)	5 (6,10)	$p=0,104$	$p=0,444$

CONTINUAÇÃO TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS AMOSTRA - N=273 (100%)					
	CONTROLES (n=113)	UNIPOLARES (n=78)	BIPOLARES (n=82)		
Dor Crônica	5 (4,4)	19 (24,36)	20 (24,39)	$\chi^2=20,896$; p<0,001	p=0,003; p=0,959
Hipertensão	14 (14,14)	18 (32,14)	17 (27,42)	$\chi^2=4,956$; P=0,091	t=0,170; p=0,680
Alteração da função tireoidiana	3 (2,7)	12 (15,38)	11 (13,41)	$\chi^2=11,519$; p=0,003	t=0,157; p=0,692
Diabetes Mellitus ou Hiperglicemia	5 (4,4)	6 (7,69)	8 (9,76)	$\chi^2=0,298$; p=0,289	t=0,187; p=0,665
Epilepsia	0 (0)	2 (2,56)	2 (2,44)	p=0,219	p=1,0
Alergias	5 (4,4)	4 (5,13)	6 (7,32)	p=0,669	p=0,747
MEDICAMENTOS					
Anticoncepcional (%)	32 (40,51)	12 (19,35)	12 (18,18)	$\chi^2=10,534$; p=0,005	$\chi^2=0,002$; P=0,964
ADT ISRS (%)	N/A	47 (60,26)	43 (52,44)	N/A	$\chi^2=0,420$; p=0,517
ADT ISNR (%)	N/A	9 (11,54)	10 (12,19)	N/A	$\chi^2=0,060$ p=0,807
ADT IMAO (%)	N/A	0	0	N/A	0
ADT tricíclico (%)	N/A	13 (16,67)	9 (10,98)	N/A	$\chi^2=0,847$; p=0,357
ADT atípico (%)	N/A	12 (15,38)	7 (8,54)	N/A	$\chi^2=1,491$; p=0,221
Anticonvulsivante (%)	N/A	14 (17,95)	31 (37,80)	N/A	$\chi^2=9,026$; p=0,003
Antipsicótico (%)	N/A	25 (30,05)	32 (39,02)	N/A	$\chi^2=1,355$; p=0,244
Lítio (%)	N/A	0 (0)	16 (19,51)	N/A	$\chi^2=17,829$; p<0,001
BZD ou Hipnótico (%)		33 (42,31)	39 (47,56)	N/A	$\chi^2=0,646$; p=0,421
ESTRESSE PRECOCE, n (%)#	8 (7,24)	44 (56,84)	47 (59,49)	$\chi^2=71,394$; p<0,001	$\chi^2=0,153$; p=0,748
AE, n (%)	4 (3,64)	29 (37,18)	35 (44,87)	$\chi^2=51,439$; P<0,001	$\chi^2=0,954$; P=0,329
AF, n (%)	3 (2,73)	20 (25,64)	26 (33,33)	$\chi^2=32,276$; P<0,001	$\chi^2=1,110$; P=0,292
AS, n (%)	3 (2,73)	20 (25,64)	20 (25,64)	$\chi^2=24,993$; P<0,001	$\chi^2=0,000$; p=1,0
NE, n (%)	3 (2,73)	22 (28,20)	29 (37,18)	$\chi^2=37,743$; P<0,001	$\chi^2=1,427$; p=0,232
NF, n (%)	2 (1,82)	19 (24,36)	20 (25,64)	$\chi^2=26,640$; P<0,001	$\chi^2=0,034$; p=0,853
INTERNAÇÕES PSQUIÁTRICAS, média (±dp)	N/A	0,78 (1,039)	1,37 (±1,594)	N/A	t = -2,34; p=0,022
HIST. FAMILIAR DE TRANSTORNO PSQUIÁTRICO, n (%)##	29 (26,36)	57 (76,00)	67 (85,90)	$\chi^2=80,476$; p<0,001	$\chi^2=2,438$; p=0,118
TENTATIVAS DE SUICÍDIO, n (%)	N/A	34 (44,87)	52 (65,85)	N/A	$\chi^2=6,882$; p=0,009

TENTATIVAS DE SUICÍDIO, média(±dp)	N/A	1,05 (1,351)	1,51 (0,501)	N/A	t= -2,48; p=0,017
Nota: a: diferença entre unipolar e bipolar; ADT: antidepressivo;AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; dp = desvio padrão da média; IMC: Índice de Massa Corporal; EFI: Ensino Fundamental Incompleto; EFC: Ensino Fundamental Completo; EMI: Ensino Médio Incompleto; EMC: Ensino Médio Completo; EP: estresse precoce; ESC: Ensino Superior Completo; ESI: Ensino Superior Incompleto; F: Valor teste ANOVA de uma via; Hist.: Histórico; IMAO: Inibidor da Monoaminoxidase; ISRN: Inibidor Recaptação de Serotonina e Noradrenalina; ISRS: Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física N/A: não se aplica; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; χ^2 = valor do Teste qui-quadrado; #Percentual calculado em cima do número de mulheres que compunham o grupo; ## No caso do grupo controle, transtornos psiquiátricos em familiares não poderia ser de 1º grau.					

4.2 DADOS DE ESCALAS PSICOMÉTRICAS

4.2.1 Comparação entre grupos para pontuação em escalas que mensuram depressão, ansiedade, desesperança e ideação suicida

Ao utilizarmos as outras escalas psicométricas, foi possível observar os níveis de depressão heteroavaliados (GRID-HAM-D₂₁) e autoavaliados (BDI-II), níveis de sintomas ansiosos (BAI), nível de desesperança (BHS) e nível de ideação suicida (BSI). Considerando o escore bruto produzido por esses instrumentos, os grupos diferiram apenas ao se comparar controles com unipolares ou controles com bipolares. Unipolares e bipolares não apresentaram diferença significativa entre si para nenhum dos construtos citados (Tabela 3).

Tabela 2 - Comparação de médias entre sujeitos controle, TDM e TB em relação à pontuação nas escalas psicométricas.

	CONTROLES (N=113)	UNIPOLARES (n=78)	BIPOLARES (n=82)	(CxUxB)	(UxB)
	média (±desvio padrão)				
GRID-HAM-D ₂₁	0,5 (0,907)	17,78 (9,758)	19,03 (9,88)	F=257,839; <0,001	t= -0,796; p=0,427
BDI-II	1,69 (2,303)	27,73 (15,543)	29,03 (15,543)	F=218,033; p<0,001	t= -0,518; p=0,605
BAI	1,85 (2,19)	13,327 (13,70)	14,096 (14,94)	F= 208,714; p<0,001	t= -0,529; p=0,598
BHS	1,52 (1,124)	9,8 (6,109)	9,44 (6,04)	F=134,010; p<0,001	t= 0,374; p=0,709
BSI	0,7 (0,722)	6,62 (9,066)	7,99 (9,969)	F= 43,802; p<0,001	t= -0,890; p=0,375
CTQ	30,55 (8,638)	45,32 (16,596)	50,68 (24,123)	F=45,268; p<0,001	t= -1,616; p=0,108

Nota: B: grupo bipolar; C: grupo controle; U: grupo unipolar; BAI: Inventário Beck de Ansiedade; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; BSI: Inventário Beck de Ideação Suicida; CTQ: *Childhood Trauma Questionnaire*; F: Valor teste ANOVA de uma via; GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; p: nível de significância;

Ainda em relação às escalas psicométricas anteriores – GRID-HAM-D₂₁, BDI-II, BAI e BSI - foi possível classificar os sintomas como não-considerável (e/ou remissão), leve, moderado, grave (e muito grave, no caso da GRID-HAM-D₂₁). Comparando os grupos unipolar e bipolar, não foi encontrada diferença em relação à prevalência de intensidade de sintomas (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição de sujeitos - número absoluto (e porcentagem) - de acordo com intensidade de sintomas depressão e comorbidades e por subtipo de depressão

	Número de sujeitos (%)		
	UNIPOLARES	BIPOLARES	
GRID-HAM-D ₂₁ (Intensidade Depressão)			
Remissão	16 (20,5)	17 (21,3)	$\chi^2= 1,394$; P=0,845
Leve	16 (20,5)	11 (13,8)	
Moderado	18 (23,1)	19 (23,8)	
Grave	15 (19,2)	17 (21,3)	
Muito Grave	13 (16,7)	16 (20)	
BDI-II (Intensidade Depressão)			
Remissão	16 (21,9)	17 (22,1)	P=0,356
Leve	4 (5,5)	5 (6,5)	
Moderado	20 (27,4)	12 (15,6)	
Grave	33 (45,2)	43 (55,8)	
BAI (Intensidade Ansiedade)			
Sem sintomas ansiosos	13 (17,1)	16 (20,3)	$\chi^2=1,14$; P=0,767
Leve	17 (22,4)	14 (17,7)	
Moderado	24 (31,6)	22 (27,8)	
Grave	22 (28,9)	27 (34,2)	
BHS (Intensidade Desesperança)			
Sem desesperança	17 (22,7)	17 (22,7)	$\chi^2=0,848$; P=0,838
Leve	17 (22,7)	21 (27,3)	
Moderado	14 (18,7)	16 (20,8)	
Grave	27 (36)	23 (29,9)	
Nota: BAI: Inventário Beck de Ansiedade; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; BSI: Inventário Beck de Ideação Suicida; GRID-HAM-D ₂₁ : Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; p: nível de significância; χ^2 = valor do Teste qui-quadrado.			

4.2.2 Influência do EP e seus subtipos sobre sintomas depressivos avaliados intra e extragrupo

4.2.2.1 Comparação entre grupos quanto à prevalência de EP

Por meio da aplicação do CTQ, foi possível avaliar a prevalência de EP e seus subtipos. Ao comparar-se os três grupos, houve diferença. Entretanto, não houve diferença significativa entre unipolares e bipolares em relação à prevalência de EP ou qualquer um dos seus subtipos (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação do número de sujeitos e percentual por grupo considerando presença ou ausência e intensidade de subtipos de estresse precoce.

	CONTROLES (n=110)	UNIPOLARES (n=78)	BIPOLARES (n=78)	(C x U x B)	(U x B)
AE					
Sem AE	90 (81,8)	33 (42,3)	26 (33,3)	$\chi^2=62,102$; $p<0,001$	$\chi^2=1,463$; $p=0,691$
Leve	16 (14,5)	15(19,2)	16 (20,5)		
Moderado	3 (2,7)	10 (12,8)	13 (16,7)		
Grave	1 (0,9)	20 (25,6)	23 (29,5)		
AF					
Sem AF	96 (87,3)	43 (55,1)	46 (59)	$\chi^2=40,314$; $p<0,001$	$\chi^2=5,017$; $p=0,171$
Leve	11 (10,0)	15 (19,2)	6 (7,7)		
Moderado	1 (0,9)	6 (7,7)	6 (7,7)		
Grave	2 (1,8)	14 (17,9)	20 (25,6)		
AS					
Sem AS	105 (95,5)	54 (69,2)	51 (65,4)	$\chi^2=34,909$; $p<0,001$	$\chi^2=2,520$; $p=0,472$
Leve	2 (1,8)	4 (5,1)	7(9)		
Moderado	2 (1,8)	13 (16,7)	9 (11,5)		
Grave	1 (0,9)	7 (9)	11 (14,1)		
NE					
Sem NE	100 (90,9)	43 (55,1)	39 (50)	$\chi^2=50,592$; $p<0,001$	$\chi^2=2,695$; $p=0,441$
Leve	7 (6,4)	13 (16,7)	11 (14,1)		
Moderado	2 (1,8)	11 (14,1)	9 (11,5)		
Grave	1 (0,9)	11 (14,1)	18 (23,1)		
NF					
Sem NF	107 (97,3)	45 (57,7)	43 (55,1)	$\chi^2=58,416$; $p<0,001$	$\chi^2=2,082$; $p=0,555$
Leve	1 (0,9)	13 (16,7)	14 (17,9)		
Moderado	1 (0,9)	10 (12,8)	6 (7,7)		
Grave	1 (0,9)	10 (12,8)	15 (19,2)		

Nota: B: grupo bipolar; C: grupo controle; U: grupo unipolar; AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; χ^2 = valor do Teste qui-quadrado.

4.2.2.2 Influência do EP sobre Sintomas Depressivos Heteroavaliados

Foi encontrada diferença intragrupo para os unipolares, quando considerada a presença de EP e todos os seus subtipos na GRID-HAM-D₂₁ (Tabela 5). Os sujeitos unipolares com EP apresentaram pontuação maior na escala de depressão em relação aos que não tinham EP, tanto para EP geral ($t=-3,324$; $p=0,001$) ou seus subtipos AE ($t=-2,624$; $p=0,011$), AF (AF: $t=-2,362$; $p=0,021$), AS ($t=-2,660$; $p=0,010$), NE ($t=-3,761$; $p<0,001$) e NF ($t=-2,520$; $p=0,014$).

Tabela 5 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

UNIPOLARES (n=78)			
	sem EP (n=34)	com EP (n=44)	
	média (±desvio padrão)		
EP	13,85 (9,60)	20,82 (8,84)	t=-3,324; p=0,001
AE	15,63 (9,88)	21,41 (8,53)	t=-2,624; p=0,011
AF	16,29 (9,77)	22,10 (8,56)	t=-2,362; p=0,021
AS	16,12 (9,11)	22,60 (10,20)	t=-2,660; p=0,010
NE	15,38 (8,98)	23,91 (9,11)	t=-3,761; p<0,001
NF	16,25 (9,45)	22,53 (9,38)	t=-2,520; p=0,014

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão.

A avaliação intragrupo sobre exposição de sujeitos bipolares a EP também aumentou a pontuação da GRID-HAM-D₂₁ para sintomas depressivos comparados a bipolares não expostos a EP geral ($t = -3,533$; $p = 0,001$), ou seus subtipos AE ($t = -4,667$; $p < 0,001$); AF ($t = -4,667$; $p < 0,001$), NE ($t = -3,447$; $p = 0,001$) e NF ($t = -2,640$; $p = 0,010$). O AS foi o único subtipo que nos bipolares não mostrou piorar os sintomas depressivos dos sujeitos (Tabela 6).

Tabela 6 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

BIPOLARES (n=79)			
	sem EP (n=32)	com EP (N=47)	
	média (±desvio padrão)		
EP	14,59 (8,46)	22,11 (9,79)	$t = -3,533$; $p = 0,001$
AE	14,95 (8,92)	24,34 (8,73)	$t = -4,667$; $p < 0,001$
AF	16,62 (8,59)	24,27 (10,69)	$t = -4,667$; $p < 0,001$
AS	18,40 (9,86)	21,40 (10,16)	$t = -1,166$; $p = 0,247$
NE	16,37 (9,75)	23,90 (8,54)	$t = -3,447$; $p = 0,001$
NF	17,48 (9,44)	24,05 (10,03)	$t = -2,640$; $p = 0,010$

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; c: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão.

Buscou-se saber se a exposição a EP é mais deletéria para a depressão de sujeitos unipolares ou bipolares. Não foi encontrada diferença significativa (Tabela 7).

Tabela 7 - Escore de escala de nível de depressão heteroaplicada (GRID-HAM-D₂₁) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

	UNIPOLARES (n=78)		BIPOLARES (n=79)		(GRUPO X EP)
	sem EP (n=34)	com EP (n=44)	sem EP (n=32)	com EP (N=47)	
	média (±desvio padrão)				
EP	13,85 (9,60)	20,82 (8,84)	14,59 (8,46)	22,11 (9,79)	F=0,034; p=0,855
AE	15,63 (9,88)	21,41 (8,53)	14,95 (8,92)	24,34 (8,73)	F=1,465; p=0,228
AF	16,29 (9,77)	22,10 (8,56)	16,62 (8,59)	24,27 (10,69)	F=0,309; p=0,579
AS	16,12 (9,11)	22,60 (10,20)	18,40 (9,86)	21,40 (10,16)	F=0,961; p=0,328
NE	15,38 (8,98)	23,91 (9,11)	16,37 (9,75)	23,90 (8,54)	F=0,102; p=0,750
NF	16,25 (9,45)	22,53 (9,38)	17,48 (9,44)	24,05 (10,03)	F=0,007; p=0,933

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão.

4.2.2.3 Influência do EP sobre sintomas depressivos autoavaliados

Em relação à avaliação de sintomas depressivos autoavaliados, a comparação intragrupo dos unipolares mostrou que exposição ao EP geral ($t=-3,650$; $p<0,001$), ao AE ($t=-2,537$; $p=0,013$), ao AF ($t=-2,224$; $p=0,029$), à NE ($t=-4,722$; $p<0,001$) e à NF ($t=-2,550$; $p=0,013$) gerou uma piora dos sintomas depressivos. Sujeitos unipolares com história de AS apresentaram apenas uma tendência ($t=-1,908$; $p=0,060$) à piora em relação aos unipolares sem AS (Tabela 8).

Tabela 8 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

UNIPOLARES (n=78)			
	sem EP (n=34)	com EP (n=44)	
	média (±desvio padrão)		
EP	20,78 (15,56)	33,15 (13,36)	$t=-3,650$; $p<0,001$
AE	24,11 (16,40)	33,21 (12,50)	$t=-2,537$; $p=0,013$
AF	25,39 (16,17)	34,37 (11,56)	$t=-2,224$; $p=0,029$
AS	25,70 (15,60)	33,47 (14,24)	$t=-1,908$; $p=0,060$
NE	23,44 (15,19)	38,33 (10,76)	$t=-4,722$; $p<0,001$
NF	25,07 (16,03)	35,26 (11,33)	$t=-2,550$; $p=0,013$

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; EP: estresse precoce; ; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t.

Assim como ocorreu com os unipolares, na avaliação intragrupo dos bipolares, a presença geral de EP ($t=-3,514$; $p=0,001$), AE ($t=-4,514$; $p<0,001$), AF ($t=-3,681$; $p<0,001$), NE $t=-3,421$; $p=0,001$) e NF ($t=-2,113$; $p=0,038$) impactaram para a piora do quadro depressivo. O subtipo AS não foi significativo (Tabela 9).

Tabela 9 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

	BIPOLARES (n=79)		
	sem EP (n=32)	com EP (N=47)	
	média ($\pm$ desvio padrão)		
EP	22,31 (14,50)	33,80 (13,88)	$t=-3,514$; $p=0,001$
AE	23,03 (15,00)	37,18 (11,37)	$t=-4,514$; $p<0,001$
AF	25,13 (14,54)	37,92 (12,97)	$t=-3,681$; $p<0,001$
AS	27,39 (15,63)	34,15 (13,03)	$t=-1,729$; $p=0,088$
NE	24,79 (15,22)	36,28 (12,42)	$t=-3,421$; $p=0,001$
NF	27,03 (15,21)	35,20 (13,81)	$t=-2,113$; $p=0,038$

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; EP: estresse precoce; ; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t.

Na comparação extragrupo, nenhum dos dois grupos se mostrou sendo o mais suscetível que o outro a piora depressiva após a exposição a EP (Tabela 10).

Tabela 10 - Escore de escala de nível de depressão autoaplicada (BDI-II) - médias entre sujeitos com TDM e TB, com e sem EP.

	UNIPOLARES (n=78)		BIPOLARES (n=79)		GRUPO X EP)
	sem EP (n=34)	com EP (n=44)	sem EP (n=32)	com EP (N=47)	
	média (±desvio padrão)				
EP	20,78 (15,56)	33,15 (13,36)	22,31 (14,50)	33,80 (13,88)	F=0,035; p=0,852
AE	24,11 (16,40)	33,21 (12,50)	23,03 (15,00)	37,18 (11,37)	F=1,137; p=0,288
AF	25,39 (16,17)	34,37 (11,56)	25,13 (14,54)	37,92 (12,97)	F=0,514; p=0,475
AS	25,70 (15,60)	33,47 (14,24)	27,39 (15,63)	34,15 (13,03)	F=0,032; p=0,858
NE	23,44 (15,19)	38,33 (10,76)	24,79 (15,22)	36,28 (12,42)	F=0,471; p=0,493
NF	25,07 (16,03)	35,26 (11,33)	27,03 (15,21)	35,20 (13,81)	F=0,130; p=0,719

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; EP: estresse precoce; ; F= ANOVA de duas vias; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t.

4.3.DADOS DOS BIOMARCADORES

4.3.1 Biomarcadores Hormonais – Cortisol e Aldosterona Séricos

Os marcadores hormonais dosados foram o cortisol e aldosterona séricos, sendo apresentados nas tabelas em suas unidades internacionais nanomol por litro nmol/L e picomol/litro, respectivamente. Nas tabelas ao longo da tese, apresentaram-se seus valores em média e desvio padrão (dp).

Para os cálculos estatísticos, os valores de cortisol e aldosterona séricos foram convertidos para logaritmo, proporcionando uma distribuição normal a partir dos mesmos dados. A escolha pela utilização dos valores de cortisol e aldosterona em logaritmo foi realizada, considerando que poderia-se utilizar testes paramétricos, em vez de não paramétricos, considerando que testes paramétricos são mais robustos. Nas tabelas, os valores apresentados para média e desvio padrão não estão em logaritmo, para facilitar uma melhor visão dos dados ao leitor deste trabalho.

4.3.1.1 Cortisol Sérico

Testaram-se os valores basais de cortisol sérico de 3 formas. Na tabela 11, apresentou-se o total de amostras sujeitos controle, unipolares e bipolares e realizou-se comparação entre os 3 grupos, e apenas entre unipolares e bipolares. As tabelas 12 e 13 seguiram o mesmo modelo da tabela 11, no entanto, todos os participantes unipolares e bipolares que participaram da análise da tabela 12 apresentavam sintomas depressivos até nível moderado (GRID-HAM-D₂₁<22). Já na tabela 13, todos os unipolares e bipolares apresentavam sintomas depressivos de grave a muito graves (GRID-HAM-

D₂₁≥22). Na discussão será esclarecido o por quê foi realizada essa análise considerando os níveis de depressão dos sujeitos uni e bipolares.

Foi encontrada diferença na tabela 13, quando os participantes unipolares e bipolares apresentavam intensidade de depressão grave a muito grave. Houve diferença na análise entre unipolares e bipolares, onde bipolares apresentaram menor nível de cortisol sérico. Também, comparando-se controles x unipolares x bipolares, os unipolares foram o grupo com maior nível de cortisol, e bipolares, o menor (Bonferroni unipolares x bipolares: p=0,031). Importante ressaltar que, quando compararam-se as amostras controle, unipolar e bipolar (pacientes em nível grave a gravíssimo de depressão) onde houve diferença entre os grupos em relação aos valores de cortisol sérico, as variáveis como idade (F=2,27; p=0,106); IMC (F= F=1,749; p=0,177) e sexo (x²=1,449; p=0,485) mantiveram-se não apresentando diferença entre os grupos.

Tabela 11. Comparação entre médias (±desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos geral.

CONTROLES (n=97)	UNIPOLARES (n=69)	BIPOLARES (n=68)	CxUxB	UxB
363,93 (199,50)	364,63 (198,44)	324,75 (188,95)	F=1,299; p=0,275	T=1,637; p=0,203
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)				

Tabela 12. Comparação entre médias (±desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos até intensidade moderada.

CONTROLES (n=97)	UNIPOLARES (n=44)	BIPOLARES (n=42)	CxUxB	UxB
363,93 (199,50)	315,28 (160,65)	342,31 (222,22)	F=1,256; p=0,287	t=-0,069; p=0,945
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)				

Tabela 13. Comparação entre médias (±desvio padrão) de valores de cortisol sérico (nmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos graves a gravíssimos

CONTROLES (n=97)	UNIPOLARES (n=25)	BIPOLARES (n=26)	CxUxB	UxB
363,93 (199,50)	451,48 (230,23)	296,38 (115,50)	F=3,509; p=0,032	t=2,984; p=0,004

Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)

Gráfico 1. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes remitidos e com quadro depressivo de leve a muito grave. Nota: nmol/L=nanomol por litro.

Gráfico 2. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadro depressivo até nível moderado. Nota: GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; nmol/L=nanomol por litro.

Gráfico 3. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadro depressivo grave a gravíssimo. Nota: GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; nmol/L=nanomol por litro; *= p≤0,05; colchetes= teste *posthoc*; linha=ANOVA de uma via.

4.3.1.1.1 Influência do EP sobre os níveis de cortisol sérico

Em uma análise intragrupo dos controles, não foi encontrada nenhuma diferença entre os sujeitos expostos a EP, ou qualquer um dos subtipos, quanto aos níveis de cortisol séricos (Tabela 14). Quanto aos sujeitos unipolares sem EP, estes não apresentaram nenhuma diferença quando comparados com outros unipolares expostos (Tabela 15). Quanto aos bipolares, apesar de os expostos a Ep ou qualquer subtipo de EP não apresentarem, houve uma tendência a essa diferença no caso dos bipolares expostos a AS a apresentarem níveis mais altos de cortisol que os bipolares não expostos ($t=3,441$; $p=0,068$) (Tabela 16).

É importante observar que os controles possuem pouquíssimos casos de sujeitos com EP. Isso pode incorrer a um erro do tipo 2 (falso-negativo). Seria necessário aumentar o número de sujeitos controles com EP no grupo controle para realizar uma estatística mais robusta e ter um tamanho (controle com EP) com mais poder amostral.

Tabela 14. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos controle.

CONTROLES (n=94)		
sem EP (n=90)	com EP (n=4)	
373,51 (22,67)	267,62 (91,48)	t=0,801; p=0,373
sem AE (n=98)	com AE (n=2)	
370,73 (201,84)	289,69 (58,53)	t=0,091; p=0,764
sem AF (n=92)	com AF (n=2)	
371,83 (200,87)	238,65 (130,71)	t=1,008; p=0,318
sem AS (n=92)	com AS (n=2)	
369,68 (202,23)	337,98 (9,75)	t=0,017; p=0,896
sem NE (n=93)	com NE (n=1)	
369,41 (201,14)	331,08	t=0,003; p=0,957
sem NF (n=93)	com NF (n=1)	
369,41 (201,14)	331,08	t=0,003; p=0,957

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t ; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)

Tabela 15. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos unipolares.

UNIPOLARES (n=69)		
sem EP (n=29)	com EP (n=40)	
400,44 (223,34)	338,67 (176,64)	t=0,977; p=0,327
sem AE (n=42)	com AE (n=27)	
383,57 (216,03)	335,17 (167,07)	t=0,565; p=0,455
sem AF (n=50)	com AF (n=19)	
369,26 (207,80)	352,43 (176,07)	t=0,001; p=0,980
sem AS (n=50)	com AS (n=19)	
365,95 (204,25)	361,14 (187,54)	t=0,024; p=0,877
sem NE (n=50)	com NE (n=19)	
369,00 (200,10)	366,12 (199,62)	t=0,020; p=0,888
sem NF (n=51)	com NF (n=18)	
363,65 (202,40)	367,41 (192,37)	t=0,012; p=0,914

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t. ; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)

Tabela 16. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos bipolares.

BIPOLARES (n=66)		
sem EP (n=27)	com EP (n=39)	
286,22 (139,89)	353,63 (214,62)	t=0,608; p=0,438
sem AE (n=37)	com AE (N=29)	
307,07 (188,27)	348,68 (195,38)	t=-0,762; p=0,386
sem AF (n=44)	com AF (N=22)	
326,81 (204,07)	322,43 (166,48)	t=0,005; p=0,943
sem AS (n=49)	com AS (N=17)	
296,00 (151,71)	409,96 (262,73)	t=3,441; p=0,068
sem NE (n=40)	com NE (N=26)	
325,56 (183,67)	325,03 (205,66)	t=0,313; p=0,578
sem NF (n=50)	com NF (N=16)	
326,22 (199,75)	322,63 (191,07)	t=0,030; p=0,863
Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BSI: Inventário Beck de Ideação Suicida; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t. ; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)		

Buscou-se saber se algum dos grupos estaria mais suscetível à alteração dos níveis de cortisol que os outros quando expostos a EP ou qualquer um dos subtipos. Ao compararem-se os três grupos, não foi encontrada diferença significativa (Tabela 17), assim como não foi encontrado comparando-se apenas os grupos de pacientes (unipolares e bipolares) expostos ou não (Tabela 18).

Tabela 17. Comparação dos níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos controle, unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.

CORTISOL						
CONTROLES (n=94)		UNIPOLARES (n=69)		BIPOLARES (n=66)		
média (±desvio padrão)						
sem EP (n=90)	com EP (n=4)	sem EP (n=29)	com EP (n=40)	sem EP (n=27)	com EP (N=39)	ANÁLISE EXTRA GRUPO
373,51 (22,67)	267,62 (91,48)	400,44 (223,34)	338,67 (176,64)	286,22 (139,89)	353,63 (214,62)	F=1,121 p=0,328
sem AE (n=92)	com AE (n=2)	sem AE (n=42)	com AE (n=27)	sem AE (n=37)	com AE (N=29)	
370,73 (201,84)	289,69 (58,53)	383,57 (216,03)	335,17 (167,07)	307,07 (188,27)	348,68 (195,38)	F=0,760; p=0,469
sem AF (n=92)	com AF (n=2)	sem AF (n=50)	com AF (n=19)	sem AF (n=44)	com AF (N=22)	
371,83 (200,87)	238,65 (130,71)	369,26 (207,80)	352,43 (176,07)	326,81 (204,07)	322,43 (166,48)	F=0,411; p=0,664
sem AS (n=92)	com AS (n=92)	sem AS (n=50)	com AS (n=19)	sem AS (n=49)	com AS (N=17)	
369,68 (202,23)	337,98 (9,75)	365,95 (204,25)	361,14 (187,54)	296,00 (151,71)	409,96 (262,73)	F=0,888; p=0,413
sem NE (n=93)	com NE (n=1)	sem NE (n=49)	com NE (n=20)	sem NE (n=40)	com NE (N=26)	
369,41 (201,14)	331,08	369,00 (200,10)	366,12 (199,62)	325,56 (183,67)	325,03 (205,66)	F=0,139; p=0,871
sem NF (n=93)	com NF (n=1)	sem NF (n=51)	com NF (n=18)	sem NF (n=50)	com NF (N=16)	
369,41 (201,14)	331,08	363,65 (202,40)	367,41 (192,37)	326,22 (199,75)	322,63 (191,07)	F=0,024; p=0,977
Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)						

Tabela 18. Comparação dos níveis de cortisol [nmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.

CORTISOL				
UNIPOLARES (n=69)		BIPOLARES (n=66)		
média (±desvio padrão)				
sem EP (n=29)	com EP (n=40)	sem EP (n=27)	com EP (N=39)	
400,44 (223,34)	338,67 (176,64)	286,22 (139,89)	353,63 (214,62)	F=1,548; p=0,216
sem AE (n=42)	com AE (n=27)	sem AE (n=37)	com AE (N=29)	
383,57 (216,03)	335,17 (167,07)	307,07 (188,27)	348,68 (195,38)	F=1,328; p=0, 251
sem AF (n=50)	com AF (n=19)	sem AF (n=44)	com AF (N=22)	
369,26 (207,80)	352,43 (176,07)	326,81 (204,07)	322,43 (166,48)	F=0,005; p=0,945
sem AS (n=50)	com AS (n=19)	sem AS (n=49)	com AS (N=17)	
365,95 (204,25)	361,14 (187,54)	296,00 (151,71)	409,96 (262,73)	F=1,600; p=0,208
sem NE (n=49)	com NE (n=20)	sem NE (n=40)	com NE (N=26)	
369,00 (200,10)	366,12 (199,62)	325,56 (183,67)	325,03 (205,66)	F=0,248; p=0,620
sem NF (n=51)	com NF (n=18)	sem NF (n=50)	com NF (N=16)	
363,65 (202,40)	367,41 (192,37)	326,22 (199,75)	322,63 (191,07)	F=0,041; p=0,840
Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)				

Sabendo-se que a literatura aponta que sujeitos com depressão apresentam alterações nos níveis de cortisol por causa da doença depressão em si, comorbidades (ansiedade, desesperança, ideação suicida) e frente a estresse precoce e seus subtipos (CTQ, AE, AF, AS, NE, NF), buscamos saber se os níveis de unipolares e bipolares se alterariam conforme a exposição a esses contrutos. Inicialmente, correlacionamos os níveis de cortisol dos unipolares e bipolares aos escores brutos das escalas (Tabela 19) e depois à gravidade dos sintomas mensurados pelas escalas (Tabela 20).

Considerando os escores brutos, observou-se uma fraca correlação direta entre cortisol e ideação suicida nos unipolares (BSI; $r^2=0,294$; $p=0,018$). Nenhuma correlação significativa para o grupo bipolar. Apenas uma tendência à fraca correlação direta entre níveis de cortisol e exposição a AS ($r^2=0,233$; $p=0,06$) (Tabela 19).

Considerando os níveis (inexistente, leve, moderado, grave ou muito grave) provido pelas escalas a partir de pontos de corte, foram feitas novas correlações. Para unipolares, nenhuma correlação significativa foi encontrada. Para os bipolares, foi encontrada uma tendência a correlação entre piora da classificação de exposição a AS e aumento dos níveis de cortisol ($r^2=0,237$; $p=0,056$) (Tabela 20).

Tabela 19. Avaliação da correlação dos níveis de cortisol (nmol/L) com a pontuação bruta de construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.

NÍVEL DE CORTISOL (Log nmol/L) x TESTES PSICOMÉTRICOS (PONTUAÇÃO BRUTA)											
UNIPOLARES											
	GRID-HAM-D ²¹	BDI	BAI	BHS	BSI	CTQ	AE	AF	AS	NE	NF
CORTISOL	0,168	0,110	0,045	-0,012	0,294	0,017	0,010	0,016	-0,004	0,107	0,132
P	0,168	0,381	0,715	0,738	0,018	0,888	0,937	0,897	0,971	0,380	0,280
BIPOLARES											
	GRID-HAM-D ²¹	BDI	BAI	BHS	BSI	CTQ	AE	AF	AS	NE	NF
CORTISOL	-0,123	-0,197	-0,190	-0,048	-0,045	0,095	0,027	0,088	0,233	0,081	-0,147
P	0,318	0,113	0,121	0,705	0,717	0,447	0,832	0,481	<i>0,060</i>	0,519	0,231

AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BAI: Inventário Beck de Ansiedade; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; BSI: Inventário Beck de Ideação Suicida; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; p: nível de significância. *Análise estatística utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)

Gráfico 4. Correlação entre os níveis de cortisol sérico e intensidade da ideação suicida dos pacientes unipolares. Correlação positiva e significativa. Nota: BSI: Inventário de Suicídio de Beck; nmol/L=nanomol por litro; * = p<0,05.

Tabela 20. Avaliação da correlação dos níveis de cortisol (nmol/L) com a níveis de gravidade dos construtos avaliados por instrumentos psicométricos nos grupos unipolar e bipolar.

NÍVEL DE CORTISOL (Log nmol/L) x TESTES PSICOMÉTRICOS (GRAVIDADE DO CONSTRUTO)									
UNIPOLARES -									
	GRID-HAM-D ²¹	BDI	BAI	BHS	AE	AF	AS	NE	NF
CORTISOL	0,103	-0,030	0,011	-0,041	0,024	0,017	-0,030	0,043	-0,044
P	0,401	0,981	0,932	0,743	0,825	0,889	0,983	0,724	0,719
BIPOLARES									
	GRID-HAM-D ²¹	BDI	BAI	BHS	AE	AF	AS	NE	NF
CORTISOL	-0,203	-0,181	-0,113	0,012	-0,014	0,027	0,237	0,080	0,033
P	0,097	0,145	0,359	0,925	0,912	0,832	0,056	0,522	0,794

AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; BAI: Inventário Beck de Ansiedade; BDI-II: Inventário Beck de Depressão II; BSI: Inventário Beck de Ideação Suicida; EP: estresse precoce; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; p: nível de significância. *Análise estatística utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L)

4.3.1.2 Aldosterona Sérica

Testou-se os valores basais de aldosterona sérica (pmol/L) de três formas. Na tabela 21, apresentou-se o total de amostras sujeitos controle, unipolares e bipolares e realizou-se comparação entre os três grupos, e apenas entre unipolares e bipolares. A tabela 22 e 23 seguiram o mesmo modelo da tabela 21, no entanto, todos os participantes unipolares e bipolares que participaram da análise incluída na tabela 12, apresentavam sintomas depressivos até nível moderado ($\text{GRID-HAM-D}_{21} < 22$). Já na tabela 13, todos os unipolares e bipolares apresentavam sintomas depressivos de grave a muito graves ($\text{GRID-HAM-D}_{21} \geq 22$). Na discussão será esclarecido o porquê foi realizada essa análise considerando os níveis de depressão dos sujeitos uni e bipolares.

Para a realização dos testes estatísticos, transformaram-se os valores de aldosterona sérica em logaritmo, de forma a normalizar os dados. Testes paramétricos são mais robustos e confiáveis que testes não-paramétricos.

Foi encontrada diferença na tabela 23, quando os participantes unipolares e bipolares apresentavam intensidade de depressão grave a muito grave. Houve diferença entre os três grupos considerando os níveis médios de aldosterona sérica. Os unipolares apresentaram os maiores níveis; os controles, níveis intermediários; e os bipolares, níveis mais baixos, na comparação entre grupos. Na análise entre unipolares e bipolares, os bipolares apresentaram menor nível de aldosterona sérica ($F=4,865$; $p=0,009$). Na análise *posthoc*, houve clara diferença entre unipolares e bipolares (Bonferroni: $p=0,009$) e entre bipolares e controles (Bonferroni: $p=0,04$).

Importante ressaltar que, quando compararam-se as amostras controle, unipolar e bipolar (pacientes com quadros graves a gravíssimos de depressão),

as variáveis como idade ($F=1,789$; $p=0,065$); IMC ($F=0,399$; $p=0,672$) e sexo ($\chi^2=2,459$; $p=0,292$) para essa subamostra não apresentou diferença entre os grupos.

Tabela 21. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos.

CONTROLES ($n=103$)	UNIPOLARES ($n=69$)	BIPOLARES ($n=68$)	CxUxB	UxB
375,74 (312,90)	382,65 (365,50)	315,19 (214,76)	$F=1,136$; $p=0,323$	$F=0,444$; $p=0,506$
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L)				

Tabela 22. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos até intensidade moderados.

CONTROLES ($n=103$)	UNIPOLARES ($n=41$)	BIPOLARES ($n=39$)	CxUxB	UxB
375,74 (312,90)	298,98 (239,65)	355,23 (236,51)	$F=2,359$; $p=0,097$	$t=-1,571$; $p=0,120$
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L)				

Tabela 23. Comparação entre médias ($\pm$ desvio padrão) de valores de aldosterona sérica (pmol/L) entre grupos – unipolares e bipolares com sintomas depressivos graves a gravíssimos.

CONTROLES ($n=103$)	UNIPOLARES ($n=26$)	BIPOLARES ($n=26$)	CxUxB	UxB
375,74 (312,90)	517,17 (480,10)	255,13 (163,67)	$F=4,865$; $p=0,009$	$t=2,694$; $p=0,01$
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; F= ANOVA de uma via p: nível de significância; nmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar cortisol – nanomol por litro; t= Teste t de amostras independentes; U: grupo dos unipolares. *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L)

Gráfico 5. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de aldosterona sérica entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes remitidos e com quadro depressivo de leve a muito grave. Nota: pmol/L=picomol por litro.

Gráfico 6. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de aldosterona sérica entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadro depressivo até nível moderado. Nota: GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; pmol/L=picomol por litro.

Gráfico 7. Comparação da média e desvio padrão dos níveis de cortisol sérico entre controles, unipolares e bipolares. Grupo unipolar e bipolar apresentavam pacientes com quadro depressivo grave a gravíssimo. Nota: GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; pmol/L=picomol por litro; * = $p \leq 0,05$; **, $p \leq 0,01$; colchetes= teste *posthoc*; linha=ANOVA de uma via.

4.3.1.2.1 Influência do EP e comorbidades sobre os níveis de aldosterona sérica

Assim como para cortisol, realizou-se, primeiramente, uma análise intragrupo considerando a presença ou não de EP e seus subtipos. Para controles (Tabela 24) e unipolares (Tabela 25), a exposição não alterou os níveis de aldosterona. No entanto, para bipolares a exposição a EP mostrou alterar os níveis de aldosterona (Tabela 26). Como já citado no item 4.3.1.1.1, sujeitos controles com EP são escassos. Isso pode incorrer a um erro do tipo 2 (falso-negativo). Seria necessário aumentar o número de sujeitos controles com EP para realizar uma estatística mais robusta.

Pacientes bipolares expostos a EP geral (t=5,503; p=0,022) e AF (t=5,704; p=0,020) apresentaram níveis mais baixos de aldosterona do que bipolares não expostos. Apesar de não significativo, bipolares expostos AE (t=3,694; p=0,059) e NE (t=3,575; p=0,063) mostraram uma tendência a níveis mais baixos de aldosterona do que os não expostos (Tabela 26).

Tabela 24. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos controle.

CONTROLES (n=100)		
ALDOSTERONA (Log pmol/L) x EP (ou subtipo)		
sem EP (n=98)	com EP (n=2)	t=0,848; p=0,359
377,30 (321,82)	252,04 (110,36)	
sem AE (n=98)	com AE (n=2)	t=2,623; p=0,109
375,52 (317,17)	151,32 (48,44)	
sem AF (n=99)	com AF (n=1)	t=2,280; p=0,134
373,60 (316,13)	117,06	
sem AS (n=98)	com AS (n=2)	t= 0,487; p=0,487
373,22 (317,73)	263,81 (207,53)	
sem NE (n=98)	com NE (n=2)	t=1,321; p=0,253
374,58 (317,60)	197,23 (113,37)	
sem NF (n=98)	com NF (n=2)	t=1,398; p=0,240
374,66 (317,57)	193,35 (107,88)	

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; p: nível de significância; pmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar aldosterona – picomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; .*Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores da aldosterona sérica (pmol/L)

Tabela 25. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos unipolares.

UNIPOLARES (n=67)		
ALDOSTERONA Log pmol/L x EP (ou subtipo)		
sem EP (n=40)	com EP (n=27)	t=0,094; p=0,760
396,55 (445,54)	373,80 (296,39)	
sem AE (n=40)	com AE (n=27)	t=0,165; p=0,686
418,14 (436,12)	332,55 (221,99)	
sem AF (n=48)	com AF (n=19)	t=0,089; p=0,766
389,66 (404,70)	368,46 (248,70)	
sem AS (n=49)	com AS (n=18)	t=0,000; p=0,990
389,11 (396,32)	368,79 (273,59)	
sem NE (n=48)	com NE (n=19)	t=-0,180; p=0,672
381,08 (366,22)	390,14 (373,61)	
sem NF (n=49)	com NF (n=18)	t=1,155; p=0,287
414,70 (403,79)	299,11 (218,98)	

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; p: nível de significância; pmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar aldosterona – picomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; . *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores da aldosterona sérica (pmol/L)

Tabela 26. Avaliação intragrupo da influência do estresse precoce e seus subtipos sobre os níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] dos sujeitos bipolares.

BIPOLARES (n=63)		
ALDOSTERONA Log pmol/L x EP (ou subtipo)		
sem EP (n=35)	com EP (n=28)	t=5,503; p=0,022
385,50 (261,88)	267,57 (166,21)	
sem AE (n=35)	com AE (N=28)	t=3,694; p=0,059
364,09 (245,00)	261,36 (162,37)	
sem AF (n=43)	com AF (N=20)	t=5,704; p=0,020
355,97 (232,51)	237,65 (154,77)	
sem AS (n=46)	com AS (N=17)	t=-0,265; p=0,609
316,18 (234,27)	324,43 (167,01)	
sem NE (n=40)	com NE (N=23)	t=3,575; p=0,063
354,86 (236,35)	255,01 (164,13)	
sem NF (n=47)	com NF (N=16)	t=0,457; p=0,501
330,99 (229,23)	281,44 (177,05)	
Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; p: nível de significância; pmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar aldosterona – picomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; t= valor do Teste t; TDM: Transtorno Depressivo Maior; TB: Transtorno Bipolar		

;

Buscou-se saber se algum dos grupos estaria mais suscetível à alteração dos níveis de aldosterona que os outros quando expostos a EP ou qualquer um dos subtipos. Ao comparar-se os 3 grupos, não foi encontrada diferença significativa (Tabela 27). Apesar de também não se observar uma diferença significativa dos níveis de aldosterona comparando-se apenas os grupos de pacientes (unipolares e bipolares) expostos ou não, houve uma tendência a diferença quando expostos a EP geral ($F=2,975$; $p=0,087$) ou AF ($F= 2,963$; $p=0,088$). Os bipolares tendem a reagir com maior diminuição dos níveis de aldosterona quando expostos a AF (Tabela 28).

Tabela 27. Comparação dos níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos controle, unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.

ALDOSTERONA						
CONTROLES (n=100)		UNIPOLARES (n=67)		BIPOLARES (n=63)		ANÁLISE EXTRA GRUPO
Média (±desvio padrão)						
sem EP (n=98)	com EP (n=2)	sem EP (n=40)	com EP (n=27)	sem EP (n=35)	com EP (n=28)	F=1,702; p=0,185
377,30 (321,82)	252,04 (110,36)	396,55 (445,54)	373,80 (296,39)	385,50 (261,88)	267,57 (166,21)	
sem AE (n=98)	com AE (n=2)	sem AE (n=40)	com AE (n=27)	sem AE (n=35)	com AE (N=28)	F=1,026; p=0,360
375,52 (317,17)	151,32 (48,44)	418,14 (436,12)	332,55 (221,99)	364,09 (245,00)	261,36 (162,37)	
sem AF (n=99)	com AF (n=1)	sem AF (n=48)	com AF (n=19)	sem AF (n=43)	com AF (N=20)	F=2,279; p=0,105
373,60 (316,13)	117,06	389,66 (404,70)	368,46 (248,70)	355,97 (232,51)	237,65 (154,77)	
sem AS (n=98)	com AS (n=2)	sem AS (n=49)	com AS (n=18)	sem AS (n=46)	com AS (N=17)	F=0,314; p=0,731
373,22 (317,73)	263,81 (207,53)	389,11 (396,32)	368,79 (273,59)	316,18 (234,27)	324,43 (167,01)	
sem NE (n=98)	com NE (n=2)	sem NE (n=48)	com NE (n=19)	sem NE (n=40)	com NE (N=23)	F=0,579; p=0,561
374,58 (317,60)	197,23 (113,37)	381,08 (366,22)	390,14 (373,61)	354,86 (236,35)	255,01 (164,13)	
sem NF (n=98)	com NF (n=2)	sem NF (n=49)	com NF (n=18)	sem NF (n=47)	com NF (N=16)	F=0,308; p=0,735
374,66 (317,57)	193,35 (107,88)	414,70 (403,79)	299,11 (218,98)	330,99 (229,23)	281,44 (177,05)	
Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; p: nível de significância; pmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar aldosterona – picomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; . *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores da aldosterona sérica (pmol/L)						

Tabela 28. Comparação dos níveis de aldosterona [pmol/L - média (desvio padrão)] entre grupos unipolar e bipolar sobre influência de estresse precoce e seus subtipos.

ALDOSTERONA				
UNIPOLARES (n=67)		BIPOLARES (n=63)		ANÁLISE EXTRA GRUPO
Média (±desvio padrão)				
sem EP (n=40)	com EP (n=27)	sem EP (n=35)	com EP (n=28)	F=2,975; p=0,087
396,55 (445,54)	373,80 (296,39)	385,50 (261,88)	267,57 (166,21)	
sem AE (n=40)	com AE (n=27)	sem AE (n=35)	com AE (N=28)	F=0,828; p=0,365
418,14 (436,12)	332,55 (221,99)	364,09 (245,00)	261,36 (162,37)	
sem AF (n=48)	com AF (n=19)	sem AF (n=43)	com AF (N=20)	F= 2,963; p=0,088
389,66 (404,70)	368,46 (248,70)	355,97 (232,51)	237,65 (154,77)	
sem AS (n=49)	com AS (n=18)	sem AS (n=46)	com AS (N=17)	F=0,105; p=0,746
389,11 (396,32)	368,79 (273,59)	316,18 (234,27)	324,43 (167,01)	
sem NE (n=48)	com NE (n=19)	sem NE (n=40)	com NE (N=23)	F=0,700; p=0,404
381,08 (366,22)	390,14 (373,61)	354,86 (236,35)	255,01 (164,13)	
sem NF (n=49)	com NF (n=18)	sem NF (n=47)	com NF (N=16)	F=0,125; p=0,724
414,70 (403,79)	299,11 (218,98)	330,99 (229,23)	281,44 (177,05)	

Nota: AE: Abuso Emocional; AF: Abuso Físico; AS: Abuso Sexual; EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; p: nível de significância; pmol/L: unidade do sistema internacional para mensurar aldosterona – picomol por litro; NE: Negligência Emocional; NF: Negligência Física; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores da aldosterona sérica (pmol/L)

Sabendo-se que a literatura também aponta que alterações nos níveis de aldosterona em casos de depressão e suas comorbidades (ansiedade, desesperança, ideação suicida) e/ou exposição a EP e seus subtipos (CTQ, AE, AF, AS, NE, NF), buscou-se saber se os níveis de unipolares e bipolares se alterariam conforme a exposição a esses construtos. Inicialmente, correlacionamos os níveis de aldosterona dos unipolares e bipolares aos escores brutos das escalas (Tabela 29) e depois à gravidade dos sintomas mensurados pelas escalas (Tabela 30).

Em relação às correlações dos níveis de aldosterona aos escores brutos das escalas, observou-se que pacientes unipolares apresentaram relação direta dos níveis desse hormônio aos escores desses construtos. Unipolares apresentaram uma correlação direta fraca entre aldosterona e depressão heteroavaliada (GRID-HAM-D₂₁; $r^2=0,247$; $p=0,044$) e desesperança (BHS; $r^2=0,249$; $p=0,019$) e correlação direta moderada entre depressão autoavaliada (BDI-II; $r^2=0,364$; $p=0,003$) e ideação suicida (BSI; $r^2=0,371$; $p=0,003$) (Tabela 34). Os bipolares em relação aos escores brutos das escalas, apresentaram uma correlação inversamente proporcional fraca com os escores de ansiedade (BAI; $r^2=-0,256$; $p=0,04$) e inversamente proporcional de forma moderada aos escores que pontuam exposição a AF ($r^2=-0,321$; $p=0,001$).

Considerando os níveis (inexistente, leve, moderado, grave ou muito grave) provido pelas escalas a partir de pontos de corte, foram feitas novas correlações. Para unipolares, houve uma correlação direta fraca entre aldosterona e depressão heteroavaliada (GRID-HAM-D₂₁; $r^2=0,273$; $p=0,025$) e desesperança (BHS; $r^2=0,284$; $p=0,022$). Este mesmo grupo, apresentou uma fraca tendência à correlação diretamente proporcional aos escores de depressão autoavaliada (BDI; $r^2=0,245$; $p=0,051$). Para bipolares, houve uma relação inversamente proporcional entre aldosterona e gravidade da exposição a AF ($r^2=-0,321$; $p=0,001$) e uma tendência a uma correlação fraca e inversamente proporcional à gravidade de exposição a AE ($r^2=-0,235$; $p=0,063$) (Tabela 30).

Gráfico 8. Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas depressivos heteroavaliados de pacientes unipolares. Correlação positiva e significativa. Nota: GRID-HAM-D₂₁: Escala GRID Hamilton de Avaliação de Depressão; pmol/L=picomol por litro; * = p<0,05.

Gráfico 9. Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas depressivos autoavaliados de pacientes unipolares. Correlação positiva e significativa. Nota: BDI: Inventário Beck de Depressão; pmol/L=picomol por litro; * = p<0,05.

Gráfico 10. Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade da de sintomas de desesperança de pacientes unipolares. Correlação positiva e significativa. Nota: BHS: Escala Beck de Desesperança; pmol/L=picomol por litro; * = $p<0,05$.

Gráfico 11. Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e escore de história de abuso físico de pacientes bipolares. Correlação negativa e significativa. Nota: pmol/L=picomol por litro; * = $p<0,05$.

Gráfico 12. Correlação entre os níveis de aldosterona sérica e intensidade de sintomas ansioso físico de pacientes bipolares. Correlação negativa e significativa. Nota: BAI: Inventário Beck de Ansiedade; pmol/L=picomol por litro; * = $p < 0,05$.

4.3.2 Biomarcadores Genéticos – Polimorfismos de NR3C1 (GR) e NR3C2 (MR)

Na etapa genética deste trabalho foram investigadas as frequências dos polimorfismos de MR (MI180V e -2G/C) e GR (N363S, R22/23K e BclI), entre os grupos estudados.

4.3.2.1 Análise do Equilíbrio de Hardy-Weinberg para os Genes GR e MR (Amostra Total e por Grupo)

Foi realizada a verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg por grupo e na amostra como um todo. Considerando a amostra total e grupo a grupo, todos polimorfismos de GR e MR estavam em equilíbrio (Tabela 31).

Tal desequilíbrio pode ser resultado de uma frequência extremamente baixa esperada para o genótipo AG e GG no polimorfismo N363S. Os controles apresentaram quase três vezes mais heterozigotos do que o esperado. G é um alelo extremamente raro e se o grupo não for muito grande, a presença de um homozigoto para G ou poucos heterozigotos pesam para que haja tal desequilíbrio.

4.3.2.2 Comparação de dados sobre os polimorfismos estudados em relação a bases de dados científicas e artigo da literatura brasileira

Sabe-se que a frequência de alelos e genótipos podem diferir de acordo com a subpopulação/etnia estudada (SOUZA et al., 2014). Por isso, ao montarmos nossa amostra, tivemos o cuidado para não apresentar diferença de etnias entre os grupos controle, unipolar e bipolar.

Além disso, comparamos a frequência alélica encontrada em nosso estudo com os dados presentes em banco de dados do NCBI (disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) e Ensembl (para observação de frequências quanto à subpopulação; disponível em: <https://www.ensembl.org/index.html>). Conforme as tabelas e análises apresentadas abaixo, não houve diferença para a Frequência do Alelo Menor (MAF) entre o presente estudo e as bases de dados Ensembl e dbSNP. (Tabela 32).

Tabela 32. Comparação das MAF encontradas na literatura dbSNP com as MAF encontradas na amostra do estudo.

ALELOS MAF	AMOSTRA MAF	dbSNP MAF	Ensembl MAF
MAF MI180V (G)	0,0121	0,1182	0,11
MAF -2G/C (G)	0,5428	0,4221	0,5
MAF N363S (G)	0,0239	0,018	0,01
MAF R22/23K (A)	0,0092	0,0157	0,01
MAF BclI (C)	0,2205	0,3039	0,25
MAF Amostra x dbSNP: p= 0,911			
MAF Amostra x Ensembl: p= 0,937			
Nota: MAF: Frequência do Alelo Menor; P: Nível de significância;			

A base Ensembl traz a diferença de MAF para diferentes polimorfismos dependendo da sunpopulação estudada. Comparamos os MAFs do presente estudo e nenhuma diferença significativa foi encontrada (Tabela 33).

Tabela 33. Comparação das MAF encontradas na literatura (Ensembl) com as MAF encontradas na amostra do estudo.

	GR BcII		GR N363S		GR R22/23K		MR MI180V		MR -2G/C	
	MAF-E	MAF-A	MAF-E	MAF-A	MAF-E	MAF-A	MAF-E	MAF-A	MAF-E	MAF-A
AFRICA	0,2	0,3106	0,1	0,1179	0,1	0,1	0,07	0,0833	0,84	0,49
AMERICA	0,26	0,3	0,11	0,1	0,11	0,1	0,17	0,3	0,45	0,6
LESTE ASIÁTICO	0	0,1667	0,1	0,1833	0,1	0,1	0,15	0,0741	0,24	0,25
EUROPA	0,24	0,3391	0,12	0,1256	0,13	0,1102	0,08	0,0249	0,51	0,536
P	0,971		0,998		0,999		0,968		0,962	
Nota: A: amostra; E: Ensembl; MAF: Frequencia do Alelo Menor; P: Nível de significância *.Aos todos os valores de MAFs de N363S (amostral e Ensembl) e R22/23K (amostral e Ensembl) foram somados 0,1 para que o cálculo qui-quadrado fosse viável										

Assim como o estudo desta tese, Souza et al. (2014) também avaliaram os mesmos três dos polimorfismos de GR - BcII, N363S, R22/23K - . na população brasileira e observaram também a diferença de frequencia alélica que acontecia em cada subpopulação (etnia). Comparando-se os dados encontrados em Souza et al. (2014) com os do presente estudo, não houve diferença nos MAFs entre as subpopulações caucasiana, negra ou asiática para os genes de GR N363S, R22/23K e BcII (Tabela 34).

Tabela 34. Comparação entre os valores de MAF nas subpopulações brasileiras estudadas considerando o gene N363S.		
AMOSTRA SOUZA ET AL. (2014)		AMOSTRA TESE N363S
p=0,860	MAF GR N363S	
CAUCASIANO	0,02	0,256
NEGRO	0,022	0,0179
ASIÁTICO	0	0,0833
p=0,999	MAF GR R22/23K	
CAUCASIANO	0,122	0,1102
NEGRO	0,1	0,1
ASIÁTICO	0,1	0,1
p=0,706	MAF GR BclI	
CAUCASIANO	0,242	0,3391
NEGRO	0,29	0,3106
ASIÁTICO	0,5	0,1667
Nota: MAF: Frequencia do Alelo Menor; P: Nível de significância; * acrescentou-se 0,1 a todos os MAFs de N363S e R22/23K para que o cálculo fosse viável.		

4.3.2.3 Polimorfismos como biomarcadores para diferenciar unipolares e bipolares

A etapa genética do presente estudo consistiu em estudar a prevalência de polimorfismos em unipolares e bipolares e compará-los entre si e com o grupo controle. Os polimorfismos estudados foram MR MI180V, MR-2G/C; GR N363S, GR R22/23K e GR BclI.

Quanto à frequência de genótipos entre os três grupos, não houve diferença significativa em nenhum caso. Quanto à frequência genotípica dos pacientes com depressão (unipolares e bipolares), quando comparados a controles, observou-se a maior prevalência de heterozigotos no grupo de pacientes para GR N363S (p=0,044) – pacientes com uma maior frequência de heterozigotos. Quanto a diferença de frequência genotípica entre unipolares e bipolares, não houve diferença em nenhum caso, apesar de uma tendência ($\chi^2=4,829$; p=0,089) de maior prevalência de heterozigotos dentro do grupo unipolar para BclI (>50% do grupo) (Tabela 35).

Tabela 35 - Comparação de frequência de genótipos entre grupos.

FREQUÊNCIA GENOTÍPICA DOS GRUPOS							
	AMOSTRA TOTAL (n=273)	CONTROLE (n=113)	UNIPOLAR (n=78)	BIPOLAR (N=82)	χ^2		
MR MI180V (n/%)							
GG	3 (1,10)	2 (1,77)	1 (1,28)	0 (0)	CxUxB	C x (U+B)	UxB
AG	48 (17,58)	21 (18,58)	15 (19,23)	12 (14,63)	p=0,757	p=0,617	p=0,423
AA	222 (81,32)	90 (79,65)	62 (79,49)	70 (85,37)			
MR -2G/C (n/%)							
CC	66 (24,18)	32 (28,32)	17 (21,79)	17 (20,73)	CxUxB	C x (U+B)	UxB
CG	130 (47,62)	51 (45,13)	38 (48,72)	41 (50,00)	$\chi^2=1,840$; p=0,768	$\chi^2=1,807$; p=0,405	$\chi^2=0,035$; p=0,983
GG	77 (28,20)	30 (26,55)	23 (29,49)	24 (29,27)			
GR N363S (n/%)*							
AA	260 (95,59)	110 (98,21)*	73 (93,59)	77 (93,92)	CxUxB	C x (U+B)	UxB
AG	11 (4,04)	1 (0,893)*	5 (5,41)	5 (5,08)	p=0,131	p=0,044	p=1,0
GG	1 (0,036)	1 (0,893)*	0 (0)	0 (0)			
GR R22/23K (n/%)*							
GG	267 (98,16)	109 (97,32)*	77 (98,72)	81 (98,78)	CxUxB	C x (U+B)	UxB
AG	5 (1,84)	3 (2,68)*	1 (1,28)	1 (1,22)	p=0,737	p=0,405	p=1,0
GR BclI (n/%)							
GG	125 (45,79)	54 (47,79)	29 (37,18)	42 (51,22)	CxUxB	C x (U+B)	UxB
GC	121 (44,32)	47 (41,59)	43 (55,13)	31 (37,81)	$\chi^2=5,460$; p=0,243	$\chi^2=0,596$; p=0,742	$\chi^2=4,829$; p=0,089
CC	27 (9,89)	12 (10,62)	6 (7,69)	9 (10,97)			
Nota: B: grupo dos bipolares; C: grupo dos controles; (C+U): grupo de pacientes depressivos, independente da polaridade; n: número de sujeitos por grupo; p: nível de significância; U: grupo dos unipolares; χ^2 : Teste qui-quadrado (exato – apenas o p - ou assintótico). *Esses 2 polimorfismos tem 1 sujeito a menos no grupo controle.							

Em relação à frequência de alelos para os polimorfismo, comparou-se unipolar x bipolar, bipolar x controle, unipolar x controle na tabela 36, e frequência alélica entre controle x grupo de pacientes deprimidos (unipolar + bipolar), na tabela 37. Em nenhum dos casos houve diferença significativa.

Tabela 36. Comparação da frequência de alelos (percentual) entre os grupos controle, unipolar e bipolar.

Alelos	Frequencia alélica por GRUPO (%)			p		
MR I180V	C	U	B	CXU	CXB	UXB
G	11,06	10,1	7,32	0,762	0,151	0,274
A	88,94	89,1	92,68			
MR -2G/C	C	U	B	CXU	CXB	UXB
G	50,89	53,85	51,92	0,553	0,837	0,699
C	49,11	46,15	48,08			
GR N363S *	C	U	B	CXU	CXB	UXB
A	98,66	96,79	96,95	0,289	0,320	0,926
G	1,34	3,21	3,05			
GR R22/23K *	C	U	B	CXU	CXB	UXB
G	98,66	99,36	99,39	0,380	0,348	0,969
A	1,34	0,64	0,61			
GR BcII	C	U	B	CXU	CXB	UXB
G	68,58	64,74	70,12	0,421	0,736	0,240
C	31,42	35,26	29,88			

Nota: C: grupo dos controles; B: grupo dos bipolares; p: nível de significância; n: Número de sujeitos por grupo; p: nível de significância; U: grupo dos unipolares; χ^2 : Teste exato do qui-quadrado; %:percentual.

Tabela 37. Comparação da frequência de alelos (percentual) entre os grupos controle e pacientes deprimidos.

Alelos	Frequencia alélica por GRUPOS (%)		p
	MR I180V	C (U+B)	
G		11,06 9,11	p=0,498
A		88,94 90,89	
MR -2G/C		C (U+B)	p= 0,617
G		50,89 53,385	
C		49,11 46,615	
GR N363S *		C (U+B)	p= 0,310
A		98,66 96,87	
G		1,34 3,1	
GR R22/23K *		C (U+B)	p= 0,364
G		98,66 99,375	
A		1,34 0,625	
GR BcII		C (U+B)	p= 0,806
G		68,58 67,43	
C		31,42 32,57	

Nota: C: grupo dos controles; B: grupo dos bipolares; p: nível de significância; n: Número de sujeitos por grupo; p: nível de significância; U: grupo dos unipolares; U+B: grupo de pacientes depressivos, independente da polaridade χ^2 : Teste exato do qui-quadrado.

4.3.3 Biomarcadores genéticos e hormonais associados para diferenciação entre unipolares e bipolares

Os próximos tópicos trazem os resultados referentes à influência dos polimorfismos estudados sobre os níveis de cortisol e de aldosterona basais, comparando-se de forma intragrupo (amostra geral, controles, unipolares e bipolares) e extragrupo (controles x unipolares x bipolares e unipolares x bipolares).

4.3.3.1 Polimorfismos de MR e GR e cortisol sérico

Tabela 38. Comparação intragrupo da amostra geral dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.

AMOSTRA GERAL (N=234)		
CORTISOL (nmol/L)		
média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=3)	362,35 (262,11)	<u>GGxGCxAA:</u> F=0,046; p=0,955
AG (n=42)	369,77 (238,67)	
AA (n=189)	348,82 (185,62)	
MR -2G/C		
CC (n=58)	336,45 (166,42)	<u>CCxCGxGG:</u> F=2,308; p=0,102
CG (n=113)	287,53 (229,08)	
GG (n=63)	305,37 (140,06)	
GR N363S #		
AA(n=222)	353,13 (198,53)	<u>AAxAGxGG:</u> F=0,303; p=0,739; <u>AAxGG:</u> #t=-0,431; p=0,667
AG (n=11)	358,17 (152,97)	
GG (n=1)	209,68	
R22/23K		
GG (n=231)	352,29 (194,93)	<u>GGxGA:</u> t=-0,053; p=0,958
AG (n=3)	388,10 (333,20)	
GR BcII		
GG (n=108)	373,69 (185,54)	<u>GGxGCxCC:</u> F=3,190; p=0,043 (<i>posthoc</i> CG x GG: p=0,049)
GC (n=104)	324,55 (199,14)	
CC (n=22)	383,25 (223,28)	
Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L). #Cálculo realizado excluindo genótipo que possui apenas 1 sujeito.		

Não foi encontrada nenhuma diferença no cortisol sérico basal entre os diferentes genótipos nos controles (Tabela 39).

Tabela 39. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de controles considerando os genótipos.

CONTROLE		
CORTISOL (nmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=2)	212,44 (50,72)	<u>GG x AG x AA:</u> F=0,594; P=0,554
AG (n=19)	401,22 (301,49)	
AA (n=76)	358,60 (167,64)	<u>AG x AA:</u> t=0,111; P=0,912
MR -2G/C		
CC (n=26)	344,56 (162,09)	<u>CC x CG x GG:</u> F=0,466; P=0,629
CG (n=46)	395,74 (238,45)	
GG (n=25)	325,56 (146,11)	
GR N363S * #		
AA (n=95)	362,42 (198,61)	<u>AA x AG x GG:</u> F=1,221; P=0,300 OU ##
AG (n=1)	662,16	
GG (n=1)	209,67	
GR R22/23K #		
GG (n=96)	365,54 (199,92)	<u>GG x GA:</u> F=0,760; P=0,440 OU ##
GA (n=1)	182,09	
AA (n=0)	0	
GR BcII		
GG (n=44)	398,24 (187,06)	<u>GG x GC x CC:</u> F=2,411; P=0,095
GC (n=42)	335,68 (216,50)	
CC (n=11)	334,59 (173,13)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L). #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

Para unipolares, CG x GG apresentaram uma tendência a diferença para MR -2G/C ($F= 2,850$; $p=0,065$; *posthoc* CGxGG: $p=0,072$). O genótipo GG em unipolares tenderia a apresentar níveis basais de cortisol mais baixos. Não houve diferença nos níveis de cortisol entre genótipos dentro de unipolares (Tabela 40).

Tabela 40. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de unipolares considerando os genótipos.

UNIPOLAR CORTISOL (nmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=1)	662,16	<u>GG x AG x AA:</u> F=0,952; P=0,391
AG (n=13)	362,07 (137,17)	
AA (n=55)	359,82 (209,14)	<u># AG x AA:</u> t=-0,485; p=0,632
MR -2G/C		
CC (n=17)	347,96 (205,39)	<u>CC x CG x GG:</u> F= 2,850; P=0,065
CG (n=32)	420,66 (218,02)	
GG (n=20)	289,14 (127,73)	
GR N363S		
AA (n=64)	369,49 (202,03)	<u>#AA x AG:</u> t= 0,624; p=0,560
AG (n=5)	302,39 (146,06)	
GR R22/23K		
GG (n=68)	367,31 (198,65)	<u>GG x GA:</u> t=0,926; P=0,358
GA (n=1)	182,09	OU
AA (n=0)	0	##
GR BclI		
GG (n=28)	397,89 (204,23)	<u>GG x GC x CC:</u> F=1,197; P=0,309
GC (n=36)	335,06 (189,93)	
CC (n=5)	391,23 (236,09)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L). #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

O caso único do grupo bipolar de genótipo GA de GR R22/23K apresentou cortisol muito mais elevado do que o genótipo completamente selvagem AA ($t=-2,477$; $p=0,016$). No entanto, como esse resultado foi dado pela análise de um grupo composto por um sujeito só, pode não ser confiável, pois não sabemos se essa diferença é dada realmente pelo genótipo heterozigoto para GR R22/23K em bipolares, ou se esse sujeito é apenas um *outlier*, ou seja, um sujeito que não segue o padrão de outros do mesmo grupo e/ou mesmo genótipo (Tabela 41).

Tabela 41. Comparação intragrupo dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) de bipolares considerando os genótipos.

BIPOLAR		
CORTISOL (nmol/L)		
média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=0)	0	# AG x AA: t= 0,211; p=0,836
AG (n=10)	320,04 (218,38)	
AA (n=58)	325,56 (185,55)	
MR -2G/C		
CC (n=15)	309,38 (128,69)	CC x CG x GG: F=0,157; P=0,855
CG (n=35)	346,45 (226,73)	
GG (n=18)	295,37 (148,85)	
GR N363S		
AA (n=63)	322,50 (194,57)	# AA x GA: t=-1,206; p=0,272
GA (n=5)	353,15 (100,71)	
GR R22/23K		
GG (n=67)	318,07 (182,10)	GG x GA: t=-2,477; p=0,016 ou ##-
GA (n=1)	772,52	
GR BcII		
GG (n=36)	324,87 (162,48)	GG x GC x CC: F=1,509; P=0,229
GC (n=26)	292,03 (185,88)	
CC (n=6)	465,81 (302,31)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L); #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

Tabela 42. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.

CORTISOL (nmol/L)			
N=234			
	CONTROLE (n=97)	TDM (n=69)	TB (n=68)
Média (±desvio padrão)			
MR MI180V	<u>GG x AG x AA</u> : F=0,992; p=0,397; <u># AG x AA</u> : F=0,105; p=0,901		
GG	212,44 (50,72)	662,16	0
AG	401,22 (301,49)	362,07 (137,17)	320,04 (218,38)
AA	358,60 (167,64)	359,82 (209,14)	325,56 (185,55)
MR -2G/C	<u>CC x CG x GG</u> : F=0,463; p=0,763		
CC	344,56 (162,09)	347,96 (205,39)	309,38 (128,69)
CG	395,74 (238,45)	420,66 (218,02)	346,45 (226,73)
GG	325,56 (146,11)	289,14 (127,73)	295,37 (148,85)
GR N363S	<u>##AAx AG x GG</u> : F=1,143; p=0,321; <u>#AA x AG</u> : F=1,143; p=0,321; <u>#AA</u> : F=1,542; p=0,216		
AA	362,42 (198,61)	369,49 (202,03)	322,50 (194,57)
AG	662,16	302,39 (146,06)	353,15 (100,71)
GG	209,67	0	0
GR R22/23K	<u>GG x GA</u> : F=2,390; p=0,094; <u>#GG</u> : F=1,735; p=0,159		
GG	365,54 (199,92)	367,31 (198,65)	318,07 (182,10)
GA	219,68	182,09	772,52
GR BcII	<u>GGxGCxCC</u> : F=0,761; 0,551		
GG	365,54 (187,06)	397,89 (204,23)	324,87 (162,48)
GC	335,68 (216,50)	335,06 (189,93)	292,03 (185,88)
CC	334,59 (173,13)	391,23 (236,09)	465,81 (302,31)

Nota: F: ANOVA de duas vias; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L) #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

Não foi possível observar um aumento ou diminuição significativos dos níveis do hormônio em função do genótipo comparando-se os três grupos (Tabela 42) ou apenas comparando unipolares e bipolares (Tabela 43). A tendência à diferença entre unipolares e bipolares na tabela 43 para GR R22/23K, se deu em função dos valores discrepantes em relação ao outro genótipo do mesmo grupo. Vale ressaltar que os valores do genótipo AG são dados por um único sujeito em cada grupo. Este fato será reabordado na seção de discussão deste trabalho.

Tabela 43. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de cortisol sérico (nmol/L) considerando os genótipos.

CORTISOL (nmol/L)		
	TDM	TB
	Média (±desvio padrão)	
MR MI180V	## GG x AG x AA: F=0,686; p=0,409;	
	# AA x AG: F=0,197; p=0,658	
	GG	662,16
	AG	362,07 (137,17)
MR -2G/C	AA	359,82 (209,14)
	CC x CG x GG: F=0,697; p=0,500	
	CC	347,96 (205,39)
	CG	420,66 (218,02)
GR N363S	GG	289,14 (127,73)
	##AA x AG: F=0,624; p=0,560;	
	#AA: F=2,119; p=0,148	
	AA	369,49 (202,03)
GR R22/23K	AG	302,39 (146,06)
	##GGxGA: F=3,673; p=0,057;	
	# GG: 2,285; p=0,133	
	GG	367,31 (198,65)
GR BcII	GA	182,09
	GGxGCxCC: F=0,503; p=0,606	
	GG	397,89 (204,23)
	GC	335,06 (189,93)
	CC	391,23 (236,09)
		465,81 (302,31)

Nota: F: ANOVA de duas vias; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L); ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

4.3.3.2 Polimorfismos de MR e GR e aldosterona sérica

Dos cinco polimorfismos estudados, nenhum teve efeito significiativo sobre os níveis de aldosterona, quando analisada de forma intragrupo, na amostra geral (Tabela 44) e no grupo controle (Tabela 45).

Tabela 44. Comparação dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) na amostra geral considerando os genótipos.

AMOSTRA GERAL (N=235) ALDOSTERONA (nmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=3)	216,19 (29,98)	<u>GG x AG x AA:</u> F=0,984; p=0,375
AG (n=43)	308,25 (198,77)	
AA (n=149)	375,61 (326,69)	
MR -2G/C		
CC (n=57)	346,33 (261,27)	<u>CC x CG x GG:</u> F=1,380; p=0,254
CG (n=113)	380,10 (307,30)	
GG (n=65)	341,25 (306,26)	
GR N363S *		
AA (n=223)	365,99 (309,56)	<u>AA x AG x GG:</u> F=0,649; p=0,524
AG (n=10)	285,25 (248,73)	
GG (n=1)	285,72	<u># AAx AG:</u> t=1,159; p=0,256
GR R22/23K		
GG (n=230)	363,93 (308,00)	<u>GG x GA:</u> t=1,180; p=0,239
GA (n=4)	262,91 (211,94)	
GR BcII		
GG (n=108)	368,25 (342,92)	<u>GG x GC x CC:</u> F=0,058; p=0,944
GC (n=106)	353,15 (264,32)	
CC (n=21)	366,10 (317,59)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de cortisol sérico (nmol/L). *Os polimorfismos GR N363S e GR R22/23K tem um sujeito *missing data* para aldosterona. #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo

Tabela 45. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de controles entre os grupos considerando os genótipos.

CONTROLE (n=103) ALDOSTERONA (pmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=2)	201,53 (22,56)	<u>GG x AG x AA:</u> F=0,441; p=0,645
AG (n=20)	359,16 (217,51)	
AA (n=81)	384,14 (335,70)	<u># AG x AA:</u> t=0,118; p=0,907
MR -2G/C		
CC (n=29)	348,80 (266,22)	<u>CC x CG x GG:</u> F=0,157; P=0,855
CG (n=47)	373,87 (228,18)	
GG (n=27)	411,16 (461,90)	
GR N363S*		
AA (n=100)	380,57 (316,16)	<u>AA x AG x GG:</u> F=0,142; P=0,867 ou ##
AG (n=1)	219,98	
GG (n=1)	285,722	
GR R22/23K*		
GG (n=100)	377,31 (316,12)	<u>GG x GA:</u> t=-0,800; p=0,563
GA (n=2)	416,10 (184,38)	
GR BcII		
GG (n=48)	405,04 (375,49)	<u>GGxGCxCC:</u> F=0,361; P=0,698
GC (n=43)	355,77 (252,33)	
CC (n=12)	330,10 (234,03)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L); *GR N363S e GR R22/23K tem um sujeito controle a menos; #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo

Ainda em relação à análise intragrupo, pode-se constatar que os alelos variáveis dos polimorfismos de MR exerceram influência sobre os níveis de aldosterona nos pacientes. Em unipolares, alelo G de MR -2G/C (F=3,312; P=0,043; tabela 46) reduziu os níveis de aldosterona em unipolares; enquanto o alelo A MR MI180V aumentou os níveis de aldosterona em bipolares (t=4,035; p=0,001; tabela 47).

Tabela 46. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de unipolares considerando os genótipos.

UNIPOLAR (n=67) ALDOSTERONA (pmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
GG (n=1)	245,5	<u>GG x AG x AA:</u> F=0,025; P=0,975
AG (n=14)	327,91 (194,63)	
AA (n=52)	401,31 (402,10)	<u># AG x AA:</u> t=0,165; p=0,870
MR -2G/C		
CC (n=14)	316,89 (251,43)	<u>CC x CG x GG:</u> F=3,312; P=0,043
CG (n=33)	476,49 (446,05)	
GG (n=20)	277,20 (235,66)	<i>posthoc</i> GG x GC: p=0,045
GR N363S		
AA (n=62)	389,72 (368,10)	<u>AA x AG:</u> t=0,814; p= 0,457;
AG (n=5)	308,36 (360,98)	
GR R22/23K		
GG (n=66)	388,69 (365,95)	<u>GG x GA:</u> t= 2,290; p=0,025
GA (n=1)	51,04	<i>ou ##</i>
GR BcII		
GG (n=25)	401,21 (419,21)	
GC (n=38)	356,55 (295,00)	<u>GG x GC x CC:</u> F=0,115; P=0,892
CC (n=4)	531,36 (647,21)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L); #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo

Tabela 47. Comparação intragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) de bipolares entre os grupos considerando os genótipos.

BIPOLAR (n=65) ALDOSTERONA (pmol/L) média (desvio padrão)		
MR MI180V		
AG (n=9)	164,53 (55,70)	# <u>AGxAA</u> : t=4,035; p=0,001
AA (n=56)	339,40 (221,14)	
MR -2G/C		
CC (n=14)	376,85 (276,13)	<u>CC x CG x GG</u> : F=0,743; p=0,480
CG (n=33)	292,58 (197,94)	
GG (n=18)	308,68 (193,39)	
GR N363S		
AA (n=61)	317,98 (220,45)	# <u>AA x AG</u> : t=-0,008; p=0,994;
AG (n=4)	272,68 (96,65)	
GR R22/23K		
GG (n=64)	317,48 (215,65)	<u>GG x GA</u> : # t= 0,665; p=0,509 ou ##-
GA (n=1)	168,38	
GR BcII		
GG (35)	294,25 (206,84)	<u>GG x GC x CC</u> : F=0,558; p=0,575
GC (25)	343,49 (244,83)	
CC (5)	320,29 (75,73)	

Nota: F: ANOVA de uma via; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L); #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo

Considerando-se possíveis influências de polimorfismos de GR em unipolares sobre os níveis de aldosterona, houve uma redução significativa dos níveis de aldosterona nos sujeitos com o alelo variante G de GR R22/23K (t= 2,290; p=0,025) (Tabela 46). Esse mesmo sujeito unipolar, único de seu grupo com genótipo GA, com níveis extremamente baixos de aldosterona, ao se analisar uma possível suscetibilidade entre os grupos a alteração dos níveis de aldosterona frente a determinados genótipos, é o que gerou a tendência à diferença entre unipolares, controles e bipolares (F=2,915; p=0,056) (Tabela 48).

Na tabela 49, analisando-se genótipos GR R22/23K x grupos (unipolares x bipolares), não houve diferença significativa nesta interação (F=1,686; p=0,197), apesar desta vez não haver ocorrido interação sobre o fator grupo (F=1,198; p=0,276), mas sobre o fator genótipo (F=4,691; p=0,032). Como é apenas um sujeito que compõe o grupo unipolar e um sujeito que compõe o grupo bipolar, não se sabe se são *outliers*, ou se de fato esse genótipo pode gerar esse efeito (reforçando que o MAF de GR R22/23K é muito baixo – 0,01). Esse fato será novamente abordado no tópico Discussão.

Tabela 48. Comparação extragrupo dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) considerando os genótipos.

	CONTROLE (n=103)	UNIPOLARES (n=67)	BIPOLARES (n=65)
	ALDOSTERONA média (desvio padrão)		
MR MI180V	## GG x AG x AA: F=1,416; p=0,239; # AG x AA: F=2,058; p=0,130		
GG	201,53 (22,56)	245,50	0
AG	359,16 (217,51)	327,91 (194,63)	164,53 (55,70)
AA	384,14 (335,70)	401,31 (402,10)	339,40 (221,14)
MR -2G/C	CC x CG x GG: F=1,766; p=0,137		
CC	348,80 (266,22)	316,89 (251,43)	376,85 (276,13)
CG	373,87 (228,18)	476,49 (446,05)	292,58 (197,94)
GG	411,16 (461,90)	277,20 (235,66)	308,68 (193,39)
GR N363S	## AA x AG: F=0,315; p=0,730; # AA: 1,230; p=0,294		
AA	380,57 (316,16)	389,72 (368,10)	317,98 (220,45)
AG	219,98	308,36 (360,98)	272,68 (96,65)
GG	285,722	-	-
GR R22/23K	##GG x GA: F=2,915; p=0,056 GG: 1,063; p=0,347		
GG	377,31 (316,12)	388,69 (365,95)	317,48 (215,65)
GA	416,10 (184,38)	51,04	168,38
GR BcII	GGxGCxCC: F=0,463; p=0,763		
GG	405,04 (375,49)	401,21 (419,21)	294,25 (206,84)
GC	355,77 (252,33)	356,55 (295,00)	343,49 (244,83)
CC	330,10 (234,03)	531,36 (647,21)	320,29 (75,73)
Nota: F: ANOVA de duas vias; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L); #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo			

Tabela 49. Comparação entre grupos de pacientes dos níveis de aldosterona sérica (pmol/L) considerando os genótipos.

	UNIPOLARES	BIPOLARES
	ALDOSTERONA média (desvio padrão)	
MR MI180V	GG x AG x AA: F=2,739; p=0,100; # AG x AA : F=2,739; p=0,100;	
GG	245,50	0
AG	327,91 (194,63)	164,53 (55,70)
AA	401,31 (402,10)	339,40 (221,14)
MR -2G/C	CC x CG x GG: F=2,653; p= 0,074	
CC	316,89 (251,43)	376,85 (276,13)
CG	476,49 (446,05)	292,58 (197,94)
GG	277,20 (235,66)	308,68 (193,39)
GR N363S	AA x AG: F=0,538; p=0,464	
AA	389,72 (368,10)	317,98 (220,45)
AG	308,36 (360,98)	272,68 (96,65)
GR R22/23K	##GG x GA: F=1,686; p=0,197	
GG	388,69 (365,95)	317,48 (215,65)
GA	51,04	168,38
GR BcII	GG x GC x CC: F=0,221; p=0,802	
GG	401,21 (419,21)	294,25 (206,84)
GC	356,55 (295,00)	343,49 (244,83)
CC	531,36 (647,21)	320,29 (75,73)
Nota: F: ANOVA de duas vias; p: nível de significância; *Análise estatística utilizou testes paramétricos, pois utilizou os logaritmos dos valores de aldosterona sérica (pmol/L); #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise anterior, pois 2 dos genótipos apresentam 1 ou menos sujeito no grupo		

4.3.4 Impacto do EP em pacientes unipolares e bipolares considerando seus genótipos

Tabela 50. Avaliação intragrupo sobre o efeito dos genótipos sobre a pontuação de sintomas de depressão heteroavaliados de unipolares.

UNIPOLARES (n=78)	
média (±desvio padrão)	
MR I180V	<u>GG x AG x AA:</u> F=1,154; p=0,321; # AG x AA: t= -1,134; p=0,261
GG (n=1)	8,00
AG (n=15)	20,47 (7,69)
AA (n=62)	17,29 (10,15)
MR -2GC	<u>CC x CG x GG:</u> F=4,961; p=0,009 posthoc: CC x GG= p=0,008; CG x CC:p=0,062
CC (n=17)	11,94 (8,86)
CG (n=38)	18,34 (9,44)
GG (n=23)	21,17 (9,35)
GR N363S	<u>AAxAG:</u> t=0,373; p=0,710
AA (n=73)	16,20 (10,30)
AG (n=5)	17,89 (9,78)
GR R22/23K	##
GG (n=77)	17,73 (9,81)
GA (n=1)	22,00
GR BcII	<u>GGxGCxCC:</u> F=1,460; p=0,239
GG (n=29)	15,62 (9,85)
GC (n=43)	18,65 (9,59)
CC (n=6)	22,00 (9,78)

Nota: EP: estresse precoce; F= ANOVA de uma vias; p: nível de significância; t= valor do Teste t; #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo

Tabela 51. Avaliação do impacto do EP sobre a pontuação dos sintomas de depressão heteroavaliados conforme os genótipos em unipolares.

UNIPOLARES (n=78)		
	sem EP (n=34)	com EP (n=44)
	média (±desvio padrão)	
MR I180V	#AGxAA: F=5,140; p=0,026	
GG (n=1)	8,00	0
AG (n=15)	21,25 (9,18)	19,57 (6,16)
AA (n=62)	11,58 (9,67)	21,42 (9,17)
	CC x CG x GG: F=0,973; p=0,383	
MR -2GC	(posthoc EP: F=6,676; p=0,012) (posthoc genotipo: F=4,602; p=0,013; CC<CG:p=0,045; CC<GG:P=0,005)	
CC (n=17)	10,20 (8,20)	14,43 (9,81)
CG (n=38)	12,50 (9,36)	21,75 (7,80)
GG (n=23)	19,40 (9,61)	22,54 (9,30)
	AAxAG: t=-0,646; p=0,520	
GR N363S	(posthoc EP: F=5,372; p=0,023)	
AA (n=73)	14,22 (9,67)	20,76 (8,98)
AG (n=5)	8,00 (8,48)	21,67 (8,02)
	GGxGA: ##	
GR R22/23K	#GG : (posthoc: F=11,617; p=0,001)	
GG (n=77)	13,61 (9,64)	20,82 (8,84)
GA(n=1)	22,00	0
	GGxGCxCC: F=0,288; p=0,750	
GR BcII	(posthoc EP: F=7,338; p=0,008)	
GG (n=29)	11,36 (2,46)	19,60 (2,38)
GC (n=46)	15,35 (2,23)	20,81 (1,81)
CC (n=6)	17,00 (5,32)	27,00 (5,32)
Nota: EP: estresse precoce; F= ANOVA de uma via; p: nível de significância; t= valor do Teste t; #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito;		

Tabela 52. Avaliação intragrupo sobre o efeito dos genótipos sobre a pontuação de sintomas de depressão heteroavaliados de bipolares.

BIPOLARES (n=80)	
média (±desvio padrão)	
MR I180V	<u>AAxAG</u> : t=-1,166; p=0,247
AG (n=12)	22,08 (9,93)
AA (n=68)	18,49 (9,85)
MR -2GC	<u>CCxCGxGG</u> : F=0,624; p=0,539
CC (n=17)	16,76 (10,13)
CG (n=40)	19,98 (9,42)
GG (n=23)	19,04 (10,63)
GR N363S	<u>AAxAG</u> : t=0,418; p=0,520
AA (n=75)	21,80 (9,58)
AG (n=5)	18,84 (9,93)
GR R22/23K	## <u>GGxGA</u> : t=0,408; p=0,685
GG (n=79)	19,08 (9,93)
GA (n=1)	15,00
GR BcII	<u>GGxGCxCC</u> : F=0,703; p=0,498
GG (n=41)	18,15 (10,06)
GC (n=30)	20,70 (9,90)
CC (n=9)	17,44 (9,25)
Nota: EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; p: nível de significância; t= valor do Teste t; #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo	

Tabela 53. Avaliação do impacto do EP sobre a pontuação dos sintomas de depressão heteroavaliados conforme os genótipos em bipolares.

BIPOLARES (n=79)		
	sem EP (n=32)	com EP (n=47)
	média (±desvio padrão)	
	<u>AG x AA:</u> F=1,284; p=0,261	
MR I180V	(post hoc EP: p=0,001)	
AG (n=12)	14,40 (4,77)	27,57 (9,02)
AA (n=67)	14,63 (9,04)	21,15 (9,71)
	<u>CCxCGxGG:</u> F=1,628; p=0,203	
MR -2GC	(posthoc EP: p=0,002)	
CC (n=17)	15,71 (11,60)	17,50 (9,56)
CG (n=39)	15,64 (8,21)	22,56 (9,44)
GG n=23)	12,55 (6,80)	25,00 (10,14)
	<u>AAxAG:</u> F=0,267; p=0,607	
GR N363S	(posthoc EP: p=0,03)	
AA (n=74)	14,34 (8,48)	21,80 (9,89)
AG (n=5)	17,00 (9,64)	29,00 (2,83)
GR R22/23K	##	
GG (n=78)	14,58 (8,60)	22,11 (9,79)
GA (n=1)	15,00	0
	<u>GGxGCxGG:</u> F=0,434; p=0,649	
GR BcII	(posthoc EP: p=0,003)	
GG (n=40)	14,76 (8,58)	20,74 (10,69)
GC (n=30)	15,31 (8,88)	24,82 (8,76)
CC (n=9)	8,50 (3,54)	20,00 (8,81)
Nota: EP: estresse precoce; F= ANOVA de duas vias; p: nível de significância; t= valor do Teste t; #Cálculo realizado excluindo o genótipo com apenas 1 ou nenhum sujeito; ##-não considerar a análise, pois 2 dos genótipos apresentam apenas 1 ou menos sujeitos no grupo		

5. DISCUSSÃO

5.1 AMOSTRA

A presente amostra alcançou um tamanho mínimo adequado para o estudo genético e pode-se considerar uma amostra bastante homogênea. Foi possível parear os grupos por idade, sexo e IMC, critérios que costumam ser os primários para a comparação de grupos em estudos clínicos. Também, considerando que pode haver uma diferença de prevalência dos MAFs dos SNPs dependendo do subgrupo populacional estudado, foi realizada uma análise entre os grupos, não havendo diferença. Ainda, compararam-se os MAFs de nossos dados àqueles disponíveis nas grandes bases de dados como *dbSNP National Center for Biotechnology Information/ US National Library of Medicine/ National Institutes of Health* (NCBI/NIH), *Ensembl* (RUFFIER et al., 2017) e comparamos a um artigo que avaliava 3 dos SNPs aqui estudados em diferentes etnias da população brasileira (SOUZA et al., 2014). Não foi encontrada diferença entre os MAFs observados em nosso estudo em relação a estas fontes de dados e em relação a Souza et al. (2014).

A amostra apresentou diferenças para os critérios sociodemográficos quando se compararam controles, unipolares e bipolares e a diferença no *posthoc* existiu apenas em relação ao grupo controle e bipolar e controle e unipolar para as seguintes variáveis: nível escolar, estado civil, presença de dor crônica, alteração da função tireoidiana, ingestão de anticoncepcional, pontuação nas escalas de depressão auto e heteroaplicada, ansiedade, desesperança, ideação suicida, exposição a EP (e seus subtipos) e ter histórico de transtornos psiquiátricos na família (Tabelas 1 e 2).

Os sujeitos unipolares e bipolares apresentaram-se semelhantes ao serem comparados, não apresentando diferença significativa considerando prevalência e intensidade de exposição a EP e seus subtipos, intensidade de sintomas depressivos, prevalência, tipos de doenças clínicas e classes de antidepressivos utilizados no tratamento.

Foi possível observar estatisticamente que bipolares fizeram mais uso de anticonvulsivantes e lítio durante seu tratamento farmacológico. Era esperado que houvesse essa diferença, considerando que tais substâncias são utilizadas tradicionalmente como estabilizador de humor, assim como antipsicóticos, no tratamento de sujeitos bipolares (YATHAM et al., 2013).

Outra diferença considerável em relação a unipolares e bipolares é a maior ideação e/ou tentativas de suicídio por parte dos bipolares (Tabela 1). Vários estudos apontam que sujeitos bipolares, dentre todos os transtornos psiquiátricos, são os que apresentam maior risco de ideação suicida (MANN & CURRIER, 2010), e que maior parte deles também tentam suicídio ao longo da vida (PALLASKORPI et al., 2017), corroborando com nossos dados. Tal ideação, segundo Abreu et al. (2009) varia entre 14% a 59% das amostras de sujeitos bipolares.

O papel de MR na fisiopatologia da depressão, tanto no transtorno unipolar quanto bipolar não pode ser ignorado. Outro achado interessante em relação à nossa amostra foi houve uma tendência à diferença na prevalência de hipertensão entre os controles, unipolares e bipolares (14,14% x 32,14% x 27,42%; $\chi^2=4,956$; $p=0,08$), mas não entre os grupos unipolar x bipolar (32,14% x 27,42%; $\chi^2=0,170$; $p=0,680$) para hipertensão. Por isso, investigaram-se os possíveis fatores que poderiam estar causando esta tendência à diferença. Houve correlação positiva e moderada entre hipertensão e idade dentro dos controles ($r^2=0,454$; $p<0,001$), dentro dos unipolares ($r^2=0,335$; $p=0,004$), dentro dos bipolares ($r^2=0,467$; $p<0,001$) e dentro da amostra geral ($r^2=0,424$; $p<0,001$). Buscou-se, em seguida, avaliar a correlação aldosterona e hipertensão. Não houve correlação entre os níveis de aldosterona controles ($r^2=-0,129$; $p=0,193$), dentro dos unipolares ($r^2=-0,026$; $p=0,824$), dentro dos bipolares ($r^2=0,115$; $p=0,370$) e dentro da amostra geral ($r^2=-0,039$; $p=0,558$). Analisando que o único fator que poderia estar exercendo alteração sobre o diagnóstico de HAS seria idade e nossa amostra foi pareada para este fator, a alteração da pressão arterial pode ter se dado em função da própria doença TDM ou TB (STEIN et al., 2014), apesar da média de todos os grupos estarem dentro dos limites fisiológicos

(aldosterona basal em dieta normossódica posição ortostática: 137,95 - 634,57 pmol/L; BURTIS & BRUNS, 2011). Mais adiante, serão discutidos os resultados encontrados comparando-se os grupos para os níveis de aldosterona.

5.2 UNIPOLARES E BIPOLARES: INTENSIDADE DE SINTOMAS DEPRESSIVOS E O IMPACTO DO FATOR EXÓGENO, ESTRESSE PRECOCE

Considerando que a literatura traz que claramente a história de EP deixa graves cicatrizes na vida do indivíduo, psicológica e biologicamente, e pode ser um dos fatores etiológicos de quadros depressivos (BUNEA et al., 2017; BRADLEY et al., 2008; BRUNSON et al., 2001; CARR et al., 2013; CARPENTER et al., 2009; CATTANEO et al., 2015; CHEN et al., 2014; COHEN et al., 2006; FOGELMAN & CANLI, 2018; HEIM et al., 2008 a,b, 2010; JURUENA, 2014; JURUENA et al., 2015; MARTINS-MONTEVERDE, 2019; NEWPORT et al., 2004; NEMEROFF et al., 2003; SHEA et al., 2005; von WERNE BAES et al., 2012; WATSON et al., 2014; WILKINSON & GOODYER, 2011), buscamos saber se, também em nossa amostra, o EP agravaria o quadro depressivo dos sujeitos unipolares e bipolares. Para isso, inicialmente se realizou uma análise intragrupo para GRID-HAM-D₂₁ e BDI-II.

O grupo unipolar apresentou considerável piora de sintomas depressivos quando expostos a EP geral e todos os subtipos – AE, AF, AS, NE e NE - quando avaliados pela GRID-HAM-D₂₁. Já quando avaliado pela BDI-II, também apresentou piora dos sintomas depressivos para EP geral e todos os subtipos de EP, à exceção de AS, para o qual apresentou apenas uma tendência à piora ($t=-1,908$; $p=0,060$) (Tabelas 5 e 8).

O grupo bipolar apresentou uma piora significativa de seus sintomas depressivos quando expostos a EP geral ou todos seus subtipos, à exceção de AS, tanto na GRID-HAM-D₂₁ quanto na BDI-II (na BDI-II houve apenas uma tendência a piora dos sintomas) (Tabelas 6 e 9). Assim, pode-se observar que nossa amostra, assim como as demais presentes em outros estudos da literatura, sofreu consequências deletérias à exposição ao EP geral e seus subtipos.

Na revisão sistemática de Carr et al., (2013) foi possível observar que todos os subtipos de EP, à exceção de NF, estavam associados ao desenvolvimento de transtornos de humor. O estudo de Chen et al. (2014) avaliou o impacto para desenvolvimento de depressão unipolar na população chinesa após exposição a diferentes graus de AS (toque físico a intercuro sexual). As chances de desenvolvimento de depressão variou em 4,06 a 10,65 vezes. Em relação à piora do quadro psiquiátrico de bipolares, Daruy-Filho et al. (2011) reuniram estudos em sua revisão sistemática apontando como cada subtipo de EP estaria agravando os quadros de TB. Dentro dos desfechos para TB observados, pode-se associar AF e AS à idade mais baixa do primeiro episódio do transtorno e a perfil de ciclagem rápida. Quanto a características clínicas, ao AF e AS, podem-se associar quadros psicóticos, ideação suicida e sintomas maníacos de maior intensidade. Ainda, ao AF, AE/NE, pode-se observar associação com agressividade. Jansen et al. (2016) investigaram em uma parcela da população no sul do Brasil a correlação entre EP e desenvolvimento de transtornos de humor. Nesta amostra, o subtipo AS mostrou-se significativamente correlacionado ao desenvolvimento de transtorno bipolar, mas não ao TDM.

Até o presente momento não foi encontrado nenhum estudo, além do nosso, que comparasse a influência de EP (e seus subtipos) nos unipolares e bipolares, e entre estes grupos. A interação grupo x EP (ou subtipo) apontaria se são os unipolares ou os bipolares os mais suscetíveis a desenvolver quadros mais graves de depressão após exposição a EP. Em nenhum caso houve diferença, ou seja, nem unipolares ou bipolares se mostraram mais suscetíveis a um quadro mais grave de depressão pela experiência de EP.

Ambos os grupos apenas pioram seu quadro de depressão após exposição. O EP é parte dos fatores etiológicos da depressão e também potencializa fatores genéticos e endócrinos pré-existentes (BET et al., 2009; CATANNEO et al., 2015; HORNUNG & HEIM, 2014; ISING & HOLLSBOER, 2006; JURUENA et al., 2015). Por isso, esse estudo investigou o efeito de fatores endógenos (por si e somados), também à soma de EP e os resultados serão discutidos nas seções a seguir.

5.3 UNIPOLARES E BIPOLARES: BIOMARCADORES HORMONAIS PARA O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL E MARCADORES DE GRAVIDADE DO ESTADO DEPRESSIVO E COMORBIDADES ASSOCIADAS

5.3.1 Cortisol Sérico

Ao compararmos os grupos (controle x unipolar x bipolar) para os níveis de cortisol sérico basal, não encontramos diferença significativa (Tabela 11). Consideramos que isto poderia ter ocorrido em função da composição heterogênea para intensidade de sintomas depressivos unipolar e bipolar intragrupo. Como discutimos na revisão sistemática (MENEZES et al., 2019; ANEXO 3), assim como diferentes quadros de humor alteram a expressão gênica de bipolares, a gravidade do quadro depressivo também altera a expressão gênica, proteica e metilação, e consequentemente, os níveis hormonais (FERNANDEZ-SANCHES et al., 2011; LIN et al., 2016; PADMOS et al., 2008; YEHUDA et al., 1993). O estudo de Yehuda et al. (1993) menciona que ocorre alteração da quantidade de GR em linfócitos de pacientes bipolares de acordo com o quadro de humor do sujeito, se em depressão ou em mania. Associado a isso, foi observado que o número de GR linfocitário de deprimidos voltaria ao seu número normal habitual quando em remissão (HUNTER et al., 1988; YEHUDA et al., 1993). Vale ressaltar que, em nosso estudo, apesar de os grupos unipolar e bipolar (nenhum em mania ou hipomania) apresentarem sujeitos com

diferentes níveis de depressão intragrupo, ao se comparar tais grupos, não houve diferença em número de sujeitos para prevalência de intensidade de sintoma depressivo, das médias dos escores em si de sintomas depressivos (Vide Tabela 2).

Dessa forma, considerando a diferença de sintomas depressivos e, visando homogeneizar os grupos unipolar e bipolar quanto à gravidade de seu quadro, montaram-se novos subgrupos unipolares e bipolares (tabela 12, com sujeitos até sintomas moderados de depressão – GRID-HAM-D₂₁ <22; tabela 13, com sujeitos com sintomas depressivos graves e muito graves - GRID-HAM-D₂₁ ≥22). A idade, IMC e sexo dos 3 grupos continuou não tendo diferença mesmo com a subdivisão. Após realizadas as análises, foi possível observar diferença entre os grupos nos níveis de cortisol sérico basal, tanto quando comparados os grupos unipolar e bipolares ($t=2,984$; $p=0,004$), quanto quando comparados controles, unipolares e bipolares ($F=3,509$; $p=0,032$). Essa diferença apareceu de forma bastante significativa quando os pacientes avaliados apresentavam sintomas em nível grave e muito grave (Tabela 13). Quando a comparação foi realizada com os pacientes em nível moderado de sintomas depressivos, não houve diferença extragrupo (Tabela 12). As alterações observadas nos pacientes graves e muito graves foram que o cortisol estava em nível sérico basal mais alto em unipolares que bipolares (*posthoc* Bonferroni: $p=0,031$). Estes resultados sugerem que sujeitos unipolares apresentariam receptores GR e/ou MR menos sensíveis à retroalimentação negativa, enquanto os bipolares, receptores mais sensíveis à retroalimentação negativa, resultando em menores níveis séricos basais de cortisol.

Corroborando com nossos resultados, Juruena et al. (2006) e Jiang et al. (2000) também observaram que unipolares apresentavam níveis de cortisol mais altos que os controles, tanto em níveis basais como após a realização dos desafios farmacológicos com prednisolona (agonista GR e MR; JURUENA et al., 2006) e com dexametasona (antagonista GR; JIANG et al., 2000; JURUENA et al., 2006). Dooling et al. (2017) e Hinkelmann et al. (2016) também encontraram níveis basais de CAR mais altos em sujeitos unipolares que em controles.

Apesar da coorte de Vreemburg et al. (2009) também ter observado os níveis de CAR dos sujeitos unipolares maiores do que de controles, a intensidade de sintomas dos sujeitos unipolares pareceu não afetar os níveis de CAR. Os autores não encontraram diferença nos níveis de CAR entre unipolares remitidos e não-remitidos.

Yehuda et al. (1993) avaliaram o nível de cortisol urinário de 24h de grupos de sujeitos com TDM, TB em mania, transtorno do estresse pós-traumático (TEPT), esquizofrenia e transtorno do pânico. Os sujeitos unipolares e bipolares (em mania) foram os que apresentaram maiores níveis de cortisol em relação aos demais grupos e não apresentaram diferença significativa entre si. Em relação a esse estudo, o que corrobora com nosso estudo são apenas os resultados dos unipolares, pois os bipolares, em Yehuda et al. (1993) estão em mania, diferentemente de nossos sujeitos bipolares que estão em diferentes níveis de depressão (nenhum em mania). Watson et al. (2004), na contramão de nossos resultados de níveis de cortisol basais de bipolares, observaram que os níveis de cortisol sérico desses pacientes estavam significativamente aumentados após desafio DEX/CRH do que o dos controles.

A classe de medicamento utilizado como tratamento poderia interferir nos níveis de cortisol. Manthey e colaboradores (2011) observaram diferença na resposta do cortisol ao acordar (CAR) após desafio DEX em sujeitos unipolares em função da utilização de diferentes classes de antidepressivos. Em comparação com pacientes que não faziam uso, aqueles que faziam uso de antidepressivos ISRS apresentaram níveis noturnos de cortisol mais elevados e menor supressão do cortisol após o desafio DEX. Já os que faziam uso de tricíclicos, apresentaram o CAR achatado. No entanto, no estudo que realizamos, os grupos unipolar e bipolar, não diferiram quanto ao uso de diferentes classes de antidepressivos, nem em relação a outros medicamentos de uso clínico (Vide Tabela 1).

O estudo de Maripuu et al. (2016) comparou os níveis de cortisol sérico ao acordar entre unipolares e bipolares. Os níveis de cortisol e o funcionamento dos GR foram testados por meio de DST. Eles encontraram relação inversa entre níveis de cortisol e medidas antropométricas independente do grupo ao qual pertencesse o sujeito (bipolar, unipolar ou controle), mas não entre os níveis de cortisol e diagnóstico psiquiátrico.

O estudo que mais corroborou com nossos resultados, apesar de a dosagem ter sido feita em urina de 24h, em vez de no soro, foi o de Yehuda et al. (1993), pois comparou as duas psicopatologias que estudamos no presente trabalho. Yehuda et al. (1993) sugere que os bipolares apresentem alterações nos números de receptores GR na mesma direção que nos pacientes com TEPT, ou seja, número maior de receptores GR; e que unipolares alterariam esse número de GR de forma oposta, com menor número de GRs, o que explicaria os unipolares possuírem os maiores níveis de cortisol.

5.3.1.1 Alterações dos níveis de cortisol sérico frente a fatores como EP, intensidade do quadro depressivo e comorbidades

Antes de se comparar a suscetibilidade dos grupos unipolar x bipolar para a influência dos fatores como EP e subtipos, intensidade da depressão e comorbidades sobre os níveis basais de cortisol sérico, fez-se essa análise intragrupo. Essa análise intragrupo foi feita também para os controles. No entanto, é importante ressaltar que pouquíssimos sujeitos no grupo controle tinham história de EP (n=4). Ao subdividir ainda mais por subtipo de EP, esse número se tornou ainda mais reduzido. Houve casos em que havia apenas um sujeito por subtipo de EP (NE e NF), ou dois sujeitos (AS, AF, AE). Essa falta de sujeitos com EP compondo o grupo controle, torna a análise realizada menos confiável por poder cair no erro tipo 2, ou seja, apontar que o EP não gera alteração nos níveis de cortisol nos controles, quando gera e tal dado seria

demonstrado com um tamanho amostral maior (tabela 14). Frente à dificuldade de se encontrarem controles com EP, não foi possível obter um subgrupo com EP maior de controles.

Não houve nenhuma correlação significativa entre os escores de exposição a EP e subtipos e os níveis de cortisol na análise intragrupo dos unipolares. Para unipolares, houve uma fraca correlação, apontando que quanto maior a ideação suicida, maiores são os níveis de cortisol ($r^2=0,294$; $p=0,018$) (Tabela 19). Corroborando com nossos resultados, Ahmed et al. (2016) encontraram que o nível de cortisol sérico matinal poderia estar fortemente correlacionado ao pensamento de morte por parte de unipolares. O'Connor et al. (2016) publicaram uma metanálise sobre a níveis de cortisol e suicídio. As amostras dos estudos que compunham esta metanálise eram soro, saliva, líquido e urina. Eles não observaram que não havia associação significativa entre cortisol e suicídio, mas cabe ressaltar que, apesar de maioria, a depressão unipolar não era a única doença psiquiátrica que afetava os participantes da metanálise. Havia artigos cujos sujeitos tinham TB, ou esquizofrenia, ou transtorno de ajustamento.

Em relação aos bipolares, foi possível observar uma tendência à diferença, tanto em relação ao escore bruto de AS ($r^2=0,233$; $p=0,06$), quanto ao nível de exposição sofrido de AS ($r^2=0,237$; $p=0,052$). Bipolares tendem a aumentar os níveis de cortisol quando expostos a este subtipo de EP. Essa informação é corroborada ainda por nossos achados da tabela 16 (análise intragrupo bipolar x EP) que apontou que, sujeitos bipolares quando expostos a AS tendiam a aumentar seu cortisol basal ($t=3,441$; $p=0,068$). Como dito anteriormente, com a subdivisão da amostra bipolar em subgrupos de EP com e sem, a amostra se torna menor e perde seu poder de mostrar diferença significativa quando ela de fato existe. Talvez fosse possível averiguar essa diferença em um subgrupo bipolar exposta a AS com mais sujeitos. Jansen et al. (2016) investigaram, em uma parcela da população sul do Brasil, a correlação entre EP e desenvolvimento de transtornos de humor. Nesta amostra, o subtipo AS mostrou-se especificamente correlacionado ao desenvolvimento de

transtorno bipolar, mas não TDM. Corroborando com esse dado, Maniglio (2013) publicou uma revisão sistemática que reforçou sobre as altas taxas de AS em pacientes bipolares.

Quanto a uma comparação para averiguar se algum deles apresentaria uma maior suscetibilidade a alterações dos níveis de cortisol em presença de EP ou seus subtipos, não houve diferença nem comparando-se os 3 grupos (Tabela 17), nem entre apenas unipolares x bipolares (Tabela 18). Ou seja, nem o grupo unipolar, nem o bipolar, é mais suscetível que o outro a alterações dos níveis de cortisol sérico basal em caso de exposição a EP ou seus subtipos.

5.3.2 Aldosterona Sérica

A diferença encontrada entre os grupos em relação à aldosterona se deu ao avaliarmos sujeitos com sintomas depressivos graves (tanto os unipolares quanto os bipolares (Tabela 23). Assim como já foi discutido no tópico 5.4.1.1, a composição intragrupo heterogênea em relação aos sintomas depressivos produziu um resultado sem diferença (Tabela 21). Assim como foi feito para avaliação dos níveis de cortisol, também subdividiram-se os grupos unipolar e bipolar em: a) unipolar com sintomas depressivos até gravidade moderada e bipolares com sintomas depressivos até gravidade moderada (tabela 22), e b) unipolares com sintomas depressivos graves e muito graves e bipolares com sintomas depressivos graves e muito graves (Tabela 23).

Assim como ocorreu na avaliação do cortisol, não observou-se diferença entre os 3 grupos, ou entre unipolares e bipolares (depressão até nível moderado). Entretanto, essa diferença aconteceu na comparação entre os controles x unipolares graves e muito graves x bipolares graves e muito graves

($F=4,865$; $p=0,009$); e para unipolares x bipolares (ambos graves e muito graves) ($t=2,694$; $p=0,01$).

Corroborando com nossos achados, Emanuele et al. (2005) observaram aumento dos níveis de aldosterona nos pacientes depressivos unipolares em comparação com os controles. Após ajuste de variáveis, os autores observaram um risco aumentado de 2,77 vezes de sujeitos deprimidos apresentarem níveis elevados de aldosterona. Segeda et al. (2017) avaliaram a aldosterona salivar matinal em pacientes depressivos na admissão e na alta pós internação hospitalar. A amostra consistia em pacientes unipolares e bipolares. Os pesquisadores encontraram cortisol mais elevado na saliva de mulheres em relação a homens, e na admissão hospitalar, em relação a sua alta. Apesar da amostra deste estudo não ser dividida entre subtipos de depressão, ela aponta que a gravidade da depressão gera alterações nos níveis de aldosterona. Esse fato remete que uma das possíveis causas dos transtornos depressivos está relacionada ao SRAA e receptores MR.

Holsboer et al. (1982) também mensuraram a aldosterona de pacientes depressivos, mas não os separaram por polaridade, chamando-os apenas de pacientes em estado depressivo. Neste estudo, foi aplicado o desafio DST e, em seguida, coletado sangue dos participantes. A dexametasona mostrou um efeito estimulatório na produção de aldosterona em sujeitos saudáveis, em comparação com os sujeitos depressivos que apresentaram uma estimulação mais atenuada. Segundo os autores, o aumento da aldosterona se daria devido à supressão dos outros mineralocorticoides como 11-desoxicorticosterona e corticosterona, que são ACTH dependente exclusivamente. Apesar de não diferenciar subtipos de depressões, o experimento com DST realizado por Holsboer et al. (1982) foi importante para mostrar também o papel da aldosterona na etiologia dos transtornos depressivos.

Häfner et al. (2013) avaliaram amostras de soro de sujeitos depressivos não separados por polaridade. Pacientes deprimidos e hipertensos apresentaram níveis mais elevados de aldosterona sérica basal. A diferença em relação aos sujeitos saudáveis se dava apenas na combinação de fatores depressão x hipertensão. Este fato pede atenção considerando o papel dos receptores MR tanto na hipertensão, quanto nos transtornos depressivos.

5.3.2.1 Alteração dos níveis de aldosterona sérica frente a fatores como estresse precoce, intensidade do quadro depressivo e comorbidades

Assim como para o cortisol, foram realizadas correlações dos níveis de aldosterona com sintomas depressivos (GRID-HAM-D₂₁ e BDI) e de comorbidades (ansiedade – BAI; desesperança – BHS; ideação suicida – BSI) e tipos de EP, por escore bruto (Tabela 29) ou por nível de gravidade (Tabela 30).

Nesta análise, o fato mais interessante em relação aos achados é que, quando expostos aos fatores, os níveis de aldosterona dos unipolares apresentaram uma correlação diretamente proporcional, enquanto os níveis de aldosterona dos bipolares apresentaram uma relação inversamente proporcional. Esse funcionamento “oposto” foi encontrado para quantidade GR em Yehuda et al. (1993). Considerando essa oposição de tendências dos níveis de aldosterona em unipolares em relação a unipolares, pode ser sugestivo que os MR também apresentem-se em tendência a quantidade, ou sensibilidade, de forma “oposta” em unipolares e bipolares. Mais estudos moleculares precisam ser realizados para confirmação desta hipótese.

Os unipolares apresentaram aumentados os níveis de aldosterona séria basal quanto maior seu escore de depressão (GRID-HAM-D₂₁: correlação fraca, $r^2=0,24$, $p=0,044$ / BDI-II: correlação moderada, $r^2=0,364$; $p=0,003$), grau de

gravidade da depressão (GRID-HAM-D₂₁: correlação fraca, $r^2=0,273$, $p=0,025$) e gravidade da desesperança (BHS: correlação fraca; $r^2=0,284$; $p=0,022$).

Em relação a maiores níveis de desesperança estarem correlacionados aos aumento dos níveis de aldosterona em unipolares, em 1993, Anda e colaboradores, encontraram que, em depressivos, níveis de desesperança moderada aumentava em 60% as chances de doenças cardíacas fatais ou não fatais. Para os deprimidos que apresentavam níveis graves de desesperança, esse nível subia para 110%, ou seja, 2,1 vezes mais chances. Essa comparação foi feita em pacientes que não apresentavam história de cardiopatias. Níveis mais altos de aldosterona predis põem a hipertensão, a qual é causa conhecidamente de morte com complicações cardiovasculares (JOSEPH et al., 2017).

Corroborando aos nossos resultados, Murck et al. (2019) também encontraram correlação entre níveis de aldosterona e severidade de quadro depressivo e a redução dos níveis de aldosterona salivar basal com a melhora do quadro depressivo de unipolares duas semanas após início do tratamento. Segundo eles, essas alterações relacionadas a MR foram observadas apenas em unipolares respondedores ao tratamento antidepressivo, mas não em não-respondedores, indicando também que os níveis de aldosterona poderiam ser bons biomarcadores de prognóstico dos pacientes.

Buttner et al. (2015) também investigaram se a gravidade dos casos de depressão unipolar influenciavam nos níveis de aldosterona salivar comparando com os níveis após seis semanas de tratamento. Neste estudo, eles observaram alta relação aldosterona/cortisol e pressão arterial baixa como fatores preditores de maus-respondedores ao tratamento antidepressivo. Um mecanismo potencial que deveria ser considerado é a perda de sódio como base da disfunção da função MR periférica e, fatores ambientais adicionais podem aumentar a liberação de aldosterona. Segundo eles, esse aumento dos níveis de

aldosterona, resultantes da perda de sódio, poderia ser utilizado como um marcador de pior prognóstico para unipolares. Corroborando com a teoria de Buttner et al. (2015), Murck et al. (2018) avaliaram a taxa de eletrólitos de pacientes unipolares na admissão e após seis semanas de tratamento. Apesar da pressão arterial em si não parecer estar correlacionada ao desfecho do tratamento, taxas baixas da relação sódio/potássio na admissão do estudo pôde predizer um pior desfecho ao longo das seis semanas de tratamento.

Na direção “oposta” aos unipolares, os níveis de aldosterona dos bipolares sofreram redução com maiores escores de ansiedade (BAI: correlação fraca, $r^2 = -0,256$; $p = 0,040$), maiores escores e gravidade de exposição a AF (ambas correlação moderada; $r^2 = -0,321$; $p = 0,010$). Os níveis de aldosterona dos bipolares também tenderam a diminuir com o aumento da gravidade a AE ($r^2 = -0,235$; $p = 0,063$).

A tabela 26 reforça que a presença de EP, especialmente AE e AF alteram os níveis de aldosterona em sujeitos bipolares a níveis menores. Leverich et al. (2002), avaliando pacientes bipolares, puderam correlacionar a exposição a AF e AS com idade mais baixa para primeiro episódio do transtorno, cliclagens mais frequentes, curso mais grave da doença e maior taxa de suicídio. Em 1977, Hullin et al. realizaram um estudo correlacionando as alterações do SRAA a surgimento de quadros maníacos em sujeitos bipolares.

Além da associação dos níveis mais baixos de aldosterona a exposição a EP, pode-se observar que os sujeitos bipolares apresentaram alteração de seus níveis hormonais frente à ansiedade. Transtornos de ansiedade são comorbidades extremamente comuns em sujeitos bipolares, agravando seu quadro. Andrade-Nascimento et al., (2011) observaram que 75% dos pacientes com TB apresentam algum transtorno de ansiedade. Na revisão de Lohano & El-Mallakh (2011), eles apontam dados como pacientes TB apresentando maior risco do que a população geral para: transtorno do pânico, 26 vezes maior;

transtorno obsessivo compulsivo, 10 vezes maior; transtorno do estresse pós-traumático (que até 2013 fazia parte dos transtornos de ansiedade), 6 vezes maior.

Bipolares mostraram tendência a ter maior suscetibilidade a alteração endócrina frente a EP geral e a AF. Comparando-se para os mesmo fatores apenas o grupo unipolar e controle (tabela 28), observou-se a tendência de uma maior redução dos níveis de aldosterona por parte dos bipolares quando comparados aos unipolares também expostos a EP geral ($F=2,975$; $p=0,087$) e AF ($F=2,963$; $p=0,088$).

No estudo de Jansen et al. (2016), em um extrato de amostra brasileira do sul do Brasil, foi possível correlacionar o surgimento de AS ao desenvolvimento de transtorno bipolar, mas não de TDM. Mais estudos investigando populações precisam ser feitos para tentar compreender se há uma relação de causa e efeito para subtipos entre transtornos psiquiátricos e diferentes subtipos de EP.

5.4 POLIMORFISMOS DE GR E MR: FREQUÊNCIAS DE GENÓTIPOS E DE ALELOS PARA DIFERENCIAÇÃO ENTRE UNIPOLAR E BIPOLAR

No presente estudo, ao analisarmos as frequências do polimorfismos entre unipolares x bipolares, ou controles x unipolares x bipolares, não se observou diferença. No entanto, ao comparar-se a frequência do gene GR N363S entre controles e grupo de pacientes (unipolar + bipolar) [C x (U+B)], foi claramente observada uma frequência maior de heterozigotos entre os sujeitos com depressão ($p=0,004$). O grupo unipolar e bipolar para tal polimorfismo não apresentou diferença ($p=1,00$) (Tabela 35). Em nossa amostra, pode-se dizer que o genótipo heterozigoto de N363S é um bom marcador para suscetibilidade depressiva, mas sem especificar o subtipo ou polaridade.

Nas amostras de Van Rossum et al. (2006) e de Galecka et al. (2013) que comparam apenas unipolares e controles foi também constatada maior prevalência alelos variantes tanto para GR N363 quanto para GR R22/23K nos sujeitos depressivos.

5.4.1 Influência dos polimorfismos de MR e GR sobre os níveis de cortisol

Inicialmente, buscou-se saber se os genótipos poderiam exercer alguma influência sobre os níveis de cortisol sérico basais de sujeitos de mesmo perfil. Então, foram feitas análises intragrupo tendo o genótipo como variável independente. GR BclI mostrou uma tendência a exercer alguma influência sobre o nível hormonal na amostra como um todo (N=273) ($F=3,190$; $p=0,043$ – *posthoc* GG x GC: $p=0,049$) (Tabela 38). É possível que essa diferença tenha ocorrido frente a tendência à diferença de distribuição de genótipos entre unipolares e bipolares (Tabela 35; $p=0,089$), pois ao se avaliar de forma intragrupo os controles (Tabela 39), unipolares (Tabela 40) e bipolares (Tabela 41), o polimorfismo BclI não produziu nenhuma diferença significativa nos níveis de cortisol basal sérico.

Para efeitos intragrupo dos níveis de cortisol em função dos genótipos, pode-se observar uma tendência por parte dos unipolares a apresentarem níveis baixos de cortisol quando na presença do alelo variante G (MR -2G/C) em homozigose ($F= 2,850$; $P=0,065$; *posthoc* CG x GG: $p=0,072$) (Tabela 40). Essa tendência aponta que é necessário explorar mais a função dos MR e o polimorfismo -2G/C em relação a TDM.

O único estudo da literatura que aborda polimorfismo MR -2G/C e depressão, apesar de não separar em unipolares e bipolares, encontrou um resultado que corrobora com os nossos. Kumsta et al. (2018 *in press*) avaliaram o efeito de 3 haplótipos envolvendo polimorfismos MR rs5522/rs2070951. Os

haplótipos eram GA, CA, CG. Neste estudo foi possível observar que os sujeitos que eram homozigotos para o haplótipo 1, ou seja, que carregavam duas cópias G de -2G/C e duas do alelo variável A de MR MI180V (haplótipo GA) apresentavam uma resposta de cortisol salivar ao acordar significativamente mais baixa que os demais com apenas uma ou nenhuma cópia deste haplótipo.

Na análise intragrupo dos bipolares, para o polimorfismo raro GR R22/23K, frente ao único sujeito que compôs o grupo GA, houve diferença em relação à média e desvio padrão do genótipo GG ($t=-2,477$; $p=0,016$). Sabe-se que é uma situação delicada extrapolar dados para o grupo do genótipo GA de bipolares considerando que possui apenas um sujeito, pois não é possível inferir com certeza se é efeito do genótipo ou se é apenas um sujeito *outlier* (Tabela 41). É fundamental que a avaliação dos efeitos sobre o cortisol basal sérico em função de GR R22/23K em bipolares seja replicado em amostras maiores para que, de fato, possa se afirmar que tal polimorfismo resulta em alteração de tais níveis hormonais.

Por fim, observamos a interação dos fatores grupo x genótipo para averiguar a suscetibilidade à mudança dos níveis de cortisol basal quando portadores de determinado genótipo. Comparando-se os três grupos (controle, unipolar e bipolar), não foi encontrada diferença. Por outro lado, ao compararem-se apenas unipolares e bipolares para o polimorfismo de GR R22/23K, observamos uma tendência à diferença dos níveis de cortisol frente à presença do alelo variante A. Novamente, o genótipo AG dos unipolares é composto apenas $n=1$ sujeitos, assim como o dos bipolares ($n=1$). O que chama a atenção são os valores extremos observados por estes possíveis *outliers*. Aparentemente, os bipolares tenderiam a alterar os níveis de cortisol sérico basal para cima, quando comparados a unipolares com genótipo AG de GR R22/23K ($F=3,673$; $p=0,057$) (Tabela 43). Realizar análise estatística com grupo de apenas um sujeito já deveria ser rejeitada imediatamente, mas só não o foi, por se tratar de um alelo presente a cada 1000 sujeitos e, principalmente, para reforçar a necessidade de replicação deste estudo em amostras maiores. Galecka et al. (2013) e Van Rossum et al. (2006) observaram uma prevalência

maior do alelo variante A de GR R22/23K em pacientes deprimidos. É importante sugerir que, se esse raro alelo de fato alterar de forma tão acentuada os valores hormonais, é claramente possível que possa-se associar sua alta prevalência em deprimidos, pois a alteração do funcionamento do eixo HPA é conhecida na literatura como uma das etiologias da depressão.

5.4.2 Influência dos polimorfismos de MR e GR sobre os níveis de aldosterona

Dos cinco polimorfismos estudados, nenhum teve efeito significativo sobre os níveis de aldosterona na amostra geral (Tabela 44) e no grupo controle (Tabela 45), quando analisada de forma intragrupo. No entanto, a análise intragrupo mostrou o efeito que as variantes de MR podem exercer sobre os níveis de aldosterona - sujeitos unipolares com alelo G de MR -2G/C ($F=3,312$; $P=0,043$) apresentaram níveis mais baixos e sujeitos bipolares com alelo A de MR MI180V ($t=4,035$; $p=0,001$), níveis mais altos. Relacionando-se depressão (ou seus subtipos) ao polimorfismo rs2070951 (MR -2G/C), não foi encontrado até o momento nenhum estudo experimental/original (não-revisão) na literatura.

Os estudos que investigaram o efeito de MR -2G/C são recentes e abrangem outros temas como pseudoaldosterismo, hipertensão (Van Leeuwen et al., 2010), alteração do eixo HPA em adultos saudáveis (MUTZ et al., 2011), edema pulmonar (YANG et al., 2016), função cognitiva (WIRZ et al., 2017) e capacidade de transativação *in vitro* do gene MR (VAN LEEUWEN et al., 2011), etc. Na tabela 46, é possível observar que os unipolares com genótipo homozigoto para o alelo variante G (MR-2G/C) apresentam o nível de aldosterona mais baixo (*posthoc* GG xGC: 0,045). Cabe uma certa atenção relacionada ao polimorfismo MR -2G/C em relação aos unipolares. Notam-se que os unipolares que apresentaram o alelo variante em homozigose (GG) apresentaram níveis mais baixos tanto de cortisol, quanto de aldosterona. Esse

genótipo variante poderia estar influenciando significativamente no funcionamento de MR de unipolares.

O estudo de Van Leeuwen et al. (2010) observou efeito do genótipo GG MR -2G/C em sujeitos saudáveis normotensos. Neste estudo, a amostra foi estratificada entre hipertensos e normotensos. Os sujeitos saudáveis normotensos que carregavam o genótipo GG apresentavam níveis mais altos de aldosterona do que os que apresentavam outros genótipos. Nossa amostra não observou a diferença nos níveis de aldosterona em relação genótipos em controles. É possível que isso tenha ocorrido pelo alto desvio padrão observado no genótipo GG de nossos controles (Tabela 45).

Outro fator que deve ser levado em consideração é que em bipolares, a presença do genótipo AA de MR M180V fez os sujeitos apresentarem níveis de aldosterona significativamente mais altos que os do genótipo AG ($t=4,035$; $p=0,001$) (Tabela 47). Tal efeito poderia ser sugestivo de uma alteração da sensibilidade dos receptores MR à aldosterona quando portadores do alelo variante.

Considerando-se possíveis influências de genes GR em unipolares sobre os níveis de aldosterona, houve uma redução significativa dos níveis de aldosterona nos sujeitos com o alelo variante G de GR R22/23K ($t= 2,290$; $p=0,025$) (Tabela 46). Esse mesmo sujeito unipolar, único de seu grupo com genótipo GA, com níveis extremamente baixos de aldosterona, ao se analisar uma possível suscetibilidade entre os grupos a alteração dos níveis de aldosterona frente a determinados genótipos, é o que gerou a tendência à diferença entre unipolares, controles e bipolares ($F=2,915$; $p=0,056$) (Tabela 48). Quando analisados unipolares e bipolares, para saber se algum deles seria mais suscetível a alteração dos níveis de aldosterona em função do genótipo, não houve diferença (Tabela 49).

5.4.3 Gravidade do Quadro Depressivo em Função dos Genótipos de GR e MR

Os sujeitos unipolares apresentaram grande influência do alelo variável G de MR -2G/C (rs2070951) também sobre piora da gravidade de seu quadro depressivo ($F=4,961$; $p=0,009$; *posthoc* AA x GG: $p=0,008$; GC x CC: $p=0,062$). Isso corrobora também para o papel do polimorfismo do gene MR e de sua influência sobre os quadros depressivos unipolares e/ou sua influência sobre o funcionamento dos receptores MR para surgimento de quadros depressivos. Kumsta et al. (2018 *in press*) reafirmam o impacto sintomatológico que os níveis baixos de cortisol podem trazer aos sujeitos depressivos que apresentam o alelo mutante G de rs2070951 como hipersonia, fraqueza muscular e “paralisia de chumbo”, letargia, adinamia, exaustão, aumento de apetite e ganho de peso. Tais sintomas compõem o subtipo de depressão chamada de atípica (APA, 2013; JURUENA & CLEARE, 2007; KUMSTA 2018 *in press*; MENEZES & JURUENA, 2017), muito comum em nossa amostra. O grupo bipolar, em presença do alelo G de MR-2G/C, diferentemente dos unipolares, não mostrou piora de seu quadro depressivo (Tabela 52). Eis então esta como uma diferença a se considerar entre unipolares e bipolares – MR -2G/C como polimorfismo um risco para desenvolvimento de depressão unipolar.

5.4.3.1 Suscetibilidade de unipolares ou bipolares a apresentar quadro mais grave de depressão após exposição a EP em função do genótipo

Se observarmos os escores de depressão de todos os polimorfismo em unipolares, exceto rs5522, avaliando sua exposição ou não a EP (Tabela 51) e, analisarmos os bipolares para os mesmos critérios (Tabela 53), será possível notar que em todos os casos, o EP piora os quadros de depressão. Não existe significância para interação genótipo x EP, mas todos eles são significativos para o *posthoc* para EP (unipolares e bipolares). Isso nos remete ao que já foi

comentado anteriormente, que o EP piora consideravelmente os quadros depressivos em quase todos os casos, à exceção da minoria exposta e resiliente.

Os unipolares, dentre os sujeitos depressivos, foram os únicos que apresentaram efeitos da interação EP x genótipo (AGxAA: $F=5,140$; $p=0,026$). Porém, desta vez, pode-se observar que o alelo selvagem G de MR MI180V, teve um efeito protetor, quando o sujeito unipolar fora exposto a EP. Corroborando com este resultado, Vinkers et al. (2015), ao analisarem os efeitos de haplótipos de MR rs5522/rs2017951 em função do sexo, observaram que homens portadores do haplótipo GC eram os sujeitos mais resilientes da amostra clínica, mesmo frente a exposição ao EP. Estes sujeitos apresentavam chances bem mais baixas para o desenvolvimento de TDM. Por outro lado, como foi possível observar em nosso estudo também, os sujeitos do sexo masculino que carregavam o alelo variante A para rs5522 que compunha o haplótipo CA, apresentavam riscos bem mais altos para depressão em caso de EP.

A interação gene GR R22/23K x EP não foi observada em nossa amostra. Precisar-se-ia de um tamanho amostral maior, principalmente de portadores dos alelos variantes. Bet et al. (2009) observaram efeito do polimorfismo R22/23K em sujeitos com depressão que tinham história de EP. Um fato interessante sobre o polimorfismo GR R22/23K é que na amostra de Bet et al. (2009), apesar de existirem apenas três pessoas homozigotas para o alelo variante A, tais sujeitos apresentaram doze vezes mais chances ($OR:13.4$; $p=0,04$) de desenvolver depressão do que os sujeitos que não apresentaram esse alelo variante. Este achado foi uma das razões pelas quais, mesmo com poucos sujeitos da amostra com o variante A para GR R22/23K, não os excluímos das análises. Também, é fundamental reforçar a importância de tentar se replicar tal achado em grupos com unipolares e bipolares, observando seus efeitos sobre os níveis depressivos e hormonais.

5.5 DISCUSSÃO DE PONTOS PRINCIPAIS ENCONTRADOS

A partir de toda análise endócrina, genética e psicométrica, conseguimos obter alguns dados inéditos e/ou explorar dados até então pouco explorados, principalmente no que condiz à diferenciação de TDM de TB.

Como foi possível constatar a partir dos nossos resultados, o EP é um fator ambiental estressor de grande peso para favorecer do surgimento de transtornos psiquiátricos, especialmente a depressão. Mais estudos explorando o fator EP em diferentes amostras e explorando as diferenças entre seus subtipos são necessários, considerando a alta taxa de prevalência da história de EP em pacientes psiquiátricos.

Na parte endócrina do presente trabalho, por meio da alteração dos níveis de aldosterona em função do diagnóstico psiquiátrico, pode-se apontar que o receptor GR e MR estão envolvidos na etiologia da depressão por meio do desbalanço do eixo HPA e SRAA. Maior parte da literatura que aborda alteração do eixo HPA em depressão, explorou o cortisol e GR. A avaliação dos MR ainda é recente e a avaliação dos níveis de aldosterona em deprimidos também. O funcionamento dos MR, assim como polimorfismos de seu gene, conforme observamos claramente em nossos resultados, tem um papel importante na etiologia da depressão bipolar e, principalmente, da unipolar.

O polimorfismo MR -2G/C em unipolares, quando na presença de seu alelo variante, causou redução dos níveis de cortisol e aldosterona. Poderia-se dizer que a variante G estaria aumentando a sensibilidade de GR (acentuando sua retroalimentação negativa) e aumentando também a sensibilidade de MR a aldosterona em unipolares. Além disso, o alelo variante G do polimorfismo MR -2G/C mostrou aumentar a gravidade do quadro depressivo nos unipolares em relação aos que carregam o alelo selvagem C. Já o alelo selvagem G de MR

MI180V poderia estar exercendo um efeito protetor sobre o quadro de depressão de unipolares, evitando a piora do quadro depressivo frente à história de EP.

Outro fato interessante foi ter observado que bipolares com história de EP e seus subtipos (AF e AE) reduzem mais ainda seus níveis de aldosterona quando comparados com os bipolares sem EP.

A partir de nossos dados, pode-se sugerir que pacientes deprimidos unipolares e bipolares apresentam uma dinâmica “oposta” de funcionamento de seus MR. Para as médias de grupo, para os pacientes graves, os unipolares apresentaram os mais altos valores de aldosterona, enquanto os bipolares apresentaram os mais baixos. Isso ficou ainda mais visível ao se correlacionar os grupos para níveis aldosterona sérica basal a fatores que poderiam alterar tais níveis, como EP e gravidade de depressão e comorbidades. As correlações dos níveis de aldosterona que se apresentaram significativas mostraram-se “opostas” entre unipolares e bipolares: enquanto a gravidade do quadro depressivo unipolar era diretamente proporcional ao aumento dos níveis de aldosterona, para os bipolares, à medida que os sintomas depressivos se agravavam, os níveis hormonais eram reduzidos.

Se levarmos em conta o funcionamento dos MR em relação à aldosterona trazida na literatura, os baixos níveis nos bipolares seriam sugestivos de uma hipersensibilidade de MR, que já desempenhariam seu papel frente a menor quantidade de aldosterona disponível. Em contrapartida, os altos níveis de aldosterona em unipolares seriam sugestivos de uma hipossensibilidade do MR, havendo uma necessidade maior de aldosterona para que fosse realizada sua ação.

Assim, tendo em vista os dados aqui apresentados, e o que fora revisado e comparado à literatura científica, apesar da depressão fazer parte do

estabelecimento dos quadros clínicos do TDM e o TB, biologicamente, não são semelhantes. As alterações genéticas e hormonais se estabelecem de forma diferenciada, o que é corroborado também pela prática clínica, na qual se conhece a necessidade de tratamentos distintos para que os sujeitos unipolares e bipolares alcancem a remissão.

A prática clínica já está bastante familiarizada com a distinção de tratamentos farmacológicos após o estabelecimento do diagnóstico. Entretanto, ainda há falta de conhecimento sobre as particularidades biológicas destes dois transtornos (TDM e TB) e de marcadores que possam auxiliar a prática clínica na acurácia diagnóstica. Por isso, mais estudos são necessários replicando nossos experimentos, ou desenvolvendo novos experimentos que explorem o eixo HPA e SRAA e seus receptores em relação a TDM e TB.

Conhecer melhor as particularidades do funcionamento biológico de depressões unipolares e bipolares pode ser a chave para o desenvolvimento de métodos diagnósticos complementares à clínica, tornando tal diagnóstico mais preciso, assim como um melhor direcionamento do tratamento para o paciente. Mas, cabe ressaltar que esta busca deve ir além da mera comparação entre grupos depressivos, ou apenas a exploração da psicopatologia por seu subtipo (uni ou bipolar). Tais estudos devem considerar também fatores como gravidade da depressão ou estados de humor (em bipolares) e presença de fatores estressores exógenos, pois estes claramente geram diferenças no funcionamento biológico e psicológico ao longo do curso da doença.

5.6 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O maior desafio ao longo do estudo foi a dificuldade em fechar um tamanho amostral mínimo para se ter uma análise de qualidade e confiável da etapa genética. A checagem diagnóstica de todos os sujeitos (controles, unipolares e bipolares), além da aplicação das escalas demandava bastante tempo e seletividade, mas não quisemos abrir mão de uma amostra cuidadosamente selecionada para evitar quaisquer possíveis vieses para obtenção de resultados fidedignos. Os sujeitos para se encaixarem no grupo de controles saudáveis, além de não poder preencher critério para nenhum transtorno psiquiátrico ao longo da vida (pela MINI PLUS), não poderiam ter parentes de primeiro grau (mãe, pai, irmão ou filhos) com transtorno psiquiátrico.

Por esse grau de seletividade, foi o grupo que mais demoramos para atingir o tamanho amostral mínimo de $n=113$ para a etapa genética. Tal número de controles em relação ao número de unipolares e bipolares, trouxe um poder amostral de 80% na etapa genética para os polimorfismos MR MI180V, MR - 2G/C, GR BclI. Para os resultados de GR R22/23K e GR N363S, precisaríamos de um número de controles bem maior para atingir tal poder amostral, considerando que esses alelos de GR são bastante raros na população. É possível que se encontrem alguns resultados significativos em relação a GR R22/23K e GR N363S em caso de aumento do tamanho amostral de controles.

Quanto à seleção de sujeitos unipolares e bipolares, mesmo estes já tendo o diagnóstico por parte dos médicos residentes de psiquiatria e médicos psiquiatras supervisores, eram novamente triados via MINI PLUS, assim como os controles. As dificuldades que encontramos em relação aos unipolares e bipolares foram basicamente em função da gravidade de seu quadro depressivo

e que a maioria dos sujeitos não residia em Ribeirão Preto, mas nas cidades vizinhas, sendo, muitas vezes, necessário agendar nosso encontro em horário matinal, além do dia de sua consulta para triagem, entrevista e coleta de sangue.

Durante as coletas de sangue, algumas vezes, houve dificuldade em função de difíceis acessos venosos de alguns pacientes, tornando algumas amostras biológicas mais escassas (coletadas em menor volume). Então, se houvesse falha na leitura dos níveis de hormônio por parte do aparelho, como por exemplo, o aparelho de quimioluminescência que dosava aldosterona, parte ou toda a amostra (se fosse escassa) era perdida. Por esse motivo, apresentamos um número menor de sujeitos nas análises de aldosterona e cortisol, comparando-se com as análises genéticas.

6. CONCLUSÃO

É fundamental o desenvolvimento de novos estudos para avaliar melhor a função do eixo HPA, GR e cortisol na distinção entre TDM e TB; devendo-se também ampliar as pesquisas sobre as particularidades dos MR, do SRAA, aldosterona e outros biomarcadores.

Unipolares e bipolares mostraram diferenças bastante significativas em relação a aldosterona e cortisol. Os unipolares com maiores níveis hormonais, e bipolares, com os menores. Observamos um funcionamento inverso dos MR, considerando a forma como os níveis de aldosterona se alteraram dependendo se o sujeito é unipolar ou bipolar. Aliam-se a isso, os vários achados significativos a cerca dos polimorfismos de MR, tanto para unipolar quanto para bipolar, e sua influência sobre os níveis de aldosterona e cortisol basais. Também, a vulnerabilidade ou resiliência biológica ao EP, dependendo do genótipo.

Conhecer melhor as particularidades do funcionamento biológico de depressões unipolares e bipolares é fundamental para o desenvolvimento de métodos diagnósticos complementares à clínica, tornando tal diagnóstico mais preciso, assim como um tratamento mais específico para cada paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.N.; LAFER, B.; BACA-GARCIA, E.; OQUENDO, M.A. Suicidal ideation and suicide attempts in bipolar disorder type I: an update for the clinician. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, n. 3, p. 271-280, 2009.

AHMED, S.; MOUSSA, F.; MOUSTAFA, A.; AYOUB, D.R. Cortisol level in depressed patients and its relation with suicidal risk and anhedonia. **The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery**, v. 53, p. 193–199, 2016.

ALANGARI, A.A. Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma. "Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma. **Annals of thoracic medicine**, v.5, n. 3, p.133-139, 2010.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, (DSM-5)**. Washington DC, American Psychiatric Association, 2013.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION - APA. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision (DSM-IV-TR)**. Washington DC, American Psychiatric Association, 2013.

AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, n. 3, p. 106-115, 2000.

ANDA R, WILLIAMSON D, JONES D, MACERA C, EAKER E, GLASSMAN A, MARKS J. Depressed affect, hopelessness, and the risk of ischemic heart disease in a cohort of U.S. adults. **Epidemiology**, v.4, p.285–294, 1993.

ANDRADE, L.H.; WANG, Y.-P.; ANDREONI, S.; SILVEIRA, C.M.; ALEXANDRINO-SILVA, C.; SIU, E.R.; NISHIMURA, R.; ANTHONY, J.C.; GATTAZ, W.F.; KESSLER, R.C.; VIANA, M.C. Mental Disorders in Megacities: Findings from the São Paulo Megacity Mental Health Survey, Brazil. **PLoS ONE**, v.7, p. e31879, 2012.

ANDRADE-NASCIMENTO, M.; MIRANDA-SCIPPA, Â.; NERY-FERNANDES, F.; KAPCZINSKI, F.; QUARANTINI, L.C. The identification of unipolar mania subtype based on anxiety comorbidity. **Journal of Affective Disorders**, v. 132, n. 3, p. 356-359, 2011.

ARRIZA, J.L.; SIMERLY, R.B.; SWANSON, L.W.; EVANS, R.M. The neuronal mineralocorticoid receptor as a mediator of glucocorticoid response. **Neuron**, v.1, n.9, p. 888-900, 1988.

ARRIZA, J.L.; WEINBERGER, C.; CERELLI, G.; GLASER, T.M.; HANDELIN, B.L.; HOUSMAN, D.E.; EVANS, R.M. Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with the glucocorticoid receptor. **Science**, v. 237, n.4812, p. 268-275, 1987.

BAES, C.v.; MARTINS, C.M.; TOFOLI, S.M.; JURUENA, M.F. Early Life Stress in Depressive Patients: HPA Axis Response to GR and MR Agonist. **Frontiers in Psychiatry**, v. 5, p. 2, 2014.

BARRA, S.; VITAGLIANO, A.; CUOMO, V.; VITAGLIANO, G.; GAETA, G. Vascular and metabolic effects of angiotensin II receptor blockers. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v.10, n.2, p. 173-189, 2009.

BECK, A.T.; STEER, R.A.; BALL, R.; RANIERI, W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. **Journal of Personality Assessment**, v.67, p.588-597, 1996.

BERNSTEIN, D.P.; FINK, L.; HANDELSMAN, L.; FOOTE, J.; LOVEJOY, M.; WENZEL, K. et al. Initial reliability and validity of a new retrospective measure of child abuse and neglect. **The American Journal of Psychiatry**, v. 151, n. 8, p. 1132-1136, 1994.

BESSER, G.M.; THORNER, M.O. **Comprehensive Clinical Endocrinology**, 3rd ed. Philadelphia: Mosby, Elsevier Science Limited, 2002.

BET, P. M.; PENNINX, B. W. J. H.; BOCHDANOVITS, Z.; UITTERLINDEN, A. G.; BEEKMAN, A. T. F.; VAN SCHOOR, N. M.; DEEG, D.J.H; HOOGENDIJK, W. J. G. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms and childhood adversity are associated with depression: New evidence for a gene-environment interaction. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 150B, n.5, p. 660–669, 2009.

BRADLEY, R. G.; BINDER, E. B.; EPSTEIN, M. P.; TANG, Y.; NAIR, H. P.; LIU, W.; GILLESPIE, C. F.; BERG, T.; EVCES, M.; NEWPORT, D. J.; STOWE, Z. N.; HEIM, C. M.; NEMEROFF, C. B.; SCHWARTZ, A.; CUBELLS, J. F.; RESSLER, K. J. Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropin-releasing hormone receptor gene. **Archives of General psychiatry**, v. 65, n.2, p.190-200, 2008.

BRAY, P.J.; COTTON, R.G. Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): pathological and in vitro mutations and polymorphisms. **Human Mutation**, v.21, n. 6, p.557-568, 2003.

BRUNSON, K. L.; EGHBAL-AHMADI, M.; BENDER, R.; CHEN, Y.; BARAM, T. Z. Long-term, progressive hippocampal cell loss and dysfunction induced by early-life administration of corticotropin-releasing hormone reproduce the effects of early-life stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 15, p. 8856-8861, 2001.

BUNEA, I.M.; SZENTÁGOTAI-TÁTOR, A.; MIL, A.C. Early-life adversity and cortisol response to social stress: a meta-analysis. **Translational Psychiatry**, v.7, n. 12, p. 1274, 2017.

BURTIS, C.A.; BRUNS, D.E. **Tietz fundamentos de química clínica e diagnóstico molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

BÜTTNER, M.; JEZOVA, D.; GREENE, B.; KONRAD, C.; KIRCHER, T.; MURCK, H. Target-based biomarker selection e Mineralocorticoid receptorrelated biomarkers and treatment outcome in major depression. **Journal of Psychiatric Research**, v. 66-67, p. 24e37, 2015.

CARPENTER, L.L.; GAWUGA, C.E.; TYRKA, A.R.; LEE, J.K.; ANDERSON G.M.; PRICE, L.H. Association between plasma IL-6 response to acute stress and early-life adversity in healthy adults. **Neuropsychopharmacology**, v.35, n.13, p. 2617-2623, 2010.

CARR, C.P.; MARTINS, C.M.S.; STINGEL, A.M.; LEMGRUBER, V.B.; JURUENA, M.F. The Role of Early Life Stress in Adult Psychiatric Disorders: A Systematic Review According to Childhood Trauma Subtypes. **Journal of mental Disorders**, v. 201, n. 12, p. 1007-1020, 2013.

CARROLL, B.J.; CURTIS, G.C.; MENDELS, J. Neuroendocrine regulation in depression: Discrimination of depressed from nondepressed patients. **Archives of General Psychiatry**, v. 33, p. 1051-1058, 1976.

CATTANEO, A.; MACCHI, F.; PLAZZOTTA, G.; VERONICA, B.; BOCCHIO-CHIAVETTO, L.; RIVA, M. A.; PARIANTE, C. M. Inflammation and neuronal plasticity: a link between childhood trauma and depression pathogenesis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 9, n. 40, p. 1- 12, 2015.

CHEN, J.; CAI, Y., CONG, E., LIU, Y., GAO, J., LI, Y., TAO, M., ZHANG, K., WANG, X., GAO, C., YANG, L., LI, K., SHI, J., WANG, G., LIU, L., ZHANG, J., DU, B., JIANG, G., SHEN, J., ZHANG, Z., LIANG, W., SUN, J., HU, J., LIU, T., WANG, X., MIAO, G., MENG, H., LI, Y., HU, C., LI, Y., HUANG, G., LI, G., HA, B., DENG, H., MEI, Q., ZHONG, H., GAO, S., SANG, H., ZHANG, Y., FANG, X., YU, F., YANG, D., LIU, T., CHEN, Y., HONG, X., WU, W., CHEN, G., CAI, M., SONG, Y., PAN, J., DONG, J., PAN, R., ZHANG, W., SHEN, Z., LIU, Z., GU, D., WANG, X., LIU, X., ZHANG, Q., LI, Y., CHEN, Y., KENDLER, K. S., SHI, S., FLINT, J. (2014). Childhood sexual abuse and the development of recurrent major depression in Chinese women. **PloS one**, v.9, n.1, p. e87569.

CHROUSOS, G. P.; KINO, T. Glucocorticoid signaling in the cell. Expanding clinical implications to complex human behavioral and somatic disorders. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1179, p. 153-616, 2009.

CHROUSOS, G.P.; KINO, T. Glucocorticoid action networks and complex psychiatric and/or somatic disorders. **Stress**, v.10, n.2, p. 213–219, 2007.

CLAES, S. Glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1179, p.216-228, 2009.

COHEN, R.A.; GRIEVE, S.; HOTH, K.F.; PAUL, R.H.; SWEET, L; TATE, D.; GUNSTAD, J.; STROUD, L.; MCCAFFERY, J.; HITSMAN, B.; NIAURA, R.; CLARK, C.R.; MACFARLANE, A.; BRYANT, R.; GORDON, E.; WILLIAMS, L.M. Early Life Stress and Morphometry of the Adult Anterior Cingulate Cortex and Caudate Nuclei. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 10, p. 975-982, 2006.

CUNHA, J.A. **Manual da versão em português das escalas Beck**. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2001

DANCEY CP; REIDY J. (trad. Viali, L.). **Estatística sem matemática para psicologia**. In: *Análise de correlação: o r de Pearson*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed; 2006. cap. 5.

DARUY-FILHO, L.; BRIETZKE, E.; LAFER, B.; GRASSI-OLIVEIRA, R. Childhood maltreatment and clinical outcomes of bipolar disorder. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 124, p. 427–434, 2011.

DE KLOET, E.R.; JOËLS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. **Nature Reviews. Neuroscience**. v. 6, p. 463-475, 2005

DE KLOET, E.R.; JOËLS, M. Brain mineralocorticoid receptor function in control of salt balance and stress-adaptation. **Physiology & Behavior**, v. 178, p. 13-20, 2017.

DeRIJK, R.; de KLOET, E. R. Corticosteroid Receptor Genetic Polymorphisms and Stress Responsivity. **Endocrine**, v. 28, n.3, p.263–270, 2005.

DERIJK, R.H.; WÜST, S.; MEIJER, O.C.; ZENNARO, M.C.; FEDERENKO, I.S.; HELLHAMMER, D.H. GIACCHETTI, G.; VREUGDENHIL, E.; ZITMAN, F.G.; DE KLOET, R. A Common Polymorphism in the Mineralocorticoid Receptor Modulates Stress Responsiveness. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, n. 12. p. 5083–5089, 2006.

DERIJK, R.H.; VAN LEEUWEN, N.; KLOK, M.D.; ZITMAN, F.G. Corticosteroid receptor-gene variants: Modulators of the stress-response and implications for mental health. **European Journal of Pharmacology**, v. 585, p. 492-501, 2008.

DOOLIN, K.; FARRELL, C.; TOZZI, L.; HARKIN, A.; FRODL, T.; O'KEANE, V. Diurnal Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Measures and Inflammatory Marker Correlates in Major Depressive Disorder, **International Journal of Molecular Sciences**, v.18, n. 10, p. 2226, 2017.

EMANUELE, E.; GEROLDI, D.; MINORETTI, P.; COEN, E.; POLITI, P. Increased Plasma Aldosterone in Patients with Clinical Depression. **Archives of Medical Research**, v. 36, p. 544–548, 2005.

ENCÍO, I.J.; DETERA-WADLEIGH, S.D. The Genomic Structure of the Human Glucocorticoid Receptor, **The journal of biological chemistry**, v. 266, p.7182-7188, 1991.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A.; MADRIGAL-SANTILLÁN, E.; BAUTISTA, M., ESQUIVEL-SOTO, J.; MORALES-GONZÁLEZ, A.; ESQUIVEL-CHIRINO, C.; DURANTE-MONTIEL, I.; SÁNCHEZ-RIVERA, G.; VALADEZ-VEGA, C.; MORALES-GONZÁLEZ, J.A. Inflammation, oxidative stress, and obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12, p, 3117–3132, 2011.

GAŁECKA, E.; SZEMRAJ, J.; BIENKIEWICZ, M.; MAJSTEREK, I.; PRZYBYŁOWSKA-SYGUT, K.; GAŁECKI, P.; LEWINSKY. Single nucleotide

polymorphisms of NR3C1 gene and recurrent depressive disorder in population of Poland. **Molecular Biology Reports**, v.40, p. 1693–1699, 2013.

GOMEZ-SANCHEZ, E.; GOMEZ-SANCHEZ, C.E. The Multifaceted Mineralocorticoid Receptor. **Comprehensive Physiology**, v.4, n.3, p. 965–994, 2014.

GORENSTEIN, C; WANG, Y.P; ARGIMON, I.L.; WERLANG, B.S.G. In BECK, A.T; STEER, R.A; BROWN, G.K. **BDI-II - Inventário de depressão de Beck**. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2012.

GRANDE, I.; BERK, M.; BIRMAHER, B.; VIETA, E. Bipolar Disorder. **The Lancet**, v. 387, n.10027, p.9-15, 2016.

GRASSI-OLIVEIRA, R.; COGO-MOREIRA, H.; SALUM, G.A.; BRIETZKE, E.; VIOLA, T.W.; MANFRO, G.G.; KRISTENSEN, C.H.; ARTECHE, A.X. Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) in Brazilian Samples of Different Age Groups: Findings from Confirmatory Factor Analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n.1, e87118, 2014.

GRASSI-OLIVEIRA, R.; STEIN, L. M.; PEZZI, J. C. Tradução e validação de conteúdo da versão em português do Childhood Trauma Questionnaire. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 2, p. 249-255, 2006.

GROSS, K. L.; LU, N. Z.; CIDLOWSKI, J. A. Molecular mechanisms regulating glucocorticoid sensitivity and resistance. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 300, p.7-16, 2009.

HÄFNER, S.; BAUMERT, J.; EMENY, R.T.; LACRUZ, M.E.; BIDLINGMAIER, M.; REINCKE, M; LADWIG, K.H. Hypertension and depressed symptomatology: A cluster related to the activation of the renin–angiotensin–aldosterone system (RAAS). Findings from population based KORA F4 study. **Psychoneuroendocrinology**, v.38, n. 10, p. 2065-2074, 2013.

HALL, J.E.; GUYTON, A.C. **Guyton & Hall tratado de fisiologia médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HAMILTON, M. Development of a rating scale for primary depressive illness. **Brazilian Journal of Social and Clinical Psychology**, v. 6, p. 278-296, 1967.

HEIM, C.; NEWPORT, D. J.; MLETZKO, T.; MILLER, A.H.; NEMEROFF, C.B. The link between childhood trauma and depression: Insights from HPA axis studies in humans. **Psychoneuroendocrinology**, v.33, p. 693–710, 2008b.

HEIM, C; MLETZKO, T.; PURSELLE, D.; MUSSELMAN, D.L.; NEMEROFF, C.B. The dexamethasone/corticotropin-releasing factor test in men with major depression: role of childhood trauma. **Biological Psychiatry**, v. 68, p, 398-405, 2008a.

HEIM, C.; SHUGART, M.; CRAIGHEAD, W.E; NEMEROFF, C.B. Neurobiological and psychiatric consequences of child abuse and neglect. **Developmental Psychobiology**, n.52, n.7, p.671-690, 2010.

HENRIQUE-ARAÚJO, R.; OSÓRIO, F. L.; GONÇALVES RIBEIRO, M.; SOARES MONTEIRO, I.; WILLIAMS, J. B.; KALALI, A.; ALEXANDRE CRIPPA, J.; OLIVEIRA, I. R. Transcultural Adaptation of GRID Hamilton Rating Scale For Depression (GRID-HAMD) to Brazilian Portuguese and Evaluation of the Impact of Training Upon Inter-Rater Reliability. **Innovations in clinical neuroscience**, v.11, n.7-8, p.10-18, 2014.

HINKELMANN, K.; HELLMANN-REGEN, J.; WINGENFELD, K.; KUEHL, L.K.; MEWS, M.; FLEISCHER, J.; HEUSER, I.; OTTE, C. Mineralocorticoid receptor function in depressed patients and healthy individuals. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.71, p. 183–188, 2016.

HOLLENBERG, S.M.; WEINBERGER, C.; ONG, E.S.; CERELLI, G.; ORO, A.; LEBO, R.; THOMPSON, E.B.; ROSENFELD, M.G.; EVANS, R.M. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. **Nature**, v. 318, p. 635–641, 1985.

HOLSBOER, F.; DÖRR, H.G.; SIPPELL, W.G. Blunted aldosterone response to dexamethasone in female patients with endogenous depression. **Psychoneuroendocrinology**, v.7, n.2-3, p.155-162, 1982.

HORNUNG, O. P.; HEIM, C. M. Gene-environment interactions and intermediate phenotypes: early trauma and depression. **Frontiers in endocrinology**, 5, 14, 2014.

HULLIN, R.; JERRAM, T.; LEE, M.; LEVELL, M.; TYRER, S. Renin and Aldosterone Relationships in Manic Depressive Psychosis. **British Journal of Psychiatry**, 131(6), 575-581, 1977.

HUNTER, R.; DICK, H.; CHRISTIE, J.E. GOODWIN, G.M.; FINK, G. Lymphocyte glucocorticoid receptor binding in depression: Normal values following recovery. **Journal of Affective Disorders**, v.14, p.155-159, 1988.

ISING, M.; HOLSBOER, F. Genetics of stress response and stress-related disorders. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 8, n. 4, p. 433-444, 2006.

JANSEN, K.; CARDOSO, T.A.; FRIES, G.R.; BRANCO, J.C.; SILVA, R.A.; KAUER-SANT'ANNA, M. KAPCZINSKI, F.; Magalhaes, P.V.S. Childhood trauma, family history, and their association with mood disorders in early adulthood. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, p.1–6, 2016.

JIANG, H-K.; WANG, J-Y.; LIN, J-C.; The central mechanism of hypothalamic–pituitary–adrenocortical system hyperfunction in depressed patients. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v.54, p. 227–234, 2000.

JOËLS, M.; KARST, H.; DeRIJK, R.; De KLOET, E.R. The coming out of the brain mineralocorticoid receptor. **Trends in Neurosciences**, v.31, n.1, p. 1-7, 2008.

JOËLS, M.; PASRICHA, N.; KARST, H. The interplay between rapid and slow corticosteroid actions in brain. **European Journal of Pharmacology**, v. 719, n.1-3, p. 44-52, 2013.

JOSEPH, J. J.; ECHOUFFO-TCHEUGUI, J. B.; KALYANI, R. R.; YEH, H. C.; BERTONI, A. G.; EFOE, V. S.; CASANOVA, R.; SIMS, M.; WU, W. C.; WAND, G. S.; CORREA, A.; GOLDEN, S. H. Aldosterone, Renin, Cardiovascular Events, and All-Cause Mortality Among African Americans: The Jackson Heart Study. **JACC. Heart failure**, v.5, n.9, p. 642-651, 2017.

JURUENA, M.F. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. **Epilepsy & Behavior**, v.38; p. 148-159, 2014.

JURUENA, M.F.; BOCHAROVA, M.; AGUSTINI, B. YOUNG, A.H. Atypical depression and non-atypical depression: Is HPA axis function a biomarker? A systematic review. **Journal of Affective Disorders**, v. 233, p. 45-67, 2018.

JURUENA, M.F.; CLEARE, A.J.; Superposição entre depressão atípica, doença afetiva sazonal e síndrome da fadiga crônica. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.29, suppl.1, p.s19-s26, 2007.

JURUENA, M.F.; CLEARE, A.J.; PAPADOPOULOS, A.S.; POON, L.; LIGHTMAN, S.; PARIANTE, C.M. Different responses to dexamethasone and prednisolone in the same depressed patients. **Psychopharmacology**, v. 189, p. 225–235, 2006.

JURUENA, M.F.; PARIANTE, C.M.; PAPADOPOULOS, A.S.; POON, L.; LIGHTMAN, S.; CLEARE, A.J. The role of mineralocorticoid receptor function in treatment-resistant depression. **Journal of Psychopharmacology**, v. 27, n. 12, p. 1169–1179, 2013

JURUENA, M.F.; PARIANTE, C.; PAPADOPOULOS, A.; POON, L.; LIGHTMAN, S.; CLEARE, A. Prednisolone suppression test in depression: Prospective study of the role of HPA axis dysfunction in treatment resistance. **British Journal of Psychiatry**, v.194, n. 4, p. 342-349, 2009.

JURUENA, M.F.; PARIANTE, C.M.; PAPADOPOULOS, A.; CLEARE, A.J. The development and application of the prednisolone suppression test in psychiatry: a novel tool for assessing glucocorticoid and mineralocorticoid receptor function. **Mind & Brain: the journal of psychiatry**, v.1, p.115-122, 2010.

JURUENA, M.F.; von WERNE BAES, C.; MENEZES, I.C.; GRAEFF, F.G. Early life stress in depressive patients: role of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. **Current Pharmaceutical Design**, v.21, p. 1369-1378, 2015.

KEMP, A.H.; GORDON, E.; RUSH, J.; WILLIAMS, L.M. Improving the Prediction of Treatment Response in Depression: Integration of Clinical, Cognitive, Psychophysiological, Neuroimaging, and Genetic Measures. **CNS Spectrum**, v. 13, n. 12, p. 1066-1086, 2008.

KUMSTA, R.; KLIEGEL, D.; LINDEN, M.; DERIJK, R.; DE KLOET, E.R. Genetic variation of the mineralocorticoid receptor gene (MR, NR3C2) is associated with a conceptual endophenotype of “CRF-hypoactivity”, **Psychoneuroendocrinology**, 2018, *in press*.

LEMBKE, A.; GOMEZ, R.; TENAKOON, L.; KELLER, J.; COHEN, G.; WILLIAMS, G.H.; KRAEMER, F.B.; SCHATZBERG, A.F. The mineralocorticoid receptor agonist, fludrocortisone, differentially inhibits pituitary-adrenal activity in humans with psychotic major depression. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, p. 115-121, 2013.

LIN, C.C.; LEE, C.T.; LO, Y.T.; HUANG, T.L. Brain-derived neurotrophic factor protein and mRNA levels in patients with bipolar mania - A preliminary study, **Biomedical Journal**, v.39, n.4, p. 272–276, 2016.

LOHANO, K.; EL-MALLAKH, S. The Anxious Bipolar Patient. **Psychiatric Times**, v. 28, n.9, 2011.

LÖSEL, R.M.; FALKENSTEIN, E.; FEURING, M.; SCHULTZ, A.; TILLMANN, H.-C.; ROSSOL-HASEROTH, K.; WEHLING, M. Nongenomic Steroid Action: Controversies, Questions, and Answers. **Physiological Reviews**, v.83, p.965–1016, 2003.

MAJER-ŁOBODZIŃSKA, A; ADAMIEC-MROCZEK, J. Glucocorticoid receptor polymorphism in obesity and glucose homeostasis. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v.26, n.1, p. 143-148, 2017.

MANN, J. J.; CURRIER, D. M. Stress, genetics and epigenetic effects on the neurobiology of suicidal behavior and depression. **European psychiatry: the journal of the Association of European Psychiatrists**, v. 25, n.5, p. 268-271, 2010.

MANTHEY, L.; LEEDS, C.; Giltay, E.J.; van Veen, T.; Vreeburg, S.A.; Penninx, B.W.J.H.; Zitman, F.G. Antidepressant use and salivary cortisol in depressive and anxiety disorders. **European Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 9, p. 691-699, 2011.

MARI, J.J.; PITTA, J.C.N. **Psiquiatria por Meio de Casos Clínicos**. São Paulo: Editora Manole, 2010.

MARIPUU, M.; WIKGREN, M.; KARLING, P.; ADOLFSSON, R.; NORRBACK, K-F. Relative hypocortisolism is associated with obesity and the metabolic syndrome in recurrent affective disorders. **Journal of Affective Disorders**, v. 204, p. 187–196, 2016.

MARTINS, C.M.S; TOFOLI, S.M.C; BAES, C.V.W.; JURUENA, M.F. Analysis of the occurrence of early life stress in adult psychiatric patients: a systematic review. **Psychology & Neuroscience**, v. 4, p. 219–227, 2011.

MARTINS-MONTEVERDE, C.M.S.; BAES, C.v.W.; REISDORFER, E.; PADOVAN, T.; TOFOLI, S.M.C.; JURUENA, M.F. Relationship Between

Depression and Subtypes of Early Life Stress in Adult Psychiatric Patients. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, n.19, 2019.

MANIGLIO, R. Prevalence of child sexual abuse among adults and youths with bipolar disorder: a systematic review. **Clinical Psychology Review**, v.33, p. 561–573, 2013.

MCGOWAN, P. O.; SASAKI, A.; D'ALESSIO, A. C.; DYMOV, S.; LABONTÉ, B.; SZYF, M.; TURECKI, G.; MEANEY, M. J. Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. **Nature Neuroscience**, v.12, n.3, p.342-348, 2009.

MEIJER, O.C; STEENBERGEN, P.J.; DE KLOET, E.R. Differential Expression and Regional Distribution of Steroid Receptor Coactivators SRC-1 and SRC-2 in Brain and Pituitary. **Endocrinology**, v. 141, n. 6, p. 2192–2199, 2000.

MELLO, A.F.; JURUENA, M.F.; PARIANTE, C.M.; TYRKA, A. R.; PRICE, L.H.; CARPENTER, L.L.; DEL PORTO, J.A. Depression and stress: is there an endophenotype? **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 29, Suppl 1:S13-18, 2007.

MENEZES, I.C.; JURUENA, M.F. Diagnóstico de depressões unipolares e bipolares e seus especificadores. **Medicina (Ribeirão Preto, Online.)**, v.50, supl.1, p.64-71, 2017.

MENEZES, I.C.; VON WERNE BAES, C.; LACCHINI, R.; JURUENA, M.F. Genetic biomarkers for differential diagnosis of major depressive disorder and bipolar disorder: A systematic and critical review. **Behavioural Brain Research**, v.357-358, p. 29-38, 2019.

MITRE-AGUILAR, I. B., CABRERA-QUINTERO, A. J., & ZENTELLA-DEHESA, A. (2015). Genomic and non-genomic effects of glucocorticoids: implications for breast cancer. **International journal of clinical and experimental pathology**, v.8, n. 1, p.1-10, 2015.

MURCK, H.; BRAUNISCH, M.C.; KONRAD, C.; JEZOVA, D.; KIRCHER, T. Markers of mineralocorticoid receptor function: changes over time and relationship to response in patients with major depression. **International Clinical Psychopharmacology**, v.34, n. 01, p. 18-26 (9), 2019.

MURCK, H.; BÜTTNER, M.; KIRCHER, T.; KONRAD, C. Genetic, Molecular and Clinical Determinants for the Involvement of Aldosterone and Its Receptors in Major Depression. **Nephron Physiology**, v. 128, p. 17-25, 2014.

MURCK, H.; PLOCH, M.; MONTGOMERY, S. Mineralocorticoid receptor-related markers and outcome of major depression: focus on blood pressure and electrolytes. **International Clinical Psychopharmacology**, v.33, n.4, p. 224-228, 2018.

MURCK, H.; SCHÜSSLER, P.; STEIGER, A. Renin-angiotensin-aldosterone system: the forgotten stress hormone system: relationship to depression and sleep. **Pharmacopsychiatry**, v. 45, n. 3, p. 83-95, 2012.

MUHTZ, C.; ZYRIAX, B.-C.; BONDY, B.; WINDLER, E.; OTTE, C. Association of a common mineralocorticoid receptor gene polymorphism with salivary cortisol in healthy adults. **Psychoneuroendocrinology**, v.36, n.2, 298–301, 2011.

NEMEROFF, C. B., HEIM, C. M., THASE, M. E., KLEIN, D. N., RUSH, A. J., SCHATZBERG, A. F., NINAN, P. T., MCCULLOUGH, J. P., WEISS, P. M., DUNNER, D. L., ROTHBAUM, B. O., KORNSTEIN, S., KEITNER, G., ... KELLER, M. B. Differential responses to psychotherapy versus pharmacotherapy in patients with chronic forms of major depression and childhood trauma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 24, p.14293-14296, 2003.

NEWPORT, D.J.; HEIM, C.; BONSALE, R.; ; MILLER, A.H.; NEMEROFF, C.B. Pituitary-adrenal responses to standard and low-dose dexamethasone suppression tests in adult survivors of child abuse. *Biological Psychiatry*, v.55: p. 10-20, 2004.

O'CONNOR, D.B.; FERGUSON, E.; GREEN, J.A.; O'CARROLL, R.E.; O'CONNOR, R.C. Cortisol levels and suicidal behavior: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, v.63, p. 370-379,2016.

OBERLANDER, T.F.; WEINBERG, J.; PAPSDORF, M.; GRUNAU, R.; MISRI, S.; DEVLIN, A.M. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. **Epigenetics**, v.3, n.2, p.97-106, 2008.

OBERLANDER, T.F.; WEINBERG, J.; PAPSDORF, M.; GRUNAU, R.; MISRI, S.; DEVLIN, A.M. Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. **Epigenetics**, v.3, n.2, p.97-106, 2008.

OTTE, C.; HINKELMANN, K.; MORITZ, S.; YASSOURIDIS, A.; JAHN, H.; WIEDEMANN, K.; YASSOURIDIS, A.; JAHN, H.; WIEDEMANN, K.; KELLNER, M. Modulation of the mineralocorticoid receptor as add-on treatment in depression: A randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study. **Journal of Psychiatric Research**, v. 44, p. 339-346, 2010.

PADMOS, R.C.; HILLEGERS, M.H.; KNIJFF, E.M.; VONK, R.; BOUVY, A.; STAAL, DE RIDDER, D.; KUPKA, R.W.; NOLEN, W.A., DREXHAGE, H.A. A discriminating messenger RNA signature for bipolar disorder formed by an aberrant expression of inflammatory genes in monocytes, **Archives of General Psychiatry**, v. 65, n.4), p.395-407, 2008.

PALLASKORPI, S.; SUOMINEN, K.; KETOKIVI, M.; MANTERE, O.; ARVILOMMI, P.; VALTONEN, H.; LEPPÄMÄKI, S.; ISOMETSÄ, E. Five-year outcome of bipolar I and II disorders: findings of the Jorvi Bipolar Study. **Bipolar Disorders**, v.17, n.4, p. 363-374, 2015.

PARIANTE, C.M.; PAPADOPOULOS, A.S.; POON, L.; CHECKLEY, S.A.; ENGLISH, J.; KERWIN, R.W.; LIGHTMAN, S. A novel prednisolone suppression test for the hypothalamic-pituitary- adrenal axis. **Biological Psychiatry**, v. 51, p. 922-930, 2002.

REUL, J.M.H.M.; COLLINS, A.; SALIBA, R.S.; MIFSUD, K.R.; CARTER, S.D.; GUTIERREZ-MECINAS, M.; QIAN, X.; LINTHORST, A.C.E. Glucocorticoids, epigenetic control and stress resilience. **Neurobiology of Stress**, v.1, p. 44-59, 2015.

REUL, J.M.H.M.; DE KLOET, E.R. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: Microdistribution and differential occupation. **Endocrinology**, v. 117, p. 2505-2511, 1985.

RUFFIER, M., KÄHÄRI, A., KOMOROWSKA, M., KEENAN, S., LAIRD, M., LONGDEN, I., PROCTOR, G., SEARLE, S., STAINES, D., TAYLOR, K., VULLO, A., YATES, A., ZERBINO, D., ... FLICEK, P. Ensembl core software resources: storage and programmatic access for DNA sequence and genome annotation. **The journal of biological databases and curation**, n. 1, 2017.

SEGEDA, V.; IZAKOVA, L.; HLAVACOVA, N.; BEDNAROVA, A.; JEZOVA, D. Aldosterone concentrations in saliva reflect the duration and severity of depressive episode in a sex dependent manner. **Journal of Psychiatric Research**, v. 91, p. 164e168, 2017.

SHEA, A.; WALSH, C.; MACMILLAN, H.; STEINER, M. Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress disorder in females. **Psychoneuroendocrinology**, v.30, p. 162-178, 2005.

SHEEHAN, D. V.; LECRUBIER, Y.; SHEEHAN, K. H.; AMORIM, P.; JANAVS, J.; WEILLER, E.; DUNBAR, G. C. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. **Journal of Clinical Psychiatry**, 34-57, 1998.

SOUZA, M.C.L. A.; MARTINS, C.S.; SILVA-JUNIOR, I.M.; CHRIGUER, R.S.; BUENO, A.C.; ANTONINI, S.R.; SILVA JR., W.A.; ZAGO, M.A.; MOREIRA, A.C.; CASTRO, M. (2014). NR3C1 polymorphisms in Brazilians of Caucasian, African, and Asian ancestry: glucocorticoid sensitivity and genotype association. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 58, n.1, p.53-61, 2014.

STEIN, D. J.; AGUILAR-GAXIOLA, S.; ALONSO, J.; BRUFFAERTS, R.; DE JONGE, P.; LIU, Z.; MIGUEL CALDAS-DE-ALMEIDA, J.; O'NEILL, S.; VIANA, M. C.; AL-HAMZAWI, A. O.; ANGERMEYER, M. C.; BENJET, C.; DE GRAAF, R.; FERRY, F.; KOVESH-MASFETY, V.; LEVINSON, D.; DE GIROLAMO, G.; FLORESCU, S.; HU, C.; KAWAKAMI, N.; MARIA HARO, J.; PIAZZA, M.; POSADA-VILLA, J.; WOJTYNIAK, B. J.; XAVIER, M.; LIM, C. C.; KESSLER, R. C.; SCOTT, K. M. Associations between mental disorders and subsequent onset of hypertension. **General hospital psychiatry**, v. 36, n. 2, 142-149, 2013

TUNNARD, C.; RANE, L.J.; WOODERSON, S.H.C.; MARKOPOULOU, K.; POON, L.; FEKADU, A.W.; JURUENA, M.; CLEARE, A.J. The impact of childhood adversity on suicidality and clinical course in treatment-resistant depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 152-154, p. 122–130, 2014.

VALIENGO, L.L.; SOEIRO-DE-SOUZA, M.G.; MARQUES, A.H.; MORENO, D.H. JURUENA, M.F. ANDREAZZA, A.C.; GATTAZ, W.F.; MACHADO-VIEIRA R. Plasma cortisol in first episode drug-naïve mania: differential levels in euphoric versus irritable mood. **Journal of Affective Disorders**, v. 138, n. 1-2, p. 149-152, 2012.

VAN LEEUWEN, N.; BELLINGRATH, S.; RONALD DE KLOET, R.; ZITMAN, F.G.; DERIJK, R.H.; KUDIELKA, B.M.; WÜST, S. Human mineralocorticoid receptor (MR) gene haplotypes modulate MR expression and transactivation: Implication for the stress response. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, p. 699-709, 2011.

VAN LEEUWEN, N.; CAPRIO, M.; BLAYA, C.; FUMERON, F.; SARTORATO, P.; RONCONI, V.; GIACCHETTI, G.; MANTERO, F.; FERNANDES-ROSA, F.L.; SIMIAN, C.; PEYRARD, S.; ZITMAN, F.G.; PENNINX, B.W.J.H.; De KLOET, E.R.; AZIZI, M.; JEUNEMAITRE, X.; DeRIJK, R.H.; ZENNARO, M.-C. The Functional c.-2G>C Variant of the Mineralocorticoid Receptor Modulates Blood Pressure, Renin, and Aldosterone Levels. **Hypertension**, v. 56, p.995-1002, 2010.

VAN ROSSUM, E.F.C.; BINDER, E.B.; MAJER, M.; KOPER, J.W.; ISING, M.; MODELL, S.; SALYAKINA, D.; LAMBERTS, S.W.J.; HOLSBOER, F. Polymorphisms of the Glucocorticoid Receptor Gene and Major Depression. **Biological Psychiatry**, v. 59, p.681-688, 2006.

VIANA, M.C.; ANDRADE, L.H. Lifetime Prevalence, age and gender distribution and age-of-onset of psychiatric disorders in the São Paulo Metropolitan Area, Brazil: results from the São Paulo Megacity Mental Health Survey. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 34, p. 249-260, 2012.

VINKERS, C.H.; JOËLS, M.; MILANESCHI, Y.; GERRITSEN, L.; KAHN, R.S.; PENNINX, B.W.J.H.; BOKS, M.P.M. Mineralocorticoid receptor haplotypessex-dependently moderate depressionsusceptibility following childhoodmaltreatment. **Psychoneuroendocrinology**, v. 54, p. 90—102, 2015.

VON BARDELEBEN, U; HOLSBOER, F. Effect of age on the cortisol response to human corticotropin-releasing hormone in depressed patients pretreated with dexamethasone. **Biological Psychiatry**, v.29, p.1042-1050, 1991.

VON WERNE BAES, C., DE CARVALHO TOFOLI, S., MARTINS, C., JURUENA, M. Assessment of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity: Glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor function in depression with early life stress – a systematic review. **Acta Neuropsychiatrica**, v. 24, n.1, p. 4-15, 2012.

VREEBURG, S.A.; HOOGENDIJK, W.J.G.; DERIJK, R.H.; VAN DYCK, R.; SMIT, J.H.; ZITMAN, F.G; PENNINX, B.W.J.H. Salivary cortisol levels and the 2-year course of depressive and anxiety disorders **Psychoneuroendocrinology**, v.38, p.1494—1502, 2013.

WATSON, S.; GALLAGHER, P.; RITCHIE, J.; FERRIER, I.; YOUNG, A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with bipolar disorder. **British Journal of Psychiatry**, v.184, n.6, p. 496-502, 2004.

WILKINSON, P.; GOODYER, I. Childhood adversity and allostatic overload of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: A vulnerability model for depressive disorders. **Development and Psychopathology**, v. 23, p.4, p.1017-1037, 2011.

WILLIAMS, J.B.W; KOBAC, K.A.; BECH, P.; ENGELHARDT, N.; EVANS, K.; LIPSITZ, J.; OLIN, J.; PEARSON, J.; KALALI, A. The GRID-HAM-D: standardization of the Hamilton Depression Rating Scale. **International Clinical Psychopharmacology**, v.23, n.3, p.120-129, 2008.

WIRZ, L.; REUTER, M.; WACKER, J.; FELTEN, A.; SCHWABE, L. A. Haplotype Associated with Enhanced Mineralocorticoid Receptor Expression Facilitates the Stress-Induced Shift from "Cognitive" to "Habit" Learning. **eNeuro**, v.4, n.6, 2017.

WITHERS, A.C.; TARASOFF, J.M.; STEWART, J.W Is Depression With Atypical Features Associated With Trauma History? **Clinical Psychiatry**, v. 74, n. 5, p. 500–506, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 11th Revision (ICD-11)**, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Depression and Other Common Mental Disorders Global Health Estimates. **WHO**, p. 24, 2017.

YANG, Y; XU, J.; TANG, F.; GA, Q.; LI, Y.; GUAN, W.; GE, R-L. NR3C2 Gene is Associated with Susceptibility to High-Altitude Pulmonary Edema in Han Chinese. **Wilderness & Environmental Medicine**, Volume 29, Issue 4, 488 – 492, 2018.

YATHAM, L.N.; KENNEDY, S.H.; PARIKH, S.V.; SCHAFFER, A.; BEAULIEU, S; ALDA, M.; O'DONOVAN, C.; MACQUEEN, G.; MCINTYRE, R.S.; SHARMA, V.; RAVINDRAN, A.; YOUNG, L.T.; MILEV, R.; BOND, D.J.; FREY, B.N.; GOLDSTEIN, B.I.; LAFER, B.; BIRMAHER, B.; HA, K.; NOLEN, W.A.; BERK, M. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) Collaborative Update of CANMAT Guidelines for the Management of Patients with Bipolar Disorder: Update 2013. **Bipolar Disorders**, vol. 15, p. 1-44, 2013.

YEHUDA, R.; BOISONEAU, D.; MASON, J.W.; GILLER, E.L. Glucocorticoid receptor number and cortisol excretion in mood, anxiety, and psychotic disorders, **Biological Psychiatry**, v.34, n. 1-2, p.18-25, 1993.

YOUNG, E.A.; LOPEZ, J.F.; MURPHY-WEINBERG, V.; WATSON, S.J.; AKIL, H. Mineralocorticoid receptor function in major depression. **Archives of General Psychiatry**, v.60, p. 24-28, 2003.

YOUNG, H.A.; MACPHERSON, H. Detection of Bipolar Disorder. **British Journal of Psychiatry**, v.199, p.3-4, 2011.

ZENNARO, M.C.; FERNANDES-ROSA, F. 30 years of the mineralocorticoid receptor: mineralocorticoid receptor mutations. **Journal of Endocrinology**, v.234, n. 1, p. T93-T106, 2017.

ANEXOS

Diagnóstico de depressões unipolares e bipolares e seus especificadores

Diagnosis of unipolar and bipolar depressions and their specifiers

Itiana Castro Menezes¹, Mário Francisco Juruena^{1,2}

RESUMO

Depressão é uma doença comum, recorrente e crônica, que acomete o organismo do indivíduo como um todo, afetando o humor, as funções cognitivas, neuroendócrinas e outros sistemas do organismo, prejudicando o bem-estar pessoal, social e laboral. A depressão é multifatorial (etiologia intrínseca e extrínseca) e heterogênea, pois, além de unipolar ou bipolar, existem especificadores (subtipos) de depressão, cada um contendo particularidades em sua sintomatologia. A presente revisão visa abordar as depressões unipolares e bipolares, assim como alguns de seus especificadores, apresentando suas características, critérios diagnósticos, epidemiologia, comorbidades associadas e etiologia; também apresentando a importância de ser feito e como pode ser feito o diagnóstico diferencial entre as depressões unipolares e bipolares.

Palavras-chave: Depressão. Depressão Unipolar. Depressão Bipolar.

ABSTRACT

Depression is a common, recurrent and chronic disease with a high prevalence in the world population. It is a disease that affects the individual organism as a whole, affecting, in addition to mood, cognitive, neuroendocrine and physiological functions, impairing personal, social and laboral well-being. Depression is multifactorial (intrinsic and extrinsic etiology) and heterogeneous, because in addition of being unipolar or bipolar, there are specifiers (subtypes) of depression, each containing particularities in symptomatology. This review aimed to present the unipolar and bipolar depressions, as well as some of their specifiers, with their characteristics, diagnostic criteria, epidemiology, associated comorbidities and etiology; also presenting the importance of being done and how we can make the differential diagnosis between unipolar and bipolar depressions.

Keywords: Depression. Depression, Unipolar. Depression, Bipolar.

1. Programa de Pós-Graduação em Saúde Mental, Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
2. Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience, King's College London

CORRESPONDÊNCIA:
Prof. Dr. Mario F. Juruena
Saúde Mental - USP
Rua Tenente Catão Roxo, 2650
CEP: 14051-140 - Ribeirão Preto/SP
e-mail: juruena@fmrp.usp.br

Recebido em 08/02/2016
Aprovado em 22/08/2016

Introdução

A depressão é uma condição de curso crônico, recorrente e de alta prevalência na população mundial, estando frequentemente associada à incapacitação funcional e ao comprometimento da saúde física dos indivíduos afetados.¹ Os pacientes deprimidos apresentam limitação da sua atividade e bem-estar e utilizam os serviços de saúde com mais frequência.² Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a depressão será a segunda maior causa de incapacitação global em 2030.³

Os quadros depressivos são caracterizados pela presença de humor deprimido e/ou perda de prazer ou interesse, somados à presença de alguns ou todos os seguintes sintomas: alteração do sono, alteração do peso e do comportamento alimentar, alteração psicomotora, fadiga ou perda de energia, prejuízo das funções cognitivas, sentimento de menos-valia ou sentimento excessivo de culpa e ideação suicida.⁴ A depressão é uma enfermidade heterogênea e apresenta subtipos, os quais são caracterizados por variações dos sintomas acima citados. O objetivo desta revisão é abordar as depressões unipolares e bipolares e seus especificadores (subtipos), assim como seus sintomas, epidemiologia, comorbidades associadas e etiologia, ressaltando a importância do diagnóstico diferencial.

Depressões unipolares e bipolares

As depressões unipolares e bipolares compunham parte dos Transtornos de Humor, eixo I, na revisão textual da 4ª edição do Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM) - DSM-IV-TR.⁵ A partir do DSM-5,⁴ as depressões unipolares passaram a pertencer ao capítulo de Transtornos Depressivos e as depressões bipolares passaram a fazer parte do capítulo de Transtornos Bipolares e Relacionados.

O fator chave que distingue a depressão bipolar da unipolar é a presença de alternância dos quadros depressivos com a presença ou história de episódios de mania e/ou hipomania.^{4,6,7} Os episódios de mania e de hipomania são caracterizados por humor elevado, expansivo ou irritado, seguido de três ou mais das seguintes características: sentimento de grandiosidade; diminuição da necessidade de sono; necessidade acentuada de falar; dis-

tratibilidade acentuada; agitação psicomotora; envolvimento em atividades de risco (físico ou financeiro, por exemplo). A duração dos sintomas de hipomania devem ser de quatro dias ou mais e, os de mania, sete dias ou mais. Episódios de mania podem ou não ter a presença de sintomas psicóticos e devem comprometer significativamente o funcionamento ocupacional e/ou social. Episódios de hipomania não apresentam sintomas psicóticos e não devem influenciar de forma grave funcionamento ocupacional e/ou social do indivíduo.^{4,6}

Os transtornos depressivos (depressões unipolares) apresentam uma alta incidência na população mundial, em torno de 15% das pessoas irá ser acometida ao longo da vida. A prevalência em mulheres é maior que em homens, apresentando uma razão média de 2:1. A maior incidência no sexo feminino se deve a alterações hormonais, estressores psicossociais e à maternidade.^{2,3,8} A idade média do primeiro episódio depressivo unipolar é de 27 anos,, podendo variar de acordo com o sexo do sujeito e à exposição a estressores.^{3,9} Andrade et al.¹⁰ entrevistaram na região metropolitana de São Paulo 5037 pessoas. Estes sujeitos foram investigados quanto ao seu diagnóstico psiquiátrico, severidade de sintomas e sobre os tratamentos realizados nos últimos 12 meses. Nesta amostra, a depressão foi um dos transtornos mais prevalentes e com índice estimado acima de outras populações. Os transtornos depressivos (unipolares) somaram 10,7%, sendo que 1,3% apresentavam distímia e 9,4% transtorno depressivo maior. Os transtornos depressivos foram associados de forma significativa ao sexo feminino e à exposição a eventos traumáticos. Na mesma amostra, Viana & Andrade¹¹ apontam que a prevalência para os transtornos unipolares ao longo da vida era de 18,5%, sendo 1,6% distímia e 16,9% transtorno depressivo maior. Mulheres apresentaram 2,5 vezes mais distímia e 2,7 vezes mais transtorno depressivo maior que os homens.¹¹

Segundo o DSM-5,⁴ o transtorno depressivo maior apresenta alta comorbidade com transtornos relacionados ao uso de substâncias, transtorno de pânico, transtorno obsessivo-compulsivo, anorexia nervosa, bulimia nervosa e transtorno de personalidade *bordeline*; e o transtorno depressivo persistente (distímia) apresenta alta comorbidade com transtornos de personalidade dos *clusters* B e C.

A prevalência dos transtornos bipolares ao longo da vida, segundo estudos populacionais, tem sido de 1% para bipolar I, 1,1% para bipolar II e de 2,4% para sujeitos pertencentes ao espectro bipolar.^{7,12} Apesar disso, Young & MacPherson⁷ acreditam que as prevalências descritas nesses estudos tem sido inconsistentes. Merinkangas et al.,¹² por exemplo, aponta que o espectro bipolar pode afetar até 5% da população em geral. A incidência dos transtornos bipolares é semelhante entre os sexos (1:1).^{4,10} Novoli et al.¹³ apontam que essa taxa semelhante de prevalência entre os sexos se aplicaria apenas para transtorno bipolar I, pois em seu estudo longitudinal, observaram que transtorno bipolar II era mais prevalente em mulheres. Novoli et al.¹³ também observaram a prevalência de quadros depressivos nas mulheres bipolares, assim como sendo essa a polaridade predominante durante todo o curso da doença. A idade de início dos sintomas nos transtornos bipolares costuma ser aos 18 anos para bipolares I e aos 25 anos para bipolares II. Para os bipolares II, os episódios depressivos costumam acontecer antes dos 20 anos de idade, em maior número e antes dos episódios de hipomania.¹⁴ Duffy¹⁴ aponta que é importante a realização do diagnóstico de transtorno bipolar entre os 13-19 anos, pois 60% dos casos se iniciam antes dos 20 anos de idade. No estudo de Andrade et al.,¹⁰ na região metropolitana de São Paulo, a incidência de transtornos bipolares (tipo I e tipo II) no último ano havia sido de 1,5%. Viana & Andrade¹¹ apontaram que na mesma amostra a prevalência ao longo da vida foi de 2,1%. Além da prevalência, Andrade et al.¹⁰ encontrou que entre os transtornos de humor, os bipolares apresentavam as mais altas taxas de casos severos (66,4%) ou associados ao maior prejuízo avaliado pela Escala de Desabilidade de Sheehan.¹⁵ Não houve diferença entre sexos quanto à prevalência nem no último ano,¹⁰ nem ao longo da vida.¹¹ O risco de suicídio em bipolares é 15-20 vezes maior do que na população em geral, contabilizando um quarto de todos os suicídios cometidos com sucesso.^{4,6}

Quanto à presença de comorbidades associadas aos transtornos bipolares, 75% dos pacientes com transtornos bipolares apresentam algum transtorno de ansiedade e mais da metade dos pacientes bipolares I apresentam comorbidade com transtorno de uso de substâncias. Ainda, síndrome me-

tabólica e enxaqueca são mais comuns em pessoas com transtornos bipolares do que na média da população geral. No transtorno bipolar II, 14% dos pacientes apresentam pelo menos um episódio de transtorno alimentar, sendo mais comum a compulsão alimentar do que bulimia ou anorexia nervosa.⁴

Diagnóstico diferencial entre depressão unipolar e bipolar

Embora haja diferenças etiológicas, neurológicas, fisiológicas e quanto ao tratamento entre transtornos depressivos e transtornos bipolares na prática clínica, a apresentação de episódios depressivos em pacientes bipolares podem não diferir substancialmente daqueles dos pacientes unipolares. Desta forma, frequentemente, pacientes bipolares são erroneamente diagnosticados como unipolares, principalmente no início do transtorno.^{4,16,17} Segundo o DSM-5,⁴ aproximadamente 12% dos pacientes que inicialmente tiveram diagnóstico de depressão unipolar, são reconhecidos como bipolares II apenas mais tarde, após o aparecimento do primeiro episódio de hipomania. Apenas 20% dos pacientes bipolares recebem o diagnóstico correto no primeiro ano de tratamento.^{6,18} No estudo de Smith et al.¹⁹ sujeitos que eram equivocadamente diagnosticados como unipolares por serviços de saúde primários, secundários e terciários, tinham um padrão depressivo mais severo, com menos habilidade psicossocial e maior prejuízo na qualidade de vida. Dos sujeitos que haviam sido diagnosticado como depressivos unipolares, 21,6% puderam ser diagnosticados como bipolares usando a Escala *Checklist* de Hipomania (HCL-32)²⁰ e a Escala de Diagnóstico do Espectro Bipolar (BSDS).²¹ Um fato que leva a esta confusão diagnóstica entre Transtornos Depressivos e Transtornos Bipolares é que, apesar dos quadros depressivos e maníacos serem facilmente diagnosticados, quadros de hipomania frequentemente não o são. As alterações de energia, de atividade e de sono que acontece durante a hipomania em pacientes bipolares são frequentemente encaradas como experiências positivas, como sensação normal de bem-estar.^{4,7,22} Bipolares II e pessoas do espectro bipolar costumam ter mais quadros depressivos do que de hipomania ou ter vários quadros depressivos antes do primeiro episódio de hipomania. Assim, estes sujeitos não costumam re-

latar os quadros de hipomania, principalmente quando deprimidos.^{4,7,14,22} Quadros depressivos com características mistas (depressão associada à hipomania/mania) também costumam ser mais difíceis de diagnosticar, considerando que, em vez de o paciente apresentar humor elevado, apresenta humor deprimido (típico do episódio depressivo), junto à irritabilidade e ao aumento de energia (típico de episódios de hipomania).⁴ Muitas vezes, a irritabilidade e a impulsividade podem ser as características mais marcantes em quadros de hipomania ou quadros depressivos mistos. Sintomas depressivos co-ocorrendo com sintomas hipomaniacos, ou vice-versa, são comuns em bipolares II, sendo prevalente em mulheres, particularmente quando em quadro de hipomania com característica mista (hipomania co-ocorrendo com sintomas depressivos).⁴ Alguns autores defendem a definição mais ampla sobre a hipomania, sugerindo que ela poderia ter duração de 1-2 dias,^{6,22} em vez de 4 dias ou mais, conforme sugerido no DSM-IV-TR (5) e DSM-5.⁴ A falta de precisão diagnóstica e de tratamento apropriado tornam os quadros depressivos bipolares cada vez mais crônicos e graves. Estudos clínicos apontam que cerca de 40% a 50% dos pacientes bipolares II e do espectro bipolar levam em torno de 10 anos para receber o diagnóstico correto.⁷

O diagnóstico correto é fundamental para que o paciente receba o tratamento correto. O tratamento medicamentoso de pacientes bipolares é distinto do tratamento de pacientes unipolares. Os antidepressivos costumam ser usados como primeira linha de tratamento farmacológico para sujeitos deprimidos unipolares.²³ Já as depressões bipolares devem ser tratadas com medicamentos estabilizadores de humor associados ou não a antidepressivos. É fundamental a presença de medicamentos estabilizadores de humor na terapia medicamentosa de sujeitos bipolares. Alguns exemplos de estabilizadores de humor que são utilizados atualmente são os clássicos (como os sais de lítio), medicamentos anticonvulsivantes (como o ácido valproico ou a carbamazepina), ou ainda, medicamentos antipsicóticos de segunda geração (como a risperidona e a quetiapina).²⁴ Se pacientes bipolares forem diagnosticados como unipolares, é provável que iniciem seu tratamento medicamentoso apenas com antidepressivos. Consequentemente, existirá o risco de apresentarem virada hipomaniaca/maniaca

ou de apresentarem quadro depressivo misto, os quais costumam estar associados a um risco maior de ideação suicida.²⁵⁻²⁸

Especificadores de depressão

As depressões, além de serem unipolares ou bipolares, podem ser caracterizadas segundo especificadores ou subtipos. Neste artigo, no tópico anterior, já foi abordado de forma sucinta o que são os episódios depressivos com características mistas e, a seguir, serão abordados os episódios depressivos com características melancólicas, atípicas, psicóticas e ansiosas.

1) Depressão melancólica e depressão atípica (não-melancólica)

A depressão melancólica constitui uma depressão com a descrição clássica, cujos sintomas além da disforia e perda de interesse, são a baixa reatividade ao ambiente, insônia, hipofagia, anorexia, retardo motor, sentimento de culpa acentuado, hiperativação noradrenérgica, serotoninérgica e do sistema simpático, baixa imunidade, nível de cortisol plasmático elevado e hiperatividade do eixo hipófise-pituitária-adrenal (HPA). Já a depressão atípica contrapõe alguns dos sintomas da depressão melancólica, caracterizando-se por, além da disforia e perda de interesse, ter reatividade acentuada a fatores ambientais, hipersonia, hiperfagia (principalmente por carboidratos e doces), letargia e fadiga (muitas vezes acompanhada por "paralisia de chumbo" nos membros), atividade simpática, noradrenérgica e serotoninérgica reduzidas, alta imunidade, nível de cortisol plasmático baixo e atividade reduzida do eixo HPA. Pacientes deprimidos melancólicos tendem a sentir-se pior pela manhã, podendo haver uma melhora no humor ao longo do dia, contrariamente aos pacientes deprimidos atípicos, que tendem a estar melhores ao acordar e se sentirem piores ao longo do dia.^{1,4,29-33} Em geral, a depressão atípica tende a ter um início mais precoce (antes dos 20 anos de idade), a ser mais frequente em mulheres e de ter comorbidade elevada com distímia, abuso de substâncias, propensão à obesidade^{29,30,31} e transtorno bipolar II.^{34,35} É comum sujeitos que apresentam história de estresse precoce apresentarem o perfil atípico de depressão. A característica de personalidade dos deprimidos atípicos são singulares, na qual há tendência

para a expansão, a volubilidade, a labilidade emocional, a irresponsabilidade, o egocentrismo, o narcisismo, o exibicionismo, a vaidade, a sedução e a manipulação são frequentes. São presas fáceis de galanteios e elogios. Suas maneiras, no geral, são histriônicas. Quando frustrados ou desapontados, tendem a tornar-se recriminadores, chorosos, abusados, vingativos e é comum recorrerem ao uso de álcool e outras drogas.^{29,30,31}

2) Depressão psicótica

A depressão psicótica apresenta algumas características da depressão melancólica, mas é fortemente caracterizada por uma depressão não-variável ao longo do dia, com anergia constante, presença de constipação e alterações psicomotoras mais severas do que as da depressão melancólica não-psicótica. Este subtipo de depressão é caracterizado especificamente pela presença de características psicóticas, como ilusões e alucinações bem marcadas.³⁶ Insônia, indecisão e ideação suicida podem ser bons preditivos para o diagnóstico de depressão psicótica.³⁷ A depressão psicótica pode estar associada a altos índices de hiperatividade do eixo HPA.³⁸ As dificuldades diagnósticas desse tipo de depressão decorrem de características psicóticas no transtorno depressivo serem mais sutis do que as encontradas nos pacientes com transtornos psicóticos primários; de os sintomas psicóticos serem sub-relatados pelos pacientes em função de desconforto ou paranoia; e devido à alta taxa de comorbidades apresentadas pelos sujeitos.³⁷

3) Depressão ansiosa

A depressão ansiosa pode ser definida pela presença de dois dos seguintes sintomas, os quais devem persistir na maior parte dos dias no episódio depressivo maior ou no transtorno depressivo persistente, podendo variar em intensidade: a) sensação de tensão; b) sensação incomum de incapacidade de relaxar; c) dificuldade em concentra-se devido a preocupações; d) medo que coisas ruins aconteçam; e) medo de perder o autocontrole. No estudo de Harald & Gordon,³⁹ foram revisados mais alguns conceitos sobre depressão ansiosa. Segundo esta revisão, alternativamente, a depressão ansiosa pode ser conceituada como depressão maior com ansiedade, na qual há presença de sintomas ansiosos, sendo esta distinta ou mais severa que a

depressão maior em si. Assim sendo, os riscos de depressão ansiosa se sobrepõem aos das depressões melancólica, psicótica e atípica, as quais frequentemente apresentam comorbidades ansiosas durante os episódios depressivos, não sendo a ansiedade em si a precursora dos quadros depressivos.⁴

Etiologia da depressão

A depressão é considerada uma doença multifatorial. Os seus fatores etiológicos são a soma da suscetibilidade endógena com a exposição a fatores ambientais estressores.^{1,40}

O DSM-5⁴ aponta uma herdabilidade dos transtornos depressivos de aproximadamente 40% de transtornos depressivos e que traços de personalidade neurótica contribuem substancialmente para essa suscetibilidade genética. Ainda, sujeitos cujos familiares de primeiro grau tem transtorno depressivo maior possuem de duas a quatro vezes mais chances de desenvolver esse mesmo transtorno do que a população em geral. Concordando com esses dados, Edvardsen *et al.*⁴¹ avaliaram pares de gêmeos mono e dizigóticos de mesmo sexo, dos quais N=143 preencheram critério para um ou mais transtornos depressivos (unipolares). As taxas de concordância relacionadas à herdabilidade foram maiores nos monozigóticos do que nos dizigóticos, sendo que a herdabilidade de transtorno depressivo maior foi de 42%.

Quanto aos transtornos bipolares, a herdabilidade é muito alta. Ter histórico familiar de transtornos bipolares já é considerado um fator de risco. Parentes adultos de indivíduos bipolares I e II apresentam um risco 10 vezes maior que a população geral, estando esse risco aumentado com a proximidade de parentesco com o indivíduo afetado.⁴ Segundo Craddock & Sklar,⁴² a taxa de desenvolvimento de transtorno bipolar na população em geral é de 0,5-1,5%, aumentando para 5-10% se houver familiar de primeiro grau com o transtorno. Estima-se uma herdabilidade de 40-70% entre gêmeos mono e dizigóticos. Esquizofrenia e transtornos bipolares provavelmente partilham uma origem genética, refletida em co-agregação familiar.⁴ Lichtenstein *et al.*⁴³ chegaram à mesma conclusão após analisar o material genético de mais de nove milhões de indivíduos suíços para avaliação de risco para esquizofrenia,

transtornos bipolares e suas co-morbidades. A comorbidade entre os distúrbios foi de 63% e se deu principalmente devido a efeitos genéticos aditivos comuns a ambos os transtornos.

Não apenas da genética dependem os quadros depressivos para se desenvolverem. A exposição do indivíduo a estressores ambientais também é fator importante para o desenvolvimento da depressão. Um importante fator exógeno que pode ser citado é a história de estresse precoce.^{1,44} O estresse precoce pode ser designado como a exposição do indivíduo no período de seu desenvolvimento a abusos emocionais, sexuais ou físicos e/ou negligências emocionais e físicas.⁴⁴ A consequência à história de estresse precoce pode determinar a interrupção do desenvolvimento neurológico e, dependendo de quando eles ocorrem, podem causar sérias "cicatrizes" (alterações psicológicas, funcionais ou estruturais neurológicas), tornando alguns indivíduos vulneráveis ao desenvolvimento de psicopatologias.^{1,44-47} Como o eixo HPA é ativado em resposta a estressores, eventos estressantes no início da vida podem também ter um papel etiológico significativo nas anormalidades do eixo HPA encontradas na depressão. Crescentes evidências indicam que o abandono e o abuso infantil são fatores de risco para desenvolvimento de depressão, tanto de

início na infância como na idade adulta.^{1,48} A revisão de Heim & Binder.⁴⁷ aponta dados da literatura sobre estresse precoce e o forte impacto que possui sobre a metilação do DNA e modificações das histonas, produzindo alterações de expressão gênica e comportamentais. Alguns dos estudos por eles revisados mostram que muitas das alterações neurobiológicas encontradas em indivíduos com estresse precoce não estavam presentes em indivíduos sem estresse precoce, sugerindo a existência de subtipos biologicamente distinguíveis de depressão em função do estresse precoce. A consideração da presença de história de estresse precoce também pode ser crucial para a tomada de decisões clínicas, podendo os pacientes serem responsivos a tratamentos diferenciais.⁴⁷

Conclusão

A depressão é uma doença que apresenta alta prevalência na população, sendo complexa, multifatorial, heterogênea. Assim, é fundamental que se conheça as diferenças entre seus subtipos, etiologias e comorbidades para se realizar o diagnóstico adequado e para que se possa prescrever o tratamento mais adequado ao subtipo de depressão do paciente.

Mensagens-chave

- A depressão é uma doença que afeta os sistemas do corpo humano como um todo.
- A depressão é uma doença comum, crônica e recorrente.
- Os transtornos depressivos são multifatoriais, ou seja, são a soma dos fatores internos (genéticos e sistêmicos) e ambientais (estressores).
- As depressões podem ser unipolares ou bipolares e ainda apresentam especificadores (subtipos). Assim, as características particulares a cada subtipo de depressão devem ser consideradas na hora do diagnóstico e da escolha do tratamento.

Questões para debate

- 1) Quais fatores devem ser considerados para diferenciar a depressão unipolar da bipolar na presença do primeiro quadro depressivo do sujeito?
- 2) Por que sujeitos bipolares II ou do espectro bipolar demoram tanto a receber o diagnóstico correto?
- 3) Qual o grande diferencial entre o tratamento da depressão unipolar da bipolar?
- 4) Quais as principais características dos quadros depressivos com características mistas?
- 5) Quais as principais diferenças entre depressão com características melancólicas das com características atípicas?
- 6) O quanto é importante a herdabilidade nos transtornos depressivos e nos transtornos bipolares?
- 7) Qual o impacto do estresse precoce como fator externo na etiologia do quadro depressivo?

Referências

1. Jurueña MF, Werne Baes CV, Menezes IC, Graeff FG. Early life stress in depressive patients: role of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Curr Pharm Des*. 2015; 21:1369-78.
2. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush AJ, Walters EE, Wang PS. National Comorbidity Survey Replication. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*. 2003; 289:3095-105.
3. Lam RW. Depression. Lundbeck Revised Second Edition. UK: Oxford University press, 2012.
4. American Psychiatry Association - APA. DMS-5 – Diagnostic and Statistical manual of mental disorders, 5th edition. Washington DC: APA, 2013.
5. American Psychiatry Association - APA. DMS-IV-TR – Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edition, Text Revision. Washington DC: APA, 2000.
6. Grande I, Berk M, Birmaher B, Vieta E. Bipolar Disorder. *Lancet*. 2016; 387 (10027): 9-15.
7. Young HA & MacPherson H. Detection of Bipolar Disorder. *Br J Psychiatry*; 2011; 199:3-4.
8. Piccoloto N, Wainer R, Benvenú L, Jurueña M. Curso e prognóstico da depressão: Revisão comparativa entre os transtornos do humor. *Rev. Psiquiat. Clín. (São Paulo)*. 2000; 27:93-103.
9. Jurueña MF, Cleare AJ. Overlap between atypical depression, seasonal affective disorder and chronic fatigue syndrome. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007; 29:S19-S26.
10. Andrade LH, Wang Y-P, Andreoni S, Silveira CM, Alexandrino-Silva C, Siu ER, et al. Mental Disorders in Megacities: Findings from the São Paulo Megacity Mental Health Survey, Brazil. *PLoS ONE*. 2012; 7: e31879.
11. Viana MC, Andrade LH. Lifetime Prevalence, age and gender distribution and age-of-onset of psychiatric disorders in the São Paulo Metropolitan Area, Brazil: results from the São Paulo Megacity Mental Health Survey. *Rev Bras Psiquiatr*. 2012; 34: 249-60.
12. Merikangas KR, Akiskal HS, Angst J, Greenberg PE, Hirschfeld RMA, Petukhova M, et al. Lifetime and 12-month prevalence of bipolar spectrum disorder in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2007; 64: 543-52.
13. Nivoli AMA, Pacchiarotti I, Rosa AR, Popovic D, Murru A, Valenti M, Bonnin CM, Grande I, Sanchez-Moreno J, Vieta E, Colom F. Gender differences in a cohort study of 604 bipolar patients: the role of predominant polarity. *J Affect Disord*. 2011; 133:443-9.
14. Duffy A. The early course of bipolar disorder in youth at familial risk. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2009; 18: 200-5.
15. Leon AC, Olsson M, Portera L, Farber L, Sheehan DV. Assessing psychiatric impairment in primary care with the Sheehan Disability Scale. *Int J Psychiatry Med*. 1997; 27: 93-105.
16. Becking K, Spijker AT, Hoencamp E, Penninx BW, Schoevers RA, Boschloo L. Disturbances in Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis and Immunological Activity Differentiating between Unipolar and Bipolar Depressive Episodes. *PLoS One*. 2015; 21; 10:e0133898.
17. Tas C, Cebi M, Tan O, Hýzlý-Sayar G, Tarhan N, Brown EC. EEG power, cordance and coherence differences between unipolar and bipolar depression. *J Affect Disord*. 2015; 172:184-90.
18. Goldberg JF, Harrow M, Whiteside JE. Risk for bipolar illness in patients initially hospitalized for unipolar depression. *Am J Psychiatry*. 2001; 158: 1265-70.
19. Smith DJ, Griffiths E, Kelly M, Hood K, Craddock N, Simpson SA. Unrecognized bipolar disorder in primary care patients with depression. *Br J Psychiatry*. 2011; 199: 49-56.

20. Angst J, Adolfsson R, Benazzi F, Gamma A, Hantouche E, Meyer TD, et al. The HCL-32: towards a self-assessment tool for hypomanic symptoms in outpatients. *J Affect Disord.* 2005; 88: 217-33.
21. Ghaemi SN, Miller CJ, Berv DA, Klugman J, Rosenquist KJ, Ples RW. Sensitivity and specificity of a new bipolar spectrum diagnostic scale. *J Affect Disord.* 2005; 84: 273-7.
22. Angst J, Gamma A, Benazzi F, Ajdacic V, Eich D, Rössler W. Diagnostic issues in bipolar disorder. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13 Suppl 2:S43-50.
23. Bauer M, Whybrow PC, Angst J, Versiani M, Möller HJ. Diretrizes da World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) para tratamento biológico de transtornos depressivos unipolares, 1ª parte: tratamento agudo e de continuação do transtorno depressivo maior. *Rev. psiquiatr. clín.* 2009; 36(S2): 17-57.
24. Yatham LN, Kennedy SH, Parikh SV, Schaffer A, Beaulieu S, Alda M, O'Donovan C, Macqueen G, McIntyre RS, Sharma V, Ravindran A, Young LT, Milev R, Bond DJ, Frey BN, Goldstein BJ, Lafer B, Birmaher B, Ha K, Nolen WA, Berk M. Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) Collaborative Update of CANMAT Guidelines for the Management of Patients with Bipolar Disorder: Update 2013. *Bipolar Disord.* 2013; 15:1-44.
25. Frye MA, Prieto ML, Bobo WV, Kung S, Veldic M, Alarcon RD, Moore KM, Choi DS, Biernacka JM, Tye SJ. Current landscape, unmet needs, and future directions for treatment of bipolar Depression. *J Affect Disord.* 2014; 169 (S1): S17-S23.
26. McElroy SL, Kotwal R, Kaneria R, Keck PE Jr. Antidepressants and suicidal behavior in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2006; 8(5 Pt 2):596-617.
27. Mari JJ, Pitta JCN. *Psiquiatria por Melo de Casos Clínicos.* São Paulo: Editora Manole, 2010.
28. Sidor MM & MacQueen GM. An update on antidepressant use in bipolar depression. *Curr Psychiatry Rep.* 2012; 14 (6), 696-704.
29. Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry.* 2002; 7:254-75.
30. Gold PW, Chrousos GP. Melancholic and atypical subtypes of depression represent distinct pathophysiological entities: CRH, neural circuits, and the diathesis for anxiety and depression. *Mol Psychiatry.* 2013 Jun;18:632-4.
31. Juruena MF. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. *Epilepsy Behav.* 2014; 38C:148-59.
32. Owens MJ, Nemeroff CB. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem.* 1994; 40:288-95.
33. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res.* 2002; 53:865-71.
34. Akiskal HS, Benazzi F. Atypical depression: a variant of bipolar II or a bridge between unipolar and bipolar II? *J Affect Disord.* 2005; 84:209-17.
35. Benazzi F. Depression with DSM-IV atypical features: a marker for bipolar II disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2000;250:53-5.
36. Parker G. Classifying depression: should paradigms lost be regained? *Am J Psychiatry.* 2000; 157:1195-203.
37. Gaudiano BA, Young D, Chelminski I, Zimmerman M. Depressive symptom profiles and severity patterns in outpatients with psychotic vs nonpsychotic major depression. *Compr Psychiatry.* 2008; 49:421-9.
38. Juruena MF, Pariante CM, Papadopoulos AS, Poon L, Lightman S, Cleare AJ. The role of mineralocorticoid receptor function in treatment-resistant depression. *J Psychopharmacol.* 2013; 27:1169-79.
39. Harald B, Gordon P. Meta-review of depressive subtyping models. *J Affect Disord.* 2012; 39:126-40.
40. Shorter E. The doctrine of the two depressions in historical perspective. *Acta Psychiatr Scand.* 2007; 115:5-13.
41. Edvardsen J, Torgersen S, Røysamb E, Lygren S, Skre I, Onstad S, Øien PA. Unipolar depressive disorders have a common genotype. *J Affect Disord.* 2009; 117: 30-41.
42. Craddock N, Sklar P. Genetics of bipolar disorder. *Lancet.* 2013; 381(9878):1654-62.
43. Lichtenstein P, Yip BH, Björk C, Pawlitan Y, Cannon TD, Sullivan PF, Hultman CM. Common genetic determinants of schizophrenia and bipolar disorder in Swedish families: a population-based study. *Lancet.* 2009; 373(9659): 234-9.
44. Carr, CP, Martins CM, Stingel AM, Lemgruber VB, Juruena MF. The role of early life stress in adult psychiatric disorders: a systematic review according to childhood trauma subtypes. *J Nerv Ment Dis.* 2013; 201:1007-20.
45. Cohen P, Brown J, Smalles E. Child abuse and neglect and the development of mental disorders in the general population. *Dev Psychopathol.* 2001; 13:981-99.
46. Heim C, Newport DJ, Heit S, Graham YP, Wilcox M, Bonsall R, et al. Pituitary-Adrenal and Autonomic Responses to Stress in Women After Sexual and Physical Abuse in Childhood. *JAMA.* 2000; 284:592-7.
47. Heim C, Binder EB. Current research trends in early life stress and depression: review of human studies on sensitive periods, gene-environment interactions, and epigenetics. *Exp Neurol.* 2012; 233:102-11.
48. Mello MF, de Jesus Mari J, Bacaltchuk J, Verdelli H, Neugebauer R. A systematic review of research findings on the efficacy of interpersonal therapy for depressive disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2005; 255:75-82.

Early Life Stress in Depressive Patients: Role of Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptors and of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity

Mario Francisco Juruena^{1,2,*}, Cristiane Von Weme Baes¹, Itiana Castro Menezes¹ and Frederico Guilherme Graeff^{3,4}

¹Stress and Affective Disorders (SAD) Programme, Dept. Neurosciences and Behaviour, University of Sao Paulo (USP), Brazil; ²Centre for Affective Disorders, Psychological Medicine, King's College London, UK; ³INeC - Institute of Behavioral Neuroscience, Ribeirao Preto, Brazil; ⁴NAP-NuPNE - Neurobiology of Emotion Research Centre, USP

Abstract: Depression is a chronic, recurrent and long-term disorder characterized by high rates of impairment and several comorbidities. Early life stress (ELS) is associated with the increased risk for developing depression in adulthood, influencing its clinical course and predicts a poorer treatment outcome. Stressful life events play an important role in the pathogenesis of depression, being well established as acute triggers of psychiatric illness. The vulnerability for developing depression is associated to changes in neurobiological systems related to stress regulation. The hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis responds to external and internal stimuli. Reported results indicate that stress in early phases of development can induce persistent changes in the response of the HPA axis to stress in adulthood, leading to a raised susceptibility to depression. These abnormalities appear to be related to the HPA axis deregulation in depression, partially due to an imbalance between glucocorticoid receptors (GR) and mineralocorticoid receptors (MR). While most studies have consistently demonstrated that GR function is impaired in major depression (reduced GR-mediated feedback in HPA axis), data about the MR role in depression are still limited and controversial. Thus, in this review article we summarize the main reported findings about the consequences of ELS in HPA axis functioning and in the responsivity of MR/GR receptors in depression.

Keywords: Early life stress, Depression, Glucocorticoid receptor, Mineralocorticoid receptor, Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis.

INTRODUCTION

Depression is a chronic, recurrent and long-term disorder characterized by high rate of disabilities, as well as personal and financial losses. Currently available treatments of depression present limited efficiency. Although many scientific studies are being developed to better understand the factors involved in the etiology of depression, there still are many gaps that need to be investigated, mainly regarding on what traumatic events during childhood influence the development of depressive disorders in adult life.

Furthermore, considering that stress usually activates the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, it is fundamental to comprehend the impact of early life stress (ELS) in the functioning of HPA axis and in the responsivity of regulatory mineralocorticoid receptors (MR) and glucocorticoid receptors (GR) in depressive illness, for developing new diagnostic tools and therapeutic strategies.

EARLY LIFE STRESS

The concept of ELS encompasses a wide range of traumatic experiences during early childhood to adolescence, such as parental loss, divorce of parents, caregivers with psychiatric disorders, family violence, infant disease, absence of basic care, neglect, deprivation of adequate food and shelter and lack of moral support and encouragement [1-3].

Childhood maltreatment is a major social problem. It is a complex global phenomenon that can result in serious physical injury, and even death. Moreover, its psychological consequences can severely affect the child's mental health well into adulthood [4-5]. ELS is associated with a diverse range of psychiatric consequences. Children and adolescents exposed to ELS suffer serious consequences in their biopsychosocial constitution. The psychological

consequences may affect the child's mental health well into adulthood [6-7].

ELS affects the individuals' life as a whole, resulting in the physical and clinical outcomes as reported by Post *et al.* [8]. This important study shows the impact of adversity during childhood on the development of comorbidities in psychiatric patients, as well as in generating several medical conditions in patients diagnosed with bipolar disorder (BD), such as asthma, arthritis, allergies, chronic fatigue syndrome, chronic menstrual irregularities, fibromyalgia, head injury (with loss of consciousness), hypertension, hypotension, irritable bowel syndrome, and headaches. It also reviews neuroimaging results showing that ELS can cause several neurostructural changes, such as reduction of hippocampal and corpus callosum volume, which are correlated with deficits in cognitive functioning, thus raising the risk for mental disorder in adulthood [8].

Reported evidence shows that during early childhood and adolescence, important brain structures are formed, explaining why the negative consequences of traumatic events are lasting and can remain over the person's life [9, 10]. Child abuse and neglect may determine neurodevelopmental disruption and, depending on when they occur, can cause serious neurological "scars" in some structures, rendering some individuals vulnerable to certain types of psychopathology, especially depression, posttraumatic stress disorder (PTSD), and substance abuse [11, 12, 13]. Many epidemiological studies have documented significant associations between ELS and psychiatric disorders, such as mood and anxiety disorders, in adulthood [14-17]. These studies demonstrate that ELS may adversely affect the child's development, triggering severe and disabling psychiatric disorders in adult life [18, 20]. Approximately, one-quarter to one-third of abused children meet the criteria for major depression when they reach the end of second decade of life [21].

DEPRESSION

Major depressive disorder (MDD) is a chronic disease, with high recurrence rate, which is frequently associated with functional

*Address correspondence to this author at the Saude Mental (Mental Health) - USP, Av. T. Camo Rono, 2650, CEP: 14051-140, Ribeirao Preto, Sao Paulo- Brazil; Phone: +55 16 3602. 4614; Fax: +55 16 3602. 4504; E-mail: juruena@fmrp.usp.br

disability and impairment of physical health [22-24]. Depressive subjects have impaired daily activities and reduced feelings of well-being feeling; they also require of health services more frequently [25, 26]. The suicide rate among these patients ranges from 15 to 20% [27]. Despite its higher incidence in middle-aged population, this disorder may affect people at any age [28]. Depression in adulthood is related to a higher risk for developing cardiovascular disease, diabetes, metabolic disorders, and dementia [29, 30].

During the five-year period after the treatment of the first depressive episode, about 60% of patients will present a second depressive episode, and, in average, four depressive episodes during their lifetime [31]. Non-remitting depression was characterized by three main factors: anxiety, cognitive difficulties and sleep disturbance [32]. Also, with antidepressant medication, 30 to 50% of depressive subjects do not remit their depressive symptomatology [33]. Because of the high prevalence, recurrence rate of this disorder, and the limited efficacy of drug treatment, many researchers are trying to better understand the etiology and pathophysiology of depression, as well as looking for biological and psychosocial factors that predict treatment outcome.

The etiological factors for depression development arise from genetic and environmental sources. Although genetic determinants are important for depression development, reported data also show that environmental factors are relevant triggers of depressive episodes [34]. Some studies demonstrate that about 60% of depressive episodes are preceded by exposure to adverse life events. Therefore, stressful conditions play an important role in the pathogenesis of depressive disorders, and are well-established acute triggers of psychiatric illness in genetically predisposed individuals [34-36]. In regard to early stressors, the studies reviewed by Raabe & Spengler [37], indicate that exposure to ELS adversity in childhood gives rise to a vulnerable phenotype, which predisposes to disease upon a new exposure to trauma and stress during lifetime, in special to depression. However, not every individual exposed to ELS adversity will inevitably develop disease upon a new exposure to trauma and stress; also, not all adults with depression have experienced ELS.

Conditions of ELS, such child abuse, neglect or parental loss have been associated with significantly increased risk for developing depression in adulthood [11, 12, 38, 39], triplicating depression development in adulthood [40] and doubling depression recurrence [41]. Similar data were reported in a recent systematic review conducted by Martins et al. [39], revealing that the severity of ELS and its subtypes correlate with the severity of depression. Gibb et al. [18] have also specifically shown that emotional abuse increases depression symptoms in adulthood. Other studies suggest that an increase of suicidal ideation in adulthood occurs in depressed patients with ELS [14, 42, 43]. Some studies further indicate that ELS aggravates the clinical course of depression and predicts poorer treatment outcome [44, 45].

HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS

The HPA axis plays a fundamental role in the organism's response to external and internal stimuli, including psychological stressors [46]. Also, it is potentially involved in the pathophysiology of psychiatric disorders, particularly, in major depressive disorder (MDD) and in the mechanism of action of psychotherapeutic drugs. Depressive patients present impaired HPA axis balance, evidenced by altered concentrations of cortisol in blood and saliva. It is noteworthy the significant percentage of patients with MDD that exhibit increased concentrations of cortisol, exacerbated response to ACTH, and enlarged pituitary and adrenal glands [47-49].

However, it is necessary to emphasize that depression is a heterogeneous disorder that involves a wide range of subtypes (for example, melancholic, atypical, psychotic), with distinct characteristics in terms of symptomatology, neurobiology, and physiological and endocrine functioning [48, 50-52]. Thus, besides different clinical features and response to treatment, melancholic and atypical

cal depressive states seem also to differ in underlying pathophysiological mechanisms, and some authors have called attention to the important role of the HPA axis in the etiology of the distinct subtypes of depression [48-52].

The most consistent findings in the literature show increased activity of the HPA axis in melancholic depression evidenced by hypercortisolemia and reduced inhibitory feedback [47-53]. Chronos & Gold (50) suggest that melancholic depression would be characterized by excessive activation of both systems of physiological stress - locus coeruleus-noradrenergic system and HPA axis, resulting in noradrenergic and HPA axis hyperactivity, with increased cortisol production.

On the other hand, atypical depression has been associated to hypoactivity of the HPA axis, lower activity of corticotrophin releasing hormone (CRH), hypocortisolism, and decreased activity of afferent noradrenergic pathways [48-52, 56-59]. The diminished activity of CRH could be specifically linked to the hypoactivation symptoms (hypersomnia, hyperphagia, lethargy, fatigue and relative apathy) that are present in atypical depression [50].

Also, there are distinct degrees of efficacy for different treatments according to the subtype of depression. Besides clinical classification of depressive disorder subtypes, Parker *et al.* [61] suggest a functional and structural model which associates different neurotransmitter alterations to different depression subtypes. According to this model, atypical depression would be associated mainly to serotonin neurotransmission. On the other hand, in melancholic depression there would be, in addition to serotonin dysfunction, participation of norepinephrine alterations, which would be preponderant in this depression subtype [61, 62]. According to these authors, the clinical identification of MDD subtype could guide the choice of a more suitable antidepressant for each patient, taking into account the neurotransmission system involved in each case [62]. As well, several studies have associated melancholic depression to biological determinants and the atypical subtype to psychosocial determinants [63].

It is important to highlight that bipolar depression is often erroneously diagnosed in clinics as atypical unipolar depression. These patients present more frequent suicidal ideation than patients with unipolar depression [32, 64]. Considering the activity of HPA axis in patients with BD, Valiengo *et al.* [65] observed that when they were in the manic phase, they presented low cortisol levels in plasma, like subjects with atypical unipolar depression, compared to controls. However, in the same study, when patients with BD presented marked symptoms of irritability, they had higher cortisol levels, like the subjects with melancholic unipolar depression, compared to controls. Corroborating these data, Maripuu *et al.* [66] found low serum levels of cortisol in 70% of patients with BD, associated to a higher frequency of depression, worst quality of life, and impairment in global functioning.

Thus, in addition to the clinical characteristics and the distinct responses to treatment, several evidences show differences in the activity of the HPA axis. The key problem in diagnosis is that present psychiatric classification systems are based only on the subjective descriptions of symptoms. Although the detailed phenomenology includes the description of multiple clinical expressions, there is no accepted biological feature that separates different subtypes of depressive disorder. It is known that different depressive disorders can show similar clinical manifestations, and that the same type of disorder can manifest different ways for each case [67]. A research approach that describes reliable neurobiological findings for a given psychopathological syndrome would be an advance compared to a non-etiological classification system. When the diagnostic criteria will be able to include etiology and pathophysiology as essential elements for to a diagnostic decision-making, psychiatry will get closer to other medical specialties [67, 68].

Because HPA axis is activated in response to most stressors, ELS may also have an etiologically significant role on the axis abnormalities found in depression. Increasing evidence indicates that childhood neglect and abuse are risk factors for adult onset of depression [69]. It has been concluded from these studies that ELS may lead to disruptions in HPA axis functioning, and that factors such as the age when the maltreatment occurred, parental responsiveness, subsequent exposure to stressors, type of ELS, and type of psychopathology or behavioral disturbance displayed, may influence the degree and pattern of HPA disturbance [69, 70].

In this sense, several reported results indicate that stress in early phases of development can induce persistent changes in the ability of HPA axis to respond to stress in the adult life, what can lead to increased susceptibility to depression [67-71]. Although there are few available studies about this issue, there seems to be a consensus on the concept that ELS is associated with alterations of the HPA axis in the early stages of life, leading to a biological vulnerability for developing depression in adulthood [71-74]. Recently, we have published a study with depressed patients divided into two groups. The first one included subjects with ELS and the second group included subjects without ELS [75]. We found a highly positive correlation between plasmatic cortisol levels and the severity of ELS ($r=0.66$; $p=0.01$), that is, the higher the severity of ELS, the higher is the plasmatic cortisol levels. In addition to this, no correlation was found between these two measures in patients without ELS ($r=-0.54$; $p=0.20$) and in controls ($r=0.48$; $p=0.16$). See Fig. 1.

Reported evidence indicates that several kinds of ELS combined with certain genetic backgrounds result in hypersensitization of some brain circuits to acute stressors. Consequently, when lasting changes in reactivity of the HPA axis happen, this results in unbalanced modulation of this axis [48, 74, 76]. Still, Chen *et al.* [77] observed, in animal experiments, that CRH may play a relevant role for mediating the effects of ELS. They administered CRH into the lateral ventricle of immature rats, triggering a stress response. The result was a long-term, progressive hippocampal dysfunction, cell loss, reproducing the effects of ELS [78]. However, despite strong reported evidence suggesting that ELS is associated with abnormalities in HPA axis and depression, there is no clear consensus on whether the ELS renders the HPA either hyper or hypoactive [74].

One of the mechanisms thought to be involved in these abnormalities is the impaired feedback inhibition of the HPA axis by circulating glucocorticoids [79]. In stressful situations, the human body starts a cascade of events in the HPA axis - CRH is released by the hypothalamus, triggering adrenocorticotrophic hormone

(ACTH) release by the pituitary, which, finally, stimulates the release of cortisol into the bloodstream by the adrenal cortex. Cortisol, to start its action, needs to bind to its intracellular receptors - two distinct subtypes: type I or mineralocorticoid receptor (MR) and type II or glucocorticoid receptor (GR) [68, 80-82]. MR and GR differ about cortisol affinity and the distribution throughout the brain. GR is distributed all over the brain, presenting lower affinity for cortisol it binds to this hormone when its serum levels are high, as in challenging or stressful situations. One of the GR functions is to balance the effects induced by stress [68, 80, 83]. MR has a higher affinity for cortisol, and occurs mainly in limbic brain structures, both cortical and subcortical. In this sense, even in basal condition, when circadian cortisol levels are low, the feedback made by cortisol is mediated mainly by MR located in the hippocampus [84]. MR act in stabilization of excitability, stress sensitivity, as a pro-active feedback and for selection of behavioral responses [68, 84-86]. Another function of MR is GR-dependent regulation [87]. Under stressful situations, hippocampal, hypothalamic and pituitary GRs start binding to cortisol [68, 84, 85]. When cortisol binds to MR and GR, it acts to suppress the increased excitability, to recover from the stress-induced activation, and to start the reactive feedback and the facilitation of mnemonic formation [68]. The appropriate balance between MR and GR functioning is extremely important to a balanced HPA axis functioning [68, 84], such that in depression the cortisol feedback can be either increased or decreased, rendering the HPA axis respectively hypo- or hyperactive [79]. See Table 1.

Considering the link between impaired feedback inhibition of cortisol, unbalance of HPA axis and depression, several studies carried out along the 1970's and 1980's introduced some hormonal tests and challenges with GR and MR agonists and antagonists, for exploring these relationships.

GLUCOCORTICOID RECEPTOR

Most of the data about GR functioning came from dexamethasone suppression test (DST), the first challenge test to be developed, becoming a widely used research tool for the assessment of HPA function in depression during the 1980s. Carroll *et al.* [88] observed that severely depressed patients had non-suppression in DST. Likewise, Galard *et al.* [89] compared depressed patients to controls and found increased plasmatic and salivary cortisol, and increased plasmatic ACTH in depressed patients in the DST. Contreras *et al.* [90], also with DST test, observed higher levels of cortisol in patients with psychotic depression, and a trend of the psychotic group to have a higher rate of non-suppression compared to the non-psychotic group. They assessed the presence of psychotic

Fig. (1). Positive correlation between plasma cortisol level and the severity of early life stress (ELS) assessed by the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) in depressed patients with ELS. Note: $n=13$; $r=0.66$; $p=0.01$. Adapted from [75].

Table 1. Mineralocorticoid (MR) and Glucocorticoid (GR) Receptors according to their characteristics and attributions.

	MR	GR
INTERPRETATION OF ENVIRONMENTAL EXPOSURE	Basal	Stressful
PLASMA CORTISOL LEVEL	Lower	Moderate to higher
CORTISOL AFFINITY	Higher ($K_D \approx 0.5$ nM)	Lower ($K_D \approx 5.0$ nM)
LOCATION OF CORTISOL RECEPTORS IN THE BRAIN	Diffuse	Limbic system, and cortical and subcortical brain structures
FUNCTIONS	Stabilization of excitability; response system sensitive to stress; proactive feedback; selection of behavioral response; attention.	Suppression of increased excitability; recovery from stress-induced activation; reactive stress; facilitation of memory storage.
AGONISTS	Aldosterone, fludrocortisone	RU26752, spironolactone
ANTAGONISTS	Dexamethasone, RU28362	RU 38486

symptoms only in melancholic depression [90]. Although DST was widely used in initial studies, it has limited use in clinical routine and in research because of its low sensitivity (20% - 50%) [91, 92]. Also, dexamethasone's pharmacokinetic and pharmacodynamic features are distinct from those of cortisol, since dexamethasone binds preferentially to GR, unlike cortisol that presents a higher affinity for MR [93]. About ten years after DST, [94] a more sensitive neuroendocrine functional test has been developed to detect HPA axis imbalance. This test combines DST with CRH stimulation - as a consequence it is named the Dex/CRH challenge test. It involves oral administration of a single 1.5 mg dose of dexamethasone (DEX) at 11 P. M., followed by, in the next day, at 3 P. M., an intravenous bolus of 100 µg CRH. Administration of supra-physiological doses of CRH elicits ACTH blunted response in depressives, while DEX pre-treatment produces the opposite effect and, paradoxically, enhances ACTH release following CRH. Similarly, CRH-induced cortisol release is much higher in DEX pre-treated patients than in patients treated with CRH challenge, alone. Dexamethasone, due to its low binding affinity to corticosteroid-binding-globulin (CBG) and its decreased access to the brain, acts primarily in the pituitary to suppress ACTH. The subsequent decrease of cortisol and the failure of DEX, to compensate the decreased cortisol levels in the nervous tissue, create a situation sensed by central regulatory elements of the HPA system as a partial and transient adrenalectomy. Thus, there is an increase in secretion of central neuropeptides - mainly CRH and vasopressin (AVP), which are capable of activating ACTH secretion [95]. In healthy individuals, cortisol secretion after DEX remains suppressed after the injection of CRH, unlike depressed patients, which demonstrate elevated cortisol concentrations in response to this test, probably, as a result of reduced GR sensitivity that attenuates the suppressive effects of dexamethasone at the pituitary. This failure in the inhibition of CRH and AVP secretion by the hypothalamus enhances the stimulatory effects of the exogenous CRH in Dex/CRH test [96, 97].

Several studies have used Dex/CRH challenge test to assess HPA axis to better understand the pathophysiology of suicidal behavior in depressed patients. Nevertheless, these data are still controversial. Kunugi et al. [98] found a trend towards higher cortisol and ACTH levels in depressed patients that had attempted suicide, while Pfening et al. [99] observed a trend to the opposite direction, that is, to lower levels of cortisol and ACTH in the test. Moreover, one of the most consistent findings in the literature related to Dex/CRH test is the association between persistent HPA hyperactivity and higher rates of relapse. Zobel et al. [97] have

described a cohort of patients undergoing Dex/CRH test on two different moments - after starting the first antidepressant treatment and a few days before the discharge. The authors found that those patients who had an increase in cortisol levels after Dex/CRH test between admission and discharge tended to relapse during the follow-up period, whilst those who showed a decrease in post-Dex/CRH cortisol levels tended to remain clinically stable in the follow-up period. Although Heuser et al. [96] reported that the sensitivity of this test is above 80%, depending on age and gender, the findings of HPA axis hyperactivity in the test have not been consistently confirmed in a series of other studies that investigated different subtypes of depression. Nevertheless, Dex/CRH test remains limited by the feature of dexamethasone pharmacokinetics and the lack of MR receptor activity assessment.

Recently, a suppressive test using another synthetic glucocorticoid, prednisolone, has been developed by Pariente et al. [93]. The prednisolone test (PST) also assesses MR. Prednisolone is a synthetic glucocorticoid similar to cortisol concerning its pharmacokinetics and pharmacodynamics features. In particular, its capacity of binding to MR as well as its half-life are similar to those of cortisol. However, the most important of these similarities is that prednisolone and cortisol are similar in their abilities to bind and activate MR as much as GR, especially when compared to dexamethasone [86, 93]. In studies examining human GR, prednisolone showed an affinity two-fold higher than that of cortisol, while dexamethasone has an affinity seven fold higher than that of cortisol [100]. When used in laboratory assays with human brain tissue, cortisol [101]. Ballard et al. [101] examined mice GR, prednisolone presented the same relative potency as corticosterone to activate GR, while dexamethasone presented four-fold higher relative potency than that of corticosterone. Current evidence suggests that PST, in contrast to DST and Dex/CRH test, probes both MR and GR, and, hence, provides a better physiological measure of suppression [93]. See Fig. 2.

In three studies using PST, Juruena et al. [102-104] showed that patients with depression have marked hypercortisolism both before and after administration of prednisolone, but a similar percentage of suppression of salivary cortisol when compared to healthy controls. These data suggest that in patients with severe depression, the HPA axis activity is reset at a higher level, although feedback remains intact. Also, compared patients with a control group in both DST and PST [104]. After DST, depressed patients showed a weaker suppression than controls, however, these same patients who are resistant to dexamethasone, showed normal suppression after prednisolone; in other words, the same degree as shown by the control group. Furthermore, in controls, there was a correlation between suppression by prednisolone and suppression by dexamethasone,

Fig. (2). Selectivity of steroids regarding MR and GR. GR potency increases from left to right, and MR potency increases from bottom to top. The diagonal line separates typical gluco- from mineralocorticoids. Selectivity increases with the perpendicular distance from that line: to the bottom right for glucocorticoids, to the top left for mineralocorticoids. Prednisolone lies close to cortisol in this scheme, unlike dexamethasone. Adapted from Gromsman *et al.*, 2004.

indicating that GR and MR are equally sensitive. In contrast, no such correlation was present in depressed patients, confirming the dissociation between sensitivity to prednisolone and resistance to dexamethasone in depression. These data suggest the presence of a selective impairment of GR sensitivity, while MR sensitivity is maintained.

Regarding the studies that used neuroendocrine tests to investigate the relation between ELS and depression, they presented inconsistent results, and most part of them were restricted to assessment of GR by DST and Dex/CRH test [70, 73, 105-108].

The studies with Dex/CRH test are controversial. While some studies found lower levels of plasmatic cortisol and increased GR activity in individuals with ELS [70, 73, 108], others showed non-suppression by Dex/CRH test [106, 107]. Although the results are divergent, there seems to be an agreement about the association between abnormalities in GR activity in response to the Dex/CRH test in patients with ELS, suggesting decreased of GR activity in these patients. According to Tyrka *et al.* [107], individuals who experienced prolonged separations, abandonment or death of parents during childhood, also present increased cortisol response to Dex/CRH alterations. An association between HPA axis activity in individuals with ELS and psychiatric disorders in adulthood has been suggested by Heim *et al.* [105]. The results of this study indicate that men with a history of childhood trauma exhibited increases in ACTH and cortisol responses to Dex/CRH compared to non-abused men. In particular, abused men with current depression showed increased responsiveness, compared to control subjects and depressed men without childhood abuse experience. Increased response was associated with the severity, duration, and earlier onset of the abuse. Thus, these authors suggest that stressful events early in life can have a significant etiologic role in the HPA abnormalities found in people with psychiatric disorders [105]. About some studies that used DST, data are also controversial. Vreeburg *et al.* [109] found no influence of ELS on the HPA axis response to DST in

depressed patients, while Newport *et al.* [105] found lower levels of cortisol and ACTH, and increased GR activity in women with depression and ELS. The effect of ELS on the HPA axis was also assessed by Jurkena *et al.* [102,104] in two studies using PST. The study from 2006 assessed the HPA axis using both DST and PST, while the 2009 study only PST was used. They didn't show any significant difference in the capacity of suppressing cortisol after prednisolone when comparing depressed patients with and without ELS.

To better investigate the connection between depression and GR, some researchers have used genetic and molecular tools to assess GR and related polymorphisms. NR3C1 is the exon 1F of human GR gene (NR3C1). Many polymorphisms of this gene alters GR function and have been studied in relation to depression and other psychiatric disorders. The GR single nucleotide polymorphism (SNP) rs10052957 has been associated with abnormal DST results [110-112]. Oberlander *et al.* [113] observed the relationship between prenatal exposed to maternal altered behavior, consequence of mood disorder and the methylation status of a CpG-rich region in the promoter and in NR3C1 in newborns, which were examined when they were three-months old. The results suggest that due the increased NR3C1 methylation at this site and the increased salivary cortisol stress, the newborn is sensitive to prenatal maternal mood and to a potential epigenetic process that links antenatal maternal mood and altered HPA stress reactivity during infancy. Still, ELS is associated with long-term effects on behavior and epigenetic programming of NR3C1 gene in human and in murine hippocampus. McGowan *et al.* [114] studied the epigenetic regulation of GR in the human brain associated with childhood abuse. They observed DNA methylation profiles spanning 6.5 million base pairs centered at the NR3C1 gene in the hippocampus of whom experienced abuse as children and non-abused controls, also comparing these data to DNA methylation profiles in rats that received differential levels of maternal care. The obtained results

support the concept of an analogous cross-species epigenetic regulatory response at the level of the genomic region to ELS.

GR can also have its activity or expression compromised by the presence of polymorphisms in a gene called in a co-chaperone immunophilin FK506 binding protein 5 (FKBP5) - gene product forms part of a complex with GR and can modulate cortisol-binding affinity [115, 116]. GR is regulated by FKBP5. Supriyanto *et al.* [116] observed that haplotypes in FKBP5 gene are associated with completed suicide in Japanese population. Corroborating with these data, White *et al.* [117] observed the relationship of haplotypes with risk alleles. There, they observed increased amygdala reactivity in the context of higher emotional neglect, one of the ELS subtypes, suggesting that increased threat-related amygdala reactivity may represent a mechanism linking psychopathology to interactions between common genetic variants affecting HPA axis function and childhood trauma. Yet, considering that variations in FKBP5 have been associated with increased recurrence of depression and with rapid response to antidepressant treatment, Willour *et al.* [115] decided to determine whether common FKBP5 variants confer risk for BD. They found that genetic variation within FKBP5 may influence attempted suicide and number of depressive episodes in bipolar subjects.

MINERALOCORTICOID RECEPTOR

Several studies have documented the importance of MR in stress regulation [87, 118]. In this context, some studies have used MR agonists and antagonists to assess their function in healthy subjects. Otte *et al.* [119] and Buckley *et al.* [120] evaluated the effect of one MR agonist, fludrocortisone, in nocturnal activity of the HPA axis in healthy subjects. They found that fludrocortisone decreased average cortisol levels, causing inhibition of MR nocturnal activity. Assessing MR function in the HPA axis by administering spironolactone (MR antagonist), many studies observed a significant increase in cortisol concentrations [83, 100, 121, 122]. Therefore, these studies suggest an important role of MR in HPA axis regulation, showing significant clinical implications for better understanding depression.

Reported data about the role of MR in depression are still controversial. While some studies showed increased MR activity in depression, others showed reduced MR function. For example, Wang *et al.* [123] found MR gene expression upregulated in the hypothalamus of depressed patients, while Yau *et al.* [124] observed MR downregulated in subjects' hippocampus in response to antidepressants, suggesting that blocking MR might be promising from a therapeutic perspective. Otherwise, there are also studies showing that depressed suicide victims have decreased production of hippocampal MR mRNA compared to healthy controls [125].

Some studies have been published using challenges that assess, preferentially, MR function in depression. They used fludrocortisone (MR agonist) or spironolactone (MR antagonist). These studies are still scarce and reveal unclear results. Spironolactone is able to activate the HPA axis, blocking the feedback mediated by MR. Young *et al.* [126] observed significant increase of cortisol levels in patients treated with spironolactone. These authors suggest that MR activity is increased in patients with depression compared to controls, and that depression is accompanied by a shift of balance between GR and MR [126]. Thus, recently, we have published a study using dexamethasone and fludrocortisone to better understand MR and GR status in depression [75]. Our results demonstrate that depressed patients showed significantly lower cortisol awakening responses (CAR) after fludrocortisone, but not after dexamethasone, compared to healthy controls. These data suggest that depressed patients have higher suppression of the HPA axis in response to a MR agonist (fludrocortisone), but a similar suppression in response to a GR agonist (dexamethasone), compared to healthy subjects. Thus, our findings also indicate the possible existence of

an imbalance between GR and MR, with increased MR activity in depressed patients compared to controls [75].

On the other hand, Otte *et al.* [127] examined the response to antidepressants through stimulation and blockade of MR. They found decreased plasmatic cortisol levels in depressed patients treated with fludrocortisone, in addition to escitalopram. Fludrocortisone stimulated MR, accelerating the therapeutic response to escitalopram and increasing plasmatic cortisol levels [127]. Lemke *et al.* [128] showed that individuals with psychotic major depression compared to healthy control subjects have diminished HPA axis feedback in response to fludrocortisone (MR agonist). Therefore, these findings suggest that dysregulation of HPA axis in depression is partially attributable to the imbalance between GR and MR, pointing to MR as a promising approach to improve antidepressant treatment [128]. Recently, Jurruena *et al.* [84] observed the effects of prednisolone (GR/MR agonist), prednisolone combined with spironolactone (MR antagonist), and spironolactone, comparing patients with treatment-resistant depression to healthy controls. Treatment-resistant depression patients had higher cortisol compared to controls after all challenges. Controls presented increased cortisol after ingesting spironolactone compared to placebo, and the co-administration of spironolactone and prednisolone decreased the suppressive effect of prednisolone. In contrast, in treatment-resistant depression, spironolactone did not increase cortisol levels when compared to placebo, and the co-administration of spironolactone and prednisolone had no effect on the suppressive effect of prednisolone. These results showed that treatment-resistant depression patients had higher cortisol and these patients no longer showed an adequate HPA axis response to a MR antagonist, indicating impairment of MR, such as down-regulation [84]. See the main results of MR activity with challenges using fludrocortisone (MR agonist) or spironolactone (MR antagonist) in depressive patients summarized in Table 2.

Despite the relevance of ELS in MR function of depressive patients assessed through MR agonist and antagonist challenges, few studies data about this issue have so far been performed. To our knowledge, we were the first research group that published a study probing the HPA axis response to MR stimulation in depressive patients with and without ELS [75]. Our findings indicate that patients with ELS show suppression of salivary cortisol levels after fludrocortisone (MR agonist) and dexamethasone (GR agonist). That is, patients with ELS are equally sensitive to both GR and MR. On the other hand, in depressed patients without ELS and in controls, such suppression after fludrocortisone administration was not found. Patients without ELS and controls showed only suppression by dexamethasone. Our data indicate differences in HPA axis functioning between depressed patients with and without ELS, suggesting the former to be more sensitive to a MR agonist than the latter. Thus, these findings suggest that ELS contributed to the impairing of MR function.

MR polymorphisms have been studied, and their association HPA axis function, depressive disorders and stress profiles. The most currently studied MR polymorphisms are located in the exon 2 of MR gene (Nr3c2): rs5522 (MRI180V) and rs2070951 (-2G/C). These two polymorphisms have been associated to a higher frequency of depressive symptoms in elderly [129], to neurotic disorders in depressive adults [130], and to differences in the CAR, depending on dexamethasone treatment or on the interaction with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) [131, 132]. In healthy subjects, these two single nucleotide polymorphisms (SNPs) were related to differential neuroendocrine and sympathetic responses to psychological stressors [110, 112, 131-133]. Finally, Klok *et al.* [132] examined MR haplotypes protection against depression, and observed that functional SNPs in exon 2 are linked to SNPs in MR promoter region, which potentially influence MR transcription and its dynamic expression, enhancing resilience to depression, particularly in women.

Table 2. Summary of the main results of the literature about the MR activity with challenges using fludrocortisone (MR agonist) or spironolactone (MR antagonist) in depressive patients

AUTOR/YEAR	SAMPLE	CHALLENGES	RESULTS
Baes <i>et al.</i> , 2014	n= 20 depressive patients n= 10 healthy controls	Fludrocortisone	↑ MR activity
Lembke <i>et al.</i> , 2013	n= 14 Psychotic major depression patients n= 16 non-psychotic major depression patients n= 19 healthy controls	Fludrocortisone	↓ MR activity
Otte <i>et al.</i> , 2010	n= 64 depressive patients	Fludrocortisone Spironolactone	↓ MR activity
Juruena <i>et al.</i> , 2013	n= 12 treatment-resistant depression patients n= 12 healthy controls	Spironolactone	↓ MR activity
Young <i>et al.</i> , 2003	n= 12 depressive patients n= 12 healthy controls	Spironolactone	↑ MR activity

CONCLUSION

Overall, the reviewed evidence supports the hypothesis that an imbalance in MR and GR functioning may be a risk factor for depression. Moreover, results from studies examining the relationship between ELS and HPA axis indicate that ELS, in combination with genetic background, seems to sensitize certain circuits in the brain and lead to persistent alterations in reactivity and sensitization of the HPA axis to subsequent stress, reflected in an altered MR/GR balance, which contributes to the risk for depression.

However, in the investigation of ELS and depression, most studies used tests for assessing the HPA axis preferentially assessing GR. Thus, the role of MR in regulating the inhibitory feedback in HPA axis and the changes that ELS generates on it need further elucidation. In particular, probes that assess functioning of both GR and MR should be used.

A better understanding of the mechanisms by which exposure to ELS leads to HPA impairment and vulnerability to depression will allow for the new approaches to early intervention, including, among others, targeted pharmacologic and psychoeducational strategies. Future studies should approach risk factors for depression from different levels of theoretical integration taking into full account the environment versus gene interaction.

CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

Declared none.

REFERENCES

- Zavaschi MLS, Graeff ME, Menegassi MT, *et al.* Adult mood disorders and childhood psychological trauma. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2006; 28(3): 184-90.
- Bernstein DP, Stein JA, Newcomb MD, *et al.* Development and validation of a brief screening version of the childhood trauma questionnaire. *Child Abuse Negl* 2003; 27(2): 169-90.
- Carr CP, Martins CMS, Stingel AM, *et al.* The Role of Early Life Stress in Adult Psychiatric Disorders: A Systematic Review According to Childhood Trauma Subtypes. *J Mental Disorders* 2013; 201(12): 1007-20.
- Friedrich W: Behavioral manifestations of child sexual abuse. *Child Abuse and Neglect* 1998; 22(6): 523-31.
- Cruz DMC, Silva JT, Alves HC: Evidências sobre violência e deficiência: implicações para futuras pesquisas. *Rev. bras. educ. espec.* [online] 2007; 13(1): 131-46.
- Aded NLO, Silva DBLG, Moraes TM, *et al.* Sexual abuse in children and adolescents: review of 100 years of literature. *Rev Psiquiatr Clin* 2006; 33(4): 204-13.
- Brewerton TD: Eating disorders, trauma, and comorbidity: focus on PTSD. *Eat Disord* 2007; 15(4): 285-304.
- Post RM, Althuler LL, Leverich GS, *et al.* Role of childhood adversity in the development of medical co-morbidities associated with bipolar disorder. *J Affective Disorders* 2013; 147: 288-94.
- Disorders (2013)
- Teicher MH: Wounds that do not heal: the neurobiology of child abuse. *Cerebrum: Dana Foundation Brain Sci* 2000; 2(4).
- Valente NLM: Genética e Epigenética do Trauma. In: Fiks P, Mello MFde. *Transtorno de estresse pós-traumático: Violência, medo e trauma no Brasil*. São Paulo: Atheneu 2007; 65-76.
- Heim C, Newport DJ, Heit S, *et al.* Pituitary-Adrenal and Autonomic Responses to Stress in Women After Sexual and Physical Abuse in Childhood. *JAMA* 2000; 284(5): 592-7.
- Cohen P, Brown J, Smailes E: Child abuse and neglect and the development of mental disorders in the general population. *Development Psychopathol* 2001; 13: 981-99.
- Tofoli SMC, Baes CVW, Martins CMS, *et al.* Early life stress, HPA axis, and depression. *Psychol Neurosci* 2011; 4(2): 229-34.
- Mullen PE, Martin JL, Anderson JC, *et al.* The long-term impact of the physical, emotional, and sexual abuse of children: a community study. *Child Abuse Negl* 1996; 20(1): 7-21.
- Kessler RC, Davis CG, Kendler KS: Childhood adversity and adult psychiatric disorder in the US National Comorbidity Survey. *Psychol Med* 1997; 27(5): 1101-19.
- Edwards VJ, Holden GW, Felitti VJ, *et al.* Relationship between multiple forms of childhood maltreatment and adult mental health in community respondents. *Am J Psychiatry* 2003; 160(8): 1453-60.
- Collishaw S, Pickles A, Messer J, *et al.* Resilience to adult psychopathology following childhood maltreatment: evidence from a community sample. *Child Abuse Negl* 2007; 31(3): 211-29.
- Gibb BE, Butler AC, Beck JS: Childhood abuse, depression, and anxiety in adult psychiatric outpatients. *Depression Anxiety* 2003; 17: 226-8.
- Benjet C, Borges G, Medina-Mora ME: Chronic childhood adversity and onset of psychopathology during three life stages: Childhood, adolescence and adulthood. *J Psychiatric Res* 2010; 44: 732-40.
- McLaughlin KA, Green JG, Gruber MJ, *et al.* Childhood adversities and adult psychiatric disorders in the National Comorbidity Survey Replication associations with persistence of DSM-IV disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67(2): 113-23.

- [21] Mello AF, Jurueña MF, Pariente CM, et al. Depression and stress: is there an endophenotype? *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2007; 29: 14-9.
- [22] Ramana R, Paykel ES, Cooper Z, et al. Remission and relapse in major depression: a two-year prospective follow-up study. *Psychol Med* 1995; 25: 1161-70.
- [23] Kanai T, Takeuchi H, Furukawa TA, et al. Time to recurrence after recovery from major depressive episodes and its predictors. *Psychological Med* 2003; 33: 839-45.
- [24] Fleck M, Berlim M, Lafer B, et al. Revision of the guidelines of the Brazilian Medical Association for the treatment of depression (Complete version). *Rev Bras Psiquiatr* 2009; 31(S1): 7-17.
- [25] Broadhead WE, Blazer DG, George LK, et al. Depression, disability days, and days lost from work in a prospective epidemiologic survey. *JAMA* 1990; 264(19): 2524-8.
- [26] Katon WJ. Clinical and health services relationships between major depression, depressive symptoms, and general medical illness. *Biol Psychiatry* 2003; 54(3): 216-26.
- [27] Goodwin FK, Jamison KR. Manic-depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression. 2nd ed. New York: Oxford University Press 1990.
- [28] Lewinsohn P. The coping with depression course: review and future directions. *Can J Behav Sci* 1989; (21): 470-93.
- [29] Moussavi S, Chatterji S, Verdes E, et al. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet* 2007; 370(9590): 851-8.
- [30] Danese A, Moffitt TE, Harrington H, et al. Adverse childhood experiences and adult risk factors for age-related disease: depression, inflammation, and clustering of metabolic risk markers. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009; 163(12): 1135-43.
- [31] Kupfer DJ. Long-term treatment of depression. *J Clin Psychiatry* 1991; 52(S28-34).
- [32] Wooderson SC, Fekadu A, Markopoulou K, et al. Long-term symptomatic and functional outcome following an intensive inpatient multidisciplinary intervention for treatment-resistant affective disorders. *J Affective Disorders* 2014; 166: 334-42.
- [33] Rozenthal M, Laks J, Engelhardt E. Aspectos neuropsicológicos da depressão. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul* 2004; 26: 204-12.
- [34] Post RM. Transduction of psychosocial stress into the neurobiology of recurrent affective disorder. *Am J Psychiatry* 1992; 149(8): 999-1010.
- [35] Post RM, Ketter TA, Speer AM, et al. Predictive validity of the sensitization and kindling hypotheses. In: Soares JC, Gershon S, editors. *Bipolar Disorders: Basic Mechanisms and therapeutic Implications*. New York: Marcel Dekker 2000; p: 387-432.
- [36] Kendler KS, Sheth K, Gardner CO, et al. Childhood parental loss and risk for first-onset of major depression and alcohol dependence: the time-decay of risk and sex differences. *Psychol Med* 2002; 32(7): 1187-94.
- [37] Raabe FJ, Spengler D. Epigenetic Risk Factors in PTSD and Depression. *Front Psychiatry* 2013; 4: 80 eCollection.
- [38] Fergusson DM, Swain-Campbell NR, Horwood LJ. Does sexual violence contribute to elevated rates of anxiety and depression in females? *Psychol Med* 2002; 32(6): 991-6.
- [39] Martins CMS, Tofoli SMC, Baes, CVW, et al. Analysis of the occurrence of early life stress in adult psychiatric patients: a systematic review. *Psychol Neurosci* 2011; 4: 219-27.
- [40] Wise LA, Zierler S, Krieger N, et al. Adult onset of major depressive disorder in relation to early life violent victimization: a case-control study. *Lancet* 2001; 358(9285): 881-7.
- [41] Nani V, Uher R, Danese A. Childhood Maltreatment Predicts Unfavorable Course of Illness and Treatment Outcome in Depression: A Meta-Analysis. *Am J Psychiatry* 2012; 169(2): 141-51.
- [42] Briere J, Runtz M. Multivariate correlates of childhood psychological and physical maltreatment among university women. *Child Abuse Neglect* 1988; 12: 331-41.
- [43] Tunnaard C, Rane LJ, Wooderson SHC, et al. The impact of childhood adversity on suicidality and clinical course in treatment-resistant depression. *J Affective Disorders* 2014; 122-30: 152-4.
- [44] Nemeroff CB, Heim CM, Thase ME, et al. Differential responses to psychotherapy versus pharmacotherapy in patients with chronic forms of major depression and childhood trauma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(24): 14293-6. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(45): 16530.
- [45] Miniati M, Rucci P, Benvenuti A, et al. Clinical characteristics and treatment outcome of depression in patients with and without a history of emotional and physical abuse. *J Psychiatric Res* 2010; 44(5): 302-9.
- [46] Nemeroff CB. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry* 1996; 1(4): 336.
- [47] Parker KJ, Schatzberg AF, Lyons DM. Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. *Hormones Behavior* 2003; 43: 60-6.
- [48] Jurueña MF, Cleare AJ, Pariente CM. The Hypothalamic Pituitary Adrenal axis, Glucocorticoid receptor function and relevance to depression. *Rev Bras Psiquiatr* [online] 2004; 26(3): 189-201.
- [49] Carroll BJ, Cassidy F, Nafholowitz D, et al. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand* 2007; 115(Suppl. 433): 90-103.
- [50] Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry* 2002; 7: 254-75.
- [51] Jurueña MF, Cleare AJ. Overlap between atypical depression, seasonal affective disorder and chronic fatigue syndrome. *Rev Bras Psiquiatr* 2007; 29 (s. 1): s19-27.
- [52] Jurueña MF, Calil HM, Fleck MP, et al. Melancholia in Latin American studies: a distinct mood disorder for the ICD-11. *Revista Brasileira de Psiquiatria* 2011; 31(S37-58).
- [53] Paslakis G, Krumma B, Gilles M, et al. Discrimination between patients with melancholic depression and healthy controls: Comparison between 24-h cortisol profiles, the DST and the Des/CRH test. *Psychoneuroendocrinology* 2011; 36: 691-8.
- [54] Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 1992; 267(9): 1244-52.
- [55] Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002; 53(4): 865-71.
- [56] Posternak MA. Biological markers of atypical depression. *Harv Rev Psychiatry* 2003; 11: 1-7.
- [57] Antonijevic IA. Depressive disorders is it time to endorse different pathophysiological? *Psychoneuroendocrinol* 2006; 31: 1-15.
- [58] Stetler C, Miller GE. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med* 2011; 73: 114-26.
- [59] O'Keane V, Frodl T, Dinan TG. A review of Atypical depression in relation to the course of depression and changes in HPA axis organization. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 377: 1589-99.
- [60] Gold PW, Chrousos GP. The endocrinology of melancholic and atypical depression: relation to neurocircuitry and somatic consequences. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111(1): 22-34.
- [61] Parker G. Classifying depression: should paradigms lost be regained? *Am J Psychiatry* 2000; 157: 1195-203.
- [62] Malhi GS, Parker GB, Greenwood J. Structural and functional models of depression: from sub-types to substrates. *Acta Psychiatr Scand* 2005; 111(2): 94-105.
- [63] Leventhal AM, Rehm LP. The empirical status of melancholia: implications for psychology. *Clin Psychol Rev* 2005; 25(1): 25-44.
- [64] Wooderson SC, Jurueña MF, Fekadu A, et al. Prospective evaluation of specialist inpatient treatment for refractory affective disorders. *J Affective Disorders* (Print) 2011; 131: 92-103.
- [65] Valiengo LL, Soeiro-de-Souza MG, Marques AH, et al. Plasma cortisol in first-episode drug-naïve mania: differential levels in euphoric versus irritable mood. *J Affective Disorders* 2012; 138(1-2): 149-52.
- [66] Maripuu M, Wikgren M, Karling P, et al. Relative hypo- and hypercortisolism are both associated with depression and lower quality of life in bipolar disorder: a cross-sectional study. *PLoS One* 2014; 9(6): e98682.
- [67] Jurueña MF. "An integrative science approach: neuroscience in the DSM-5 and ICD-11." *Acta Neuropsychiatrica* 2011; 23(4): 143-4.
- [68] Jurueña MF. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. *Epilepsy Behav* 2014; 38: 148-159.
- [69] Shea A, Walsh C, Macmillan H, et al. Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress disorder in females. *Psychoneuroendocrinol* 2005; 30: 162-78.

Genetic biomarkers for differential diagnosis of major depressive disorder and bipolar disorder: A systematic and critical review

Itiana Castro Menezes^a, Cristiane von Werne Baes^a, Riccardo Lacchini^b,
Mario Francisco Juruena^{a,b,c,*}

^a Stress and Affective Disorders (SAD) Programme, Department of Neurosciences and Behavior, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil

^b Department of Psychiatric Nursing and Human Sciences, College of Nursing of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil

^c Centre for Affective Disorders, Psychological Medicine, King's College London, UK

ARTICLE INFO

Keywords:
Depression
Bipolar
Diagnosis
Genetic biomarker

ABSTRACT

Depressive symptoms are present in the depressive mood state of bipolar disorder (BPD) and major depression disorder (MDD). Often, in clinical practice, BPD patients are misdiagnosed with MDD. Therefore, genetic biomarkers could contribute to the improvement of differential diagnosis between BPD and MDD. This systematic and critical review aimed to find in literature reliable genetic biomarkers that may show differences between BPD and MDD. This systematic review followed the PRISMA-P method. The terms used to search PubMed, Scopus, PsycINFO, and Web of Science were depress*, bipolar, diagnos*, genetic*, biomark*. After applying the selection criteria, N = 27 studies were selected, being n = 9 about biomarkers for BPD; n = 15, about MDD; and n = 3 for distinguishing MDD from BPD. A total of N = 3086 subjects were assessed in the selected studies (n = 486 in BPD group; n = 1212 in MDD group; and n = 1388, healthy control group). The articles were dated up to June 2017. Of the N = 27 studies, n = 16 assessed gene, n = 1 miRNA, n = 2 lcnRNA and n = 3 protein expressions, n = 4 methylation, and n = 4 polymorphisms. Some studies applied more than one of these genetic analyses. To find reliable genetic biomarkers we have taken into account the methodological care during the studies development and their validity. The genetic biomarkers selected are related to genes that play a fundamental role in synaptic plasticity, neurogenesis, mood control, brain ageing, immune-inflammatory processes and mitochondrial respiratory chain. BDNF gene expression was one of the genetic biomarkers that highlighted because of its capacity of distinguishing BPD and MDD groups, and being adequately reproduced by more than one selected study.

1. Introduction

Major depressive disorder (MDD) and bipolar disorder (BPD) are distinct psychiatric disorders, but both have in common the occurrence of depressive symptoms [1,2]. BPD is characterized by recurrent episodes of depression and elevation of mood (mania and/or hypomania), being in a depressive state more frequent, longer and disabling than hypo/ manic state in BPD [3–7]. Bipolar patients are more likely to have a family history of BPD, greater number of affective episodes, psychiatric hospitalization, suicide attempts, and earlier onset of the disease than unipolar depressed patients [8–11]. Also, they have more comorbid psychiatric disorders, especially anxiety and substance use disorders, and clinical disorders, such as diabetes, hypertension and cardiovascular disease, which can explain the higher mortality rates among patients with BPD [12]. Although there are etiological, neurological and physiological differences between MDD and BPD in clinical

practice, the presentation of depressive episodes in bipolar patients may not differ substantially from patients with unipolar depression [1,13–15], which may be the cause many BPD patients being misdiagnosed with MDD [16]. Clinical studies have shown about 40%–50% of BPD patients are firstly erroneously diagnosed with MDD and the correct diagnosis use to be delayed about 8–10 years [17,18]. Thus, the misdiagnosis of BPD as MDD may lead to grave consequences in the treatment of bipolar patients, as a history of treatment-resistant depression [2,19,20]. In this sense, it is important to study biomarkers that can help in clinical practice to distinguish MDD and BPD [21,22].

Based on this, the main goal of the present systematic and critical review is to analyze genetic biomarker candidates and the methods applied by studies for searching them. Not only the capacity of differentiating groups was taken into account, but the biomarkers validity and the methodological care to avoid bias.

* Corresponding author at: Institute of Psychiatry, Psychology and Neurosciences, King's College London, Denmark Hill, London- SE5 8AF, UK.
E-mail address: mario.juruena@kcl.ac.uk (M.F. Juruena).

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.008>

Received 1 March 2017; Received in revised form 20 September 2017; Accepted 8 January 2018
Available online 11 January 2018

0166-4328/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

Fig. 1. Articles search and selection criteria flowchart.

2. Methods

2.1. Search

The present systematic review followed PRISMA-P method [23,24]. The research was conducted using the terms depress*, bipolar, diagnos*, genetic*, biomark* (the terms were truncated to enlarge the research, including terms with the same word beginning, but with distinct suffixes) in the following databases: PubMed, Scopus, PsycInfo, and Web of Science.

The limits set were for language (only English), subjects' species (only humans), subjects' age (18–65 years old) and for study design (reviews or systematic reviews or meta-analysis or case reports or study protocols were excluded). No limits were set for the time frame (articles published up to June 2017), neither subjects' gender.

2.2. References selection

In the first selection, repeated articles, articles that investigated only non-genetic biomarkers, or any other disorders but not depression/MDD/BPD, or response to treatment or prognosis instead of diagnosis, or reviews or systematic reviews or meta-analysis or case reports or study protocols were excluded. The subjects may or may not be having psychiatric medications.

After this, a second and refined selection was made, excluding the following articles: those that did not specify the subtype of depression (unipolar or bipolar; or belonging to MDD or BPD); or those that have analyzed unipolar and bipolar data as one single group; those that presented bias in the subjects' selection (e.g. ; studies that did not assessed possible and/or some significant psychiatric disorders in control group); or studies that did not controlled appropriately for potential confounding factors (e.g. gene expression may be decreased because of subjects' alcohol addiction, and not because of the depression level).

2.3. Data management

For references and data management was used an open source bibliography reference manager Jabref. This software uses native file format BibTeX, the standard LaTeX bibliography format, and is available in <http://jabref.sourceforge.net/>.

3. Results

3.1. Articles eligibility and selection

The search combining all the keywords and limits resulted in a total of $N = 792$ articles ($n = 316$ articles were found in PubMed; $n = 200$, in Scopus; $n = 165$, in PsycInfo; and $n = 111$, in Web of Science). After filtering all article duplicates, there were $N = 523$ articles left. It was applied the first exclusion criteria in these articles, $n = 448$ were excluded, and $n = 75$ articles were left. The first exclusion, the excluded articles followed these criteria: a) $n = 237$ articles which issue was not depression and/or MDD and/or BPD; b) $n = 102$ reviews and/or metanalysis; c) $n = 56$ articles about non-genetic biomarker; d) $n = 37$ articles treatment and/or prognosis, instead of diagnosis; e) $n = 7$ which only subjects were animals; f) $n = 3$ which subjects were younger than 18 or older than 65 years-old; g) $n = 6$ were study protocols, without any results.

The second refined selection, $n = 48$ excluded articles followed these criteria: a) $n = 22$ did not specify the subtype of depression that was studied; b) $n = 15$ with bias in subjects selection and/or did not apply adequate methods for subjects' diagnosis as bipolar or unipolar or control; c) $n = 9$ confounding factors (e.g. the results are product of another factor); d) $n = 2$ assessed MDD and/or BPD data as only one group.

In the end, there were $N = 27$ articles left. These articles went

through qualitative analysis. The results of all process of selection and exclusion criteria are detailed in Fig. 1.

3.2. General study characteristics

From the selected articles ($N = 27$), $n = 9$ were about biomarkers for BPD; $n = 15$, MDD; and $n = 3$, BPD and MDD. All the chosen articles were case-control studies. There were $n = 5$ studies that, besides case-control design, were also cohorts. In these cases, the data used to compose this systematic review was the transversal data, when participants ingressed in the study. The studies sample ranged from $N = 18$ [25] to $N = 876$ [26] subjects. Most articles presented female and male subjects, except for Akarsu et al. [27] that presented one group composed only by men and Teyssier et al. [28], which all blood samples were from women. All subjects were in adult age. Of the 27 studies, most of them ($n = 16$; 59.2%) applied a molecular method for searching genetic biomarkers was gene expression. The sum of all subjects resulted in $N = 3086$, which $n = 486$ are BPD, $n = 1212$ MDD, and $n = 1388$ healthy controls (HC).

3.3. Subjects' diagnosis confirmation

For subjects' diagnosis confirmation, $n = 12$ (44.4%) studies applied The Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I (SCID-I) [27–38] and/or $n = 5$ The Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) [28,40–42]; $n = 2$ Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry (SCAN) [22,43]; and $n = 2$ others structured diagnosis interviews [44,45]. Others $n = 8$ (29.63%) articles did not apply any structured diagnosis interviews, but the diagnosis by consensus of psychiatrists/ psychologists using the Fourth Edition (DSM-IV; [46]) or Text-Revision of Fourth Edition of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR; [47]) [25,26,48–52] or the World Health Organization International Classification of Diseases (WHO-ICD-10; [53,54]).

3.4. Genetic biomarkers

There is considerable heterogeneity in the literature concerning possible genetic biomarkers candidates. The results will be presented below considering the diagnosis (BPD, MDD, or BPD and MDD) and the analysis patterns applied.

3.4.1. Genetic biomarkers for BPD

Of $N = 27$ articles selected, $n = 9$ (30%) assessed genetic biomarkers candidates for BPD. Of these 9 studies, $n = 6$ applied gene expression; $n = 1$, protein expression; $n = 2$, methylation; $n = 3$, polymorphisms. There is $n = 1$ article that assessed genetic biomarker candidate applying more than one analysis method [45]. Also, $n = 4$ studies validated their results [25,36,40,43]. The total sample in those studies was $n = 641$ subjects ($n = 306$ BPD and $n = 335$ HC).

Table 1 summarizes those $n = 9$ studies, showing the genetic analysis applied, the subjects and their mood state (in the case of BPD patients), the results (genetic biomarkers candidates that found difference between groups), if the results were validated or not, and the bias.

3.4.1.1. Gene expression in BPD. Of $n = 6$ studies of this section, $n = 4$ found upregulation [27,36,40,42] and $n = 3$ [36,40,43] found downregulation in gene expression of BPD compared to HC. Two studies [27,45] found no difference in gene expression between groups.

Both Akarsu et al. [27] and Munkholm et al. [43] assessed NDUFB2 gene expression in BPD sample. NDUFB2 is a gene that belongs to subunits of mitochondrial complex I [27]. Akarsu et al. [27] isolated messenger ribonucleic acid (mRNA) from blood samples obtained from BPD patients in the manic state matched to HC. BPD samples presented higher NDUFB1, NDUFB2, and NDUFB1mRNA levels. UQCRI0 mRNA levels did not differ BPD from HC. They also compared mRNA levels

Table 1
Characteristics and results of selected studies that assessed genetic biomarker candidates for BPD.

GENETIC ANALYSIS	AUTHORS, YEAR	GROUP (mood state)	RESULT BIOMARKER CANDIDATE	VALIDATION	BIAS
Gene expression	Alarau et al. [27]	BPD (man) vs. HC	↑NDUFV1, ↑NDUFV2, ↑NDUFS1	no	n/a
Gene expression	Muntholm et al. [43]	BPD (dep. man, eut) vs. HC	↑TOGG1, ↑POLG	yes	Different mood states in BPD
Gene expression	Kato et al. [40]	BPD (unknown) vs. HC	↑ANK3, ↓RASGRP1, ↓POLG1	yes	No evaluation of mood states or symptoms severity
Gene expression	Zhang et al. [42]	BPD (aut) vs. HC	↑P11	no	n/a
Gene expression	Padmos et al. [36]	BPD (dep. man, eut) vs. HC	↑PDE4B, ↑IL1B, ↑IL6, ↑TNF, ↑TNFAP3, ↑PTGS2, ↑PTX3, ↑MAPK6, ↑DUSP2, ↑NAB2, ↑ATF3, ↑BCL2A1, ↑EMPI, ↑CCL7, ↑CCL20, ↑CXCL2, ↑CCR2, ↑CDC42, ↓CCL2,	yes	Different mood states in BPD
Gene expression	Padmos et al. [36]	BPD (aut) vs. HC	↑PDE4B, ↑IL1B, ↑IL6, ↑TNF, ↑TNFAP3, ↑PTGS2, ↑PTX3, ↑MAPK6, ↑DUSP2, ↑NAB2, ↑ATF3, ↑BCL2A1, ↑CCL7, ↑CCL20, ↑CXCL2, ↑CCR2, ↑CDC42, ↓CCL2, ↑EMPI	yes	n/a
Gene expression	Kittel-Schneider et al. [45]	BPD (unknown) vs. HC	n.s.	no	Small sample size, difference in age between groups, no evaluation of mood states or symptoms severity, some subjects with substance abuse disorder and no control for smokers
Protein Expression	Kazuno et al. [25]	BPD (unknown) vs. HC	↑PGAM-1	yes	No evaluation of mood states or symptoms severity
Methylation	Nohesam et al. [35]	BPD (unknown) vs. HC	↓MB-COMT promoter	no	No evaluation of mood states or symptoms severity
Methylation	Ghadirivassfi et al. [33]	BPD (unknown) vs. HC	↓HTR2A - T102C	no	No evaluation of mood states or symptoms severity
Polymorphisms	Kittel-Schneider et al. [45]	BPD (unknown) vs. HC	n.s.	no	Small sample size, difference in age between groups, no evaluation of mood states or symptoms severity, some subjects with substance abuse disorder and no control for smokers

BPD: bipolar disorder; HC: healthy controls; dep: depressive state; aut: euthymic state; man: manic state; n/a: not applied; n.s.: no significant difference; ↑: upregulation (or polymorphism more frequent) in patients when compared to HC; ↓: downregulation (or polymorphism less frequent) in patients when compared to HC.

between BPD with psychotic features to BPD without psychotic features, but no difference was found. Munkholm et al. [43] compared the gene expression of BPD patients to HC, and BPD among each other. So, they assessed mRNA levels of 19 candidate genes in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). They observed downregulation in TOGG1 and POLG gene expression in BPD compared to HC. When comparing BPD samples from different mood states among themselves, NDUFV2 gene expression was upregulated in the depressed state compared to the euthymic state. Later, composite gene expression score was constructed (more details, vide Munkholm et al. [43]), which provided results corresponding to a moderately accurate test.

Zhang et al. [42] applied quantitative polymerase chain reaction (qPCR) to assess mRNA levels of p11 in BPD (BPD-I and BPD-II) remitted patients and HC. p11 mRNA was overexpressed in BPD patients, but there was no difference in p11 expression between BPD-I and BPD-II. Kato et al. [40] performed qPCR to assess gene expression in lymphoblastoid cells (LCL) sample from BPD-I, and HC. 17 candidate genes were measured, but only three were selected - ANK3, RASGRP1 and POLG1. In BPD-I patients, ANK3 showed higher expression levels, whereas POLG1 and RASGRP1 showed lower levels compared to controls. BPD-I sample could be discriminated from controls with 44% sensitivity (moderate) and 81% specificity (high).

Padmoss et al. [36] assessed inflammatory gene expression signature, after having selected 22 discriminating inflammatory genes through whole genome analysis. There were 19 aberrantly expressed genes in BPD patients - PDE4B, IL1B, IL6, TNF, TNFAIP3, PTGS2, PTX3, MAPK6, DUSP2, NAB2, ATF3, BCL2A1, EMP1, CCL2, CCL7, CCL20, CXCL2, CCR2, and CDC42. All these 19 genes were upregulated in BPD (all mood states) compared to HC sample, except for CCL2 that was downregulated. Comparing euthymic BPD to HC, almost all those 19 genes (except for CCL2 and EMP1) were upregulated. Other BPD mood states samples presented upregulation when compared to euthymic bipolar state: manic (MAPK6 and CCL2 genes) and depressive (MAPK6, CCL2, IL6, PTX3, EMP1, and BCL2A1) mood states. Although all these aberrant gene expressions between BPD and HC, and among BPD mood states, when authors assessed positivity for the genes signature, they observed the strongest correlations for Phosphodiesterase 4B (PDE4B) gene expression which is related to proinflammatory processes, chemokinesis, and cell survival mRNA signature.

Kittel-Schneider et al. [45] compared the influence of the nitric oxide system in BPD patients and HC. Nitric Oxide Synthase 3 (NOS3) gene expression between BPD and HC groups did not differ. After splitting BPD sample according to the mood states and BPD type (I and II) to compare with HC, they still did not find a difference in NOS3 gene expression.

3.4.1.2. Protein expression in BPD. Kazuno et al. [25] observed increased protein expression in BPD compared to HC. They performed a comparative proteomic analysis from LCL cells of monozygotic twins discordant for BPD applying two-dimensional differential in-gel electrophoresis (2D-DIGE) and validated comparing BPD and HC. They found approximately 200 protein spots differentially expressed between BPD patient and the co-twin. BPD samples presented upregulation in phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1). PGAM1 promotes glycolysis and ATP production via the TCA cycle and the electron transport system [25,51].

3.4.1.3. Methylation in BPD. Both Nohesara et al. [35] and Ghadirivasfi et al. [33] observed hypomethylation in salivary DNA from BPD subjects compared to HC applying bisulphite DNA sequencing and quantitative methylation-specific polymerase chain reaction (qMSP). The hypomethylation found by Nohesara et al. [35] was in catechol-O-methyltransferase (MB-COMT) promoter. Ghadirivasfi et al. [33] observed the hypomethylation in serotonin receptor Type-2A Gene (HTR2A) T102C polymorphic site.

3.4.1.4. Polymorphisms in BPD. N = 3 studies assessed polymorphisms in BPD, but no one of them found differences compared to HC. Kittel-Schneider et al. [45] genotyped samples for rs2070744, rs1799983 and the NOS3 Intron 4 variable number tandem repeat (VNTR) (as a three-marker haplotype) in NOS3 gene, and NOS1 ex 1c, NOS1 ex 1f (two genetic variants of the NOS1 gene). The Allele 4c of the VNTR was not detected in this study. There was no haplotypes significantly over or underrepresented in BPD. Both Ghadirivasfi et al. [33] and Nohesara et al. [35] genotyped their study samples by conventional methods using enzymatic restriction (RFLP) of PCR product and did not find differences in polymorphisms frequencies between BPD and HC. Ghadirivasfi et al. [33] assessed HTR2A -1438A/G and T102C polymorphisms and Nohesara et al. [35] assessed COMT Val/Met.

3.4.2. Biomarkers for MDD

Of N = 27 articles selected, n = 15 (55.55%) assessed genetic biomarkers candidates for MDD. Of those 15 studies, n = 8 applied gene expression; n = 1, microRNA (miRNA) expression; n = 2, long non-coding RNAs (lncRNAs) expression; n = 1, protein expression; n = 2, methylation; n = 3, polymorphisms. There are a n = 2 articles that assessed genetic biomarker candidate is applying more than one analysis method [32,49]. Also, n = 9 studies validated their results [29,30,32,37–40,49,52]. The total sample in those studies was n = 1799 subjects (n = 988 MDD and n = 811 HC). Table 2 summarizes those n = 15 studies, showing the genetic analysis applied, the subjects and the severity of symptoms (in the case of MDD patients), the results (genetic biomarkers candidates that found a difference between groups) if the results were validated or not, and the bias.

3.4.2.1. Gene expression in MDD. Of the n = 8 studies that assessed gene expression in MDD compared to HC, n = 3 found upregulation, n = 2 downregulation and n = 1 found up and downregulation when compared to HC. n = 2 studies found no difference between groups.

Rizavi et al. [50] investigated mRNA levels of cytokines and their membrane-bound receptors in the lymphocytes of MDD and HC. They observed that mRNA levels of IL1 β , IL6, TNF- α , as well as IL1R1 and IL1RA, TNFR1 and TNFR2 were higher in MDD patients. However, for IL1R2, IL6R, and IL6STU (or called Gp130), there was no difference in mRNA levels between groups. Yi et al. [38] compared expression profile among drug-free first-episode subjects with subsyndromal symptomatic depression (SSD - unipolar) (mild to moderate symptoms), MDD (moderate to more severe symptoms), and HC. They combined the most differentially expressed genes from each set of gene expression signatures, followed by trained and tested the multiple combinatorial gene signatures. There were 48 gene expression signatures determined with 100% accuracy. They observed differential expression of the following genes: ABL1, BRE, AP3B1, C19orf6, CAPRIN1, CCND2, CD84, COG3, CTNS, FDPS, FGD3, GCHFR, GINS4, INPP4A, KALRN, KTI12, LHX9, MEF2A, NEK8, NOP56, NRAS, PA2G4, PDE6B, PIK3AP1, PNN, PRKAR2A, PRKCB, PURA, RHOQ, RPL4, SCFD2, SENP1, SH3YL1, SLC16A3, SOCS4, STAT5B, STRN, TERF2, TM6IM6, TMEM97, VARS, WWP2, ZCCHC3, ZNF785, ZNF791, GRK6, BDNF, and COX5B. They highlighted BDNF, COX5B and GRK6 as the most significantly differential genes. Numata et al. [49] main study focus were methylation (we will better describe this article in below in Section 3.5.2.5 - methylation), but they also assessed GSK3B gene expression. They found a significantly higher GSK3B expression level in MDD patients than HC.

Watanabe et al. [52] assessed leukocyte gene expression profiles of 40 candidate genes after a pilot study and the development of a linear discriminant function to differentiate MDD from HC. PDGFC, SLC6A4, ARHGAP24, and HDAC5 genes were upregulated, and PRNP gene was downregulated. A pilot study presented overall 80% sensitivity and 92% specificity; and the replication test had overall 85% sensitivity and 89% specificity, respectively. According to authors, this was the first leukocyte gene expression-based test for MDD involving a customized PCR array plate and demonstrates confirmed sensitivity and specificity of 80% or greater.

Table 2
Characteristics and results of selected studies that assessed genetic biomarker candidates for MDD.

GENETIC ANALYSIS	AUTHORS, YEAR	GROUP (severity of symptoms)	RESULT BIOMARKER CANDIDATE	VALIDATION	BIAS
Gene Expression	Rizavi et al. [50]	MDD (severe) vs. HC	HLI β , $\uparrow$ IL6, $\uparrow$ TNF α , $\uparrow$ IL1 β , $\uparrow$ IL1RA, $\uparrow$ TNFR1, $\uparrow$ TNFR2	no	No body mass index or smoking habit data
Gene Expression	Watanabe et al. [52]	MDD (moderate) vs. HC	$\uparrow$ PDGFC, $\uparrow$ SLG6A4, $\uparrow$ ARHGAP24, $\uparrow$ HDAC5, $\uparrow$ PRNP	yes	The influence physical of body mass index, smoking, infection, and inflammation on leukocyte gene expression was not examined.
Gene Expression	Numata et al. [49]	MDD (severe) vs. HC	$\uparrow$ GSK3B	yes	No body mass index or smoking habit data
Gene Expression	Garbett et al. [32]	MDD (unknown severity) vs. HC	$\uparrow$ PCDH10, $\uparrow$ TNXB, $\uparrow$ PPI, $\uparrow$ MET	yes	Unknown levels of depressive symptoms
Gene Expression	Teyssier et al. [28]	MDD (severe) vs. HC	n.s.	no	Small sample size
Gene Expression	Milanesi et al. [41]	MDD (at least moderate) vs. HC	$\uparrow$ Brb83	no	Difference in age between groups
Gene Expression	Prodl et al. [31]	MDD (severe) vs. HC	n.s.	no	n/a
Gene Expression	Yi et al. [38]	MDD (at least moderate) vs. HC	Δ ABL1, Δ AP3B1, Δ C19orf6, ACAPRIN1, ARGD3, ANRAS, APA2G4, APMK3AP1, APRKCB, APURA, ASL1C16A3, ASTRN, ATERF2, ATMBIM6, AZCHC3	yes	n/a
miRNA Expression	Garbett et al. [32]	MDD (unknown severity) vs. HC	$\uparrow$ hsa-miR-132, $\uparrow$ hsa-miR-421, $\uparrow$ hsa-miR-542-3p, $\uparrow$ hsa-miR-450a, $\uparrow$ hsa-miR-16-2, $\uparrow$ hsa-miR-424, $\uparrow$ hsa-miR-628-3p, $\uparrow$ hsa-miR-629, $\uparrow$ hsa-miR-4293, $\uparrow$ hsa-miR-661, $\uparrow$ hsa-miR-3909, $\uparrow$ hsa-miR-33a, $\uparrow$ hsa-miR-135b, $\uparrow$ hsa-miR-7, $\uparrow$ hsa-miR-4267, $\uparrow$ hsa-miR-548aa, $\uparrow$ hsa-miR-548d-3p, $\uparrow$ hsa-miR-613, $\uparrow$ hsa-miR-371-4, $\uparrow$ hsa-miR-1294, $\uparrow$ hsa-miR-429, $\uparrow$ hsa-miR-377, $\uparrow$ hsa-miR-122, $\uparrow$ hsa-miR-32, $\uparrow$ hsa-miR-196b, $\uparrow$ hsa-miR-193a-3p, $\uparrow$ hsa-miR-337-5p, $\uparrow$ hsa-miR-675, $\uparrow$ hsa-miR-3176, $\uparrow$ hsa-miR-21, $\uparrow$ hsa-miR-22, $\uparrow$ hsa-miR-425, $\uparrow$ hsa-miR-185, $\uparrow$ hsa-miR-296-5p, $\uparrow$ hsa-miR-103a, $\uparrow$ hsa-miR-107, $\uparrow$ hsa-miR-186, $\uparrow$ hsa-miR-887	yes	Unknown levels of depressive symptoms
lncRNA Expression	Cui et al. [29]	MDD (moderate and euthymic) vs. HC	$\uparrow$ TCNS00019174, $\uparrow$ ENST000005662, $\uparrow$ NONHSAT0045500, $\uparrow$ ENST0000051757, $\uparrow$ NONHSAT03404, $\uparrow$ NONHSAT142707	yes	Different levels of depressive symptoms in MDD sample
lncRNA Expression	Cui et al. [29]	MDD (severe) vs. HC	$\uparrow$ TCNS12.00001212, $\uparrow$ NONHSAT10289, $\uparrow$ TCNS00019174, $\uparrow$ ENST00000566208, $\uparrow$ NONHSAT045500, $\uparrow$ ENST00000517573, $\uparrow$ NONHSAT03404, $\uparrow$ NONHSAT142707	yes	n/a
Protein Expression	Xu et al. [37]	MDD (at least moderate) vs. HC	n.s.	yes	n/a
Methylation	Numata et al. [49]	MDD (at least moderate) vs. HC	$\uparrow$ GSK3B (cg14472315), $\uparrow$ DGKH (cg00109274), $\uparrow$ SGKI (cg06642177)	yes	No body mass index or smoking habit data
Methylation	Fuchikami et al. [39]	MDD (at least moderate) vs. HC	$\uparrow$ BDNF CpG 1 subunit 11, 19, 15, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 128, 132, 136, 137, 147, 148, 152, 161, 163, 171, 177, 178, 179, 180, 181	yes	n/a
Polymorphism	Kreinin et al. [48]	MDD (at least moderate) vs. HC	n.s.	no	Difference in age between groups; small sample size
Polymorphism	Ho et al. [44]	MDD (at least moderate) vs. HC	n.s.	no	Difference in proportion of sexes between groups; small sample size
Polymorphism	Tian et al. [26]	MDD (unknown severity) vs. HC	$\uparrow$ rs11569017 (T)-rs11569126 (G) haplotype (EGF gene)	no	Unknown levels of depressive symptoms

HC: healthy controls; MDD: major depressive disorder; n/a: not applied; n.s.: no significant difference; $\uparrow$: upregulation (or polymorphism more frequent) in patients when compared to HC; $\downarrow$: downregulation (or polymorphism less frequent) in patients when compared to HC; Δ : difference (study did not specify if there was up or downregulation) in expression between MDD and HC samples.

Milanesi et al. [41] assessed V-erb-b2 erythroblastic leukaemia viral oncogene homolog 3 (ErbB3) and fibroblast growth factor receptor 1 (Fgfr1) mRNA expression levels. MDD leucocyte samples presented reduced ErbB3 mRNA levels than HC samples. No difference was found in Fgfr1 mRNA expression levels. Garbett et al. [32] assessed differential mRNA expression by applying microarray and identified 162 differentially expressed gene probes in MDD that reported > 50% change, of which 139 unique known genes (25 overexpressed and 114 hypoexpressed). Authors presented the following genes as those with most prominent decreased expression in MDD: PCDH10, TNXB, PPL, and MET. Considering the effects on brain development and function of MET, the researchers also assessed expression of genes belonging to the MET intracellular cascade. They were PIK3R1, HGF, GAB1, SOS1, RAPGEF1, STAT3, PTPN11, PAK1, MAPK1, GRK1, JUN, PTEN, RAP1A, MAP2K1, HRAS, ErbB2. In the end, they validated 14 differentially expressed mRNA by qPCR. Of these, 12 presented differences between MDD and HC, with a strong correlation between the microarray and qPCR analysis.

Frodl et al. [31] and Teyssier et al. [41] did not find differences in gene expressions in between MDD and HC groups. Frodl et al. [31] assessed glucocorticoid receptor (GR) mRNA expression and glucocorticoid-inducible genes (GILZ and SGK-1) expression, and Teyssier et al. [28] assessed ring finger protein 123 (RNF123) gene expression.

3.4.2.2. miRNA expression in MDD. Garbett et al. [32] also detected 38 miRNAs different expressed in MDD samples. Of these, 17 miRNAs presented downregulation (hsa-miR-377, hsa-miR-122, hsa-miR-32, hsa-miR-196b, hsa-miR-193a-3p, hsa-miR-337-5p, hsa-miR-675, hsa-miR-3176, hsa-miR-21, hsa-miR-22, hsa-miR-425, hsa-miR-185, hsa-miR-296-5p, hsa-miR-103a, hsa-miR-107, hsa-miR-186, and hsa-miR-887), and 21 presented upregulation (hsa-miR-132, hsa-miR-421, hsa-miR-542-3p, hsa-miR-450a, hsa-miR-16-2, hsa-miR-424, hsa-miR-628-3p, hsa-miR-629, hsa-miR-4293, hsa-miR-661, hsa-miR-3909, hsa-miR-33a, hsa-miR-135b, hsa-miR-7, hsa-miR-4267, hsa-miR-548aa, hsa-miR-548d-3p, hsa-miR-613, hsa-miR-3714, hsa-miR-1294, and hsa-miR-429) compared to HC.

3.4.2.3. lncRNA expression in MDD. Long non-coding RNAs (lncRNAs) are noncoding RNA with a length longer than 200 bases highly expressed in mammalian genomes. They play key roles as epigenetic and transcription modulators [30,56]. Cui et al. [29] found that eight lncRNA (TCONS_12_00001212, NONHSAT102891, TCONS_00019174, NST00000566208, NONHSAG045500, ENST00000517573, NONHSAT034045, and NONHSAT142707) were downregulated in MDD (non-medicated, with severe symptoms) compared to HC. Cui et al. [30] used the findings of MDD lncRNA expression of Cui et al. [29]. They found six downregulated lncRNA expressions (TCONS_00019174, ENST00000566208, NONHSAG045500, NST0000051757, NONHSAT034045, and NONHSAT142707) in MDD group.

3.4.2.4. Protein expression in MDD. Xu et al. [37] performed isobaric tags for relative and absolute quantitation - liquid chromatography-tandem mass spectrometry (iTRAQ-LC-MS/MS) - based comparative proteomic approach to identify proteins differentially expressed in treatment-naïve MDD and HC plasma samples. Five proteins were overexpressed in MDD sample: Apolipoprotein D (Apo-D), Afamin (AFM), Apolipoprotein B-100, a-1B-glycoprotein (A1BG), Isoform 1 of vitamin D-binding protein (VDP); and four were hypoexpressed: ceruloplasmin (Cp), histidine-rich glycoprotein (HRG), Semaphorin-3F, a-2-macroglobulin. Then, they selected Apo-D, Cp, HRG, and VDP for analysis in n = 42 individuals samples (21 per group), observing trends in the expression of Apo-D, Cp, HRG, and VDP that were consistent with iTRAQ results, but they were not significant in the validation result.

3.4.2.5. Methylation in MDD. Numata et al. [49] searched for DNA

methylation in two set of samples: discovery and replication. They selected and validated biomarker with 100% accuracy, suggesting multiplex DNA methylation markers may be useful for discrimination between MDD and HC. Among 313 differentially methylated CpG sites in the CGIs in the gene promoter regions, they observed that DGKH (cg00109274), GSK3B (cg14472315), and SGK1 (cg06642177) were related to MDD, confirmed later by the independent replication cohort. Most of all hypomethylated loci (85.7%) were located in the CGIs in the gene promoter regions. According to authors, GSK3B is one of the most interesting genes among CpG sites that demonstrated significant diagnostic differences in DNA methylation. Both in a discovery and in the replication set, there was significantly lower DNA methylation in MDD patients than HC at the CpG site (cg14472315) in the CGI in the promoter region of the GSK3B gene. They found a significant weakness to a moderate inverse correlation between GSK3B gene expression and promoter methylation.

Fuchikami et al. [39] assessed methylation profile of 2 CpG islands - I and IV - in promoters of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and observed different rates of methylation of 29 CpG units out of 35 CpG units in BDNF CpG I in MDD compared to HC. In MDD patients, in CpG I, subunits 1, 9, 15, 18, 23, 24, 37, 52, 61, 63, 71, 77, 78 and 79 were hypomethylated; and subunits 19, 20, 21, 22, 28, 32, 36, 47, 48, 80 and 81 were hypermethylated.

3.4.2.6. Polymorphisms in MDD. Kreining et al. [48] and Ho et al. [44] found no difference in the frequency of polymorphisms between MDD and HC. Kreining et al. [48] evaluated the polymorphism rs6265 (Val66met) and Ho et al. [44] genotyped three genetic variants (rs25531, rs6354 and STin2) of the serotonin transporter gene (SLC6A4). Tian et al. [26] genotyped eight SNPs within the epidermal growth factor (EGF) gene in MDD (first episode) and HC. They observed that the frequency of the rs11569017 (T)-rs11569126 (G) haplotype was significantly higher in MDD patients.

3.4.3. Biomarkers for BPD and MDD

Of N = 27 articles selected, n = 3 (11.11%) assessed genetic biomarkers candidates for BPD and/or MDD. Of those 3 studies, n = 2 applied gene expression [22,34]; and n = 1, protein expression [54]. All these n = 3 studies validated their results. The total sample in those studies was n = 554 subjects (n = 88 BPD, n = 224 MDD, and n = 242 HC). Table 3 summarizes those studies (n = 3), showing the genetic analysis that was applied. The subjects and the severity of symptoms (in the case of MDD patients) and/or their mood state (in the case of BPD patients), the results (genetic biomarker candidates that found difference between or among groups), if the results were validated or not, and the bias.

3.4.3.1. Gene expression in BPD and MDD. Powell et al. [22] assessed expression 87 inflammation-related genes for distinction among MDD, BPD, and HC. Authors found a higher transcription of CCL24 in MDD group, significantly differentiating from BPD and HC groups, in the discovery and validation cohort. Also, they found a lower transcription of CCR6 and NR3C1 that differentiated MDD patients from HC in discovery and validation cohort. Li et al. [34] studied BDNF gene expression and plasma levels in MDD and BPD patients in their first depression episode comparing to HC. BPD group presented the lowest BDNF gene expression levels than MDD and HC groups, and MDD patients presented lower BDNF expression when compared to HC.

3.4.3.2. Protein expression in BPD and MDD. Maccarrone et al. [55] assessed disease-specific protein biosignatures in cerebrospinal fluid of MDD, BPD and schizophrenia (SCZ) patients comparing them to HC group and the patients' groups against each other, using the Reverse Phase Protein Microarray (RPPM) technology. The proteins that could differ MDD from HC subjects with relative frequencies over 75% were GNAI2, CAPZA2, STXB1, ATP2B1, FAM159B. The proteins that could that differentiate BPD from HC were NEGR1, SPTBN1, OMG, SCG5,

Table 3
Characteristics and results of selected studies that assessed genetic biomarker candidates for BPD and/or MDD.

GENETIC ANALYSIS	AUTHORS, YEAR	GROUPS (mood state and/or severity of symptoms)	RESULT, BIOMARKER CANDIDATE	VALIDATION	BIAS
Gene Expression	Powell et al. [22]	BPD (eut) vs. MDD (eut and moderate-severe)	CCL24 (BPD < MDD)	yes	Different mood states between BPD and MDD samples; MDD sample younger than other groups; less clinical problems in MDD sample than other groups
Gene Expression	Powell et al. [22]	MDD (eut and moderate-severe) vs. HC	↑CCL24, ↑CCR6, ↑NRS3C1	yes	Different mood states between BPD and MDD samples; MDD sample younger than other groups; less clinical problems in MDD sample than other groups
Gene Expression	Li et al. [34]	BPD (severe depression) vs. MDD (severe) vs. HC	BDNF (BPD < MDD < HC)	yes	n/a
Protein Expression	Maccarrone et al. [35]	BPD (man and dep) vs. HC	↑NEGR1, ↑SPTRN1, ↑OMG, ↑SCG5, ↑PTPRZ1, ↑ATP6V0D1, ↑CAPZA2, ↑CRTAC1, ↑NPD1, ↑NAPG, ↑CNDP1, ↑CADM2, ↑ATP2B1, ↑SEZ6, ↑GPX3, ↑CHGA	yes	Different moods in BPD group
Protein Expression	Maccarrone et al. [35]	MDD (unknown severity) vs. HC	↑GNAI2, ↑CAPZA2, ↑STXBP1, ↑ATP2B1, ↑FAM159B	yes	Unknown level of depressive symptoms in MDD sample

BPD: bipolar disorder; HC: healthy controls; dep: depressive state; eut: euthymic state; man: manic state; MDD: major depressive disorder; n/a: not applied; n.s.: no significant difference; ↑: upregulation (or polymorphism more frequent) in patients when compared to HC; ↓: downregulation (or polymorphism less frequent) in patients when compared to HC; > : upregulation (or polymorphism more frequent); < : downregulation (or polymorphism less frequent).

PTPRZ1, ATP6V0D1, CAPZA2, CRTAC1, NPD1, NAPG, CNDP1, CADM2, ATP2B1, SEZ6, GPX3, CHGA. All of the proteins cited above were upregulated in patients' sample.

4. Discussion

It is ascending the number of studies on the topic "biomarker". About fifty thousand new articles have been published per year in recent years [57]. A good biomarker is one that has a good sensitivity and specificity, affordable cost, which provides reproducible experiments and results, available in organic samples that require less invasive methods for collection, and that is reliable to be used in clinical practice [57].

Most of the available articles about genetic biomarkers for affective disorders assessed only MDD or only BPD. The articles that aimed to explore genetic biomarker for MDD and BPD distinction are still rare in literature, and they are very relevant to improve the differential diagnosis. Besides detecting a difference between or among groups, to be considered a reliable biomarker, the studies investigating them must present an adequate study design, accurate methods, subjects' assessment and selection, process of validation, and other factors that may avoid bias.

BDNF was the noteworthy genetic biomarker found among all the selected potential biomarker presented by this systematic review. Starting from $n = 27$ articles final selected, which only $n = 6$ presented quality to indicate reliable biomarkers considering the capacity of distinguishing groups, adequate methodological care, and validation, $n = 2$ articles presented BDNF as a good biomarker. BDNF expression [34] and BDNF CpG I methylation patterns subunits differentiated MDD from HC [39]. As well, BDNF expression distinguished BD from HC and MDD [34]. BDNF, according to literature, is involved in synaptic plasticity, neurogenesis, learning, memory, cognition, mood control and other critical processes [58–61]. The reduction of BDNF levels is associated with an ageing process, some psychiatric disorders, and exposure to excessive stress [58,62,63]. The data found in this systematic review corroborate literature information and enforces BDNF as a good genetic biomarker.

About the other potential genetic biomarkers found, PDE4B are major cyclic AMP metabolizing isoenzymes found in inflammatory and immune cells [64]. PDE4B may be a key molecule in the proinflammatory state of PBD [36], and literature data corroborate showing that BPD patients present HPA axis immune-inflammatory dysfunctions [65–67]. The lncRNAs expression (TCNS_00019174, ENST00000566208, NONHSAG045500, NST00000517573, NONHSAT034045, and NONHSAT142707) may also be interesting genetic biomarkers for MDD. Depression, like BPD, is a disorder that predisposes the patient to accelerate ageing [61,68], and lncRNAs are involved in various biological processes of the central nervous system, such as hippocampal development, oligodendrocyte myelination, and brain ageing [30]. Currently, there are few studies about lncRNAs as genetic biomarkers. COX5B and GRK6 gene expressions may be considered, as well as BDNF, good biomarkers. COX5B participates of mitochondrial respiratory chain. There is an animal model of depression involving inhibition of mitochondrial respiratory chain [69] and studies of antidepressants and their effect on mitochondrial respiratory chain activity [70]. GRK6 is a member of G protein-coupled receptor kinases (GRK) family [71]. GRK6 may be predominantly involved in regulation of postsynaptic D2 dopaminergic receptors [72,73]. Literature data show the role of dopamine in the pathophysiology of depression [74].

Despite some of the selected studies were very careful about methodology [27,29,31,34,36,38,39,42] and validation [25,29,30,32,36–40,43,49,52] for obtaining a more reliable biomarker, still there were cases that bias was present because of the lack of investigation symptoms severity in MDD or mood states in BPD sample [26,32,33,35,40,45,54], gathering in a same BPD sample people in different mood states [22,36,43,54] or severity of symptoms [22,30,36], presenting difference between or among groups age [22,41,45,48] or sex [44], not considering body index mass or the smoking habit [52,49,45,50], or not controlling for drug use [45], or

having a very small sample size [28,44,45,48]. It is known that heterogeneity of mood states or intensity of depressive symptoms may alter gene [36] and protein [75] expressions and methylation patterns [76]. Also, BMI and smoking habit play a major role in inflammatory status [77–80] and gene expression [81–84].

Some primordial cares are required during the investigation of genetic biomarkers, as replicating the data present in literature and validating the new findings, applying adequate study designs, subjects' assessment and selection. Those procedures are the basis for finding reliable genetic biomarkers, which may contribute considerably to clinical practice.

5. Conclusion

As well as there is a lack of genetic biomarkers studies investigating differences between BPD and MDD, there are many studies in the literature that did not take all the methodological care necessary to avoid bias, making it harder finding reliable biomarkers that could help in clinical practice. More than finding new genetic biomarkers, it is essential to validate the existing data in the literature. BDNF gene expression was outstanding among all others selected genetic biomarkers because it distinguished MDD and BPD groups and those findings could be reproduced in more than one study.

Authors' Contribution

Itiana Castro Menezes: Study Design; Literature Search; Data Collection; Data Selection; Data Interpretation; Manuscript Preparation; English Review.

Cristiane von Weme Baes: Literature Search; Data Collection; Data Selection; Data Interpretation; Manuscript Preparation.

Riccardo Lacchini: Data Selection; Data Interpretation; Manuscript Preparation.

Mario Francisco Jurueña: Study Design; Literature Search; Data Collection; Data Selection; Data Interpretation; Manuscript Preparation; English Review.

Scientific Support

Department of Neurosciences and Sciences of Behavior, University of São Paulo; and Department of Psychological Medicine, Institute of Psychiatry, Psychology and Neurosciences at King's College London.

Funding

MF Jurueña received supported from Academy of Medical Sciences/Royal Society- UK; and from the Biomedical Research Centre (BRC) at SLAM-NHS UK.

References

- [1] American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fifth edition, American Psychiatric Association, Washington DC, 2013 (DSM-5).
- [2] I.C. Menezes, M.F. Jurueña, Diagnóstico de depressões unipolares e bipolares e seus especificadores, *Medicina (Ribeirão Preto)*, Online 50 (Suppl. 1) (2017) 64–71.
- [3] R.J. Baldessarini, J. Undurraga, G.H. Vazquez, L. Tondo, P. Salvatore, K. Ha, H.M. Khalsa, B. Lepri, T.H. Ha, J.S. Chang, M. Tohen, E. Vieta, Predominant recurrence polarity among 928 adult international bipolar I disorder patients, *Acta Psychiatr. Scand.* 125 (4) (2012) 293–302.
- [4] Judd L.L., H.S. Akiskal, P.J. Schettler, J. Endicott, J. Maser, D.A. Solomon, A.C. Leon, J.A. Rice, M.B. Keller, The long-term natural history of the weekly symptomatic status of bipolar I disorder, *Arch. Gen. Psychiatry* 59 (6) (2002) 530–537.
- [5] Judd L.L., H.S. Akiskal, P.J. Schettler, W. Coryell, J. Endicott, J.D. Maser, D.A. Solomon, A.C. Leon, M.B. Keller, A prospective investigation of the natural history of the long-term weekly symptomatic status of bipolar II disorder, *Arch. Gen. Psychiatry* 60 (3) (2003) 261–269.
- [6] R.C. Kessler, H.S. Akiskal, M. Ames, H. Birnbaum, P. Greenberg, R.M. Hirschfeld, R. Jin, K.R. Merikangas, G.E. Simon, Wang P.S., Prevalence and effects of mood disorders on work performance in a nationally representative sample of U.S. workers, *Am. J. Psychiatry* 163 (9) (2006) 1561–1568.
- [7] R.W. Kupka, L.L. Alshuler, W.A. Nolen, T. Suppes, D.A. Luckenbaugh, G.S. Leverich, M.A. Frye, P.E. Keck Jr., S.L. McElroy, H. Grunze, R.M. Post, Three times more days depressed than manic or hypomanic in both bipolar I and bipolar II disorder, *Bipolar Disord.* 9 (5) (2007) 531–535.
- [8] J.F. Goldberg, M. Harrow, Consistency of remission and outcome in bipolar and unipolar mood disorders: a 10-year prospective follow-up, *J. Affect. Disord.* 81 (2) (2004) 123–131.
- [9] F.K. Goodwin, K.R. Jamison, *Manic-Depressive Illness: Bipolar Disorders and Recurrent Depression*, 2nd ed., Oxford University Press, New York, NY, 2007.
- [10] R.M. Hirschfeld, L. Lewis, L.A. Vornik, Perceptions and impact of bipolar disorder: how far have we really come? Results of the National Depressive and Manic-Depressive Association 2000 survey of individuals with bipolar disorder, *J. Clin. Psychiatry* 64 (2) (2003) 161–174.
- [11] Z. Rihmer, K. Kiss, Bipolar disorders and suicidal behaviour, *Bipolar Disord.* 4 (Suppl 1) (2002) 21–25.
- [12] U. Osby, L. Brändt, N. Correia, A. Ekblom, P. Sparén, Excess mortality in bipolar and unipolar disorder in Sweden, *Arch. Gen. Psychiatry* 58 (2001) 844–850.
- [13] K. Becking, A.T. Spijker, E. Hoencamp, B.W. Penninx, R.A. Schoevers, L. Boschloo, Disturbances in hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immunological activity differentiating between unipolar and bipolar depressive episodes, *PLoS One* 10 (7) (2015) 21 10(7) e0133898.
- [14] J. Schneider, C.H. Lammers, U. Gotthardt, M. Dettling, F. Holsboer, I.J. Heuser, Combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in acute and remitted manic patients, in acute depression, and in normal controls: I, *Biol. Psychiatry* 38 (12) (1995) 797–802.
- [15] C. Tas, M. Cebi, O. Tan, G. Hizli-Sayar, N. Tarhan, E.C. Brown, EEG power, coherence and coherence differences between unipolar and bipolar depression, *J. Affect. Disord.* 172 (2015) 184–190.
- [16] R.M. Hirschfeld, Differential diagnosis of bipolar disorder and major depressive disorder, *J. Affect. Disord.* 169 (S1) (2014) S12–S16.
- [17] S.N. Ghaemi, J.Y. Ko, F.K. Goodwin, The bipolar spectrum and the antidepressant view of the world, *J. Psychiatr. Pract.* 7 (5) (2001) 287–297.
- [18] R.C. Kessler, P. Berglund, O. Demler, R. Jin, D. Koretz, K.R. Merikangas, A.J. Rush, E.E. Walters, P.S. Wang, The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R), *JAMA* 289 (23) (2003) 3095–3105.
- [19] J. Angst, A. Gamma, F. Benazzi, V. Ajdacic, D. Eich, W. Rössler, Diagnostic issues in bipolar disorder, *Eur. Neuropsychopharmacol.* 13 (Suppl 2) (2003) S43–S50.
- [20] F. Benazzi, H.S. Akiskal, Refining the evaluation of bipolar II: beyond the strict SCID-CV guidelines for hypo-mania, *J. Affect. Disord.* 73 (2003) 33–38.
- [21] I. Grande, M. Berk, B. Birmaher, E. Vieta, Bipolar disorder, *Lancet* 387 (10027) (2016) 1561–1572.
- [22] T.R. Powell, P. McGuffin, U.M. D'Souza, S. Cohen-Woods, G.M. Hosang, C. Martin, K. Matthews, R.K. Day, A.E. Farmer, K.E. Tansey, L.C. Schalkwyk, Putative transcriptomic biomarkers in the inflammatory cytokine pathway differentiate major depressive disorder patients from control subjects and bipolar disorder patients, *PLoS One* 9 (3) (2014) e91076.
- [23] D. Moher, L. Shamseer, M. Clarke, D. Gherzi, A. Liberati, M. Petticrew, P. Shekelle, L.S.A. Stewart, PRISMA-P Group, Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement, *Syst. Rev.* 4 (2015) 1–6.
- [24] L. Shamseer, D. Moher, M. Clarke, D. Gherzi, A. Liberati, M. Petticrew, P. Shekelle, L.S.A. Stewart, PRISMA-P Group, Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation, *Br. Med. J.* 349 (2015) g7647.
- [25] A.A. Kazuno, K. Ohtawa, K. Otsuki, M. Usui, H. Sugawara, Y. Okazaki, T. Kato, Proteomic analysis of lymphoblastoid cells derived from monozygotic twins discordant for bipolar disorder: a preliminary study, *PLoS One* 8 (2) (2013) e53855.
- [26] W. Tian, J. Zhang, K. Zhang, H. Yang, Y. Sun, Y. Shen, Q. Xu, A study of the functional significance of epidermal growth factor in major depressive disorder, *Psychiatr. Genet.* 22 (4) (2012) 161–167.
- [27] S. Akatsu, D. Torun, M. Erdem, S. Kozan, H. Akar, O. Uzun, Mitochondrial complex I and III mRNA levels in bipolar disorder, *J. Affect. Disord.* 184 (2015) 160–163.
- [28] J.R. Teyssier, R. Rey, S. Ragot, J.C. Chauvet-Gelinier, B. Bonin, Correlative gene expression pattern linking RNF123 to cellular stress-senescence genes in patients with depressive disorder: implication of DRD1 in the cerebral cortex, *J. Affect. Disord.* 151 (2013) 432–438.
- [29] X. Cui, X. Sun, W. Niu, L. Kong, M. He, A. Zhong, S. Chen, K. Jiang, L. Zhang, Z. Cheng, Long non-coding RNA: potential diagnostic and therapeutic biomarker for major depressive disorder, *Med. Sci. Monit.* 22 (2016) 5240–5248.
- [30] X. Cui, W. Niu, L. Kong, M. He, K. Jiang, S. Chen, A. Zhong, W. Li, J. Lu, L. Zhang, Can lncRNAs be indicators for the diagnosis of early onset or acute schizophrenia and distinguish major depressive disorder and generalized anxiety disorder?—a cross validation analysis, *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 174 (4) (2017) 335–341.
- [31] T. Frodl, A. Carballedo, M.M. Hughes, K. Saleh, A. Fagan, N. Skokauskas, D.M. McLoughlin, J. Meaney, V. O'Keane, T.J. Connor, Reduced expression of glucocorticoid-inducible genes GILZ and SGK-1: high IL-6 levels are associated with reduced hippocampal volumes in major depressive disorder, *Transl. Psychiatry* 2 (3) (2012) e88.
- [32] K.A. Garbett, A. Vereczkei, S. Kálmán, J.A. Brown, Taylor W. D., G. Faludi, Z. Korade, R.C. Shelton, K. Mirnics, Coordinated messenger RNA/microRNA changes in fibroblasts of patients with major depression, *Biol. Psychiatry* 77 (2015) 256–265.
- [33] M. Ghadirvani, S. Nohesara, H.R. Ahmadvani, M.R. Eskandari, S. Mostafavi,

- S. Thiagalingam, H.M. Abdolmaleky, Hypomethylation of the serotonin receptor type-2A Gene (HTR2A) at T102C polymorphic site in DNA derived from the saliva of patients with schizophrenia and bipolar disorder, *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 156B (5) (2011) 536–545.
- [34] Z. Li, C. Zhang, J. Fan, C. Yuan, J. Huang, J. Chen, Z. Yi, Z. Wang, W. Hong, Y. Wang, W. Lu, Y. Guan, Z. Wu, Y. Su, L. Cao, Y. Hu, Y. Hao, M. Liu, S. Yu, D. Cui, L. Xu, Y. Song, Y. Fang, Brain-derived neurotrophic factor levels and bipolar disorder in patients in their first depressive episode: 3-year prospective longitudinal study, *Br. J. Psych.* 2051 (2014) 29–35.
- [35] S. Nohehara, M. Ghadriavasi, S. Mostafavi, M.R. Eskandari, H. Ahmadvani, S. Thiagalingam, H.M. Abdolmaleky, DNA hypomethylation of MB-COMT promoter in the DNA derived from saliva in schizophrenia and bipolar disorder, *J. Psychiatr. Res.* 45 (11) (2011) 1432–1438.
- [36] R.C. Padmos, M.H. Hillegers, E.M. Knijff, R. Vonk, A. Bouvy, F.J. Staal, D. de Ridder, R.W. Kupka, W.A. Nolen, H.A. Drexhage, A discriminating messenger RNA signature for bipolar disorder formed by an aberrant expression of inflammatory genes in monocytes, *Arch. Gen. Psychiatry* 65 (4) (2008) 395–407.
- [37] H.-B. Xu, R.-F. Zhang, D. Luo, Y. Zhou, Y. Wang, L. Fang, W.-J. Li, Jun Mu, L. Zhang, Y. Zhang, P. Xie, Comparative proteomic analysis of plasma from major depressive patients: identification of proteins associated with lipid metabolism and immunoregulation, *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 15 (2012) 1413–1425.
- [38] Z. Yi, Z. Li, S. Yu, C. Yuan, W. Hong, C. Yuan, W. Hong, Z. Wang, J. Cui, T. Shi, Y. Fang, Blood-based gene expression profiles models for classification of sub-syndromal symptomatic depression and major depressive disorder, *PLoS One* 7 (2) (2012) e31283.
- [39] M. Fuchikami, S. Morinobu, M. Segawa, Y. Okamoto, S. Yamawaki, N. Ozaki, T. Inoue, I. Kusumi, T. Koyama, K. Tsuchiyama, T. Terao, DNA methylation profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potential diagnostic biomarker in major depression, *PLoS One* 6 (8) (2011) e23881.
- [40] T. Kato, A. Hayashi-Takagi, T. Toyota, T. Yoshikawa, K. Iwamoto, Gene expression analysis in lymphoblastoid cells as a potential biomarker of bipolar disorder, *J. Hum. Genet.* 56 (11) (2011) 779–783.
- [41] E. Milanesi, A. Minelli, N. Cattane, A. Cattaneo, C. Mora, A. Barbon, A. Mallei, M. Popoli, V. Florio, A. Conca, S. Bignotti, M. Gennarelli, ErbB3 mRNA leukocyte levels as a biomarker for major depressive disorder, *BMC Psychiatry* 12 (2012) 145.
- [42] L. Zhang, C.T. Li, T.P. Su, X.Z. Hu, R.A. Lanis, M.J. Webster, M.Y. Chung, Y.S. Chen, Y.M. Bai, J.L. Barker, J.E. Barrett, X.X. Li, H. Li, D.M. v Benedek, R. Usano, P11 expression and PET in bipolar disorders, *J. Psychiatr. Res.* 45 (11) (2011) 779–783.
- [43] K. Munkholm, L. Pejts, M. Vinberg, L.V. Kessing, A composite peripheral blood gene expression measure as a potential diagnostic biomarker in bipolar disorder, *Transl. Psychiatry* 5 (2015) e614.
- [44] P.-S. Ho, K.-J. Ho, W.-S. Huang, C.-H. Yen, M.-C. Shih, Lie-Hang Shen, K.-H. Ma, S.-Y. Huang, Association study of serotonin transporter availability and SLC6A4 gene polymorphisms in patients with major depression, *Psychiatry Res.* 212 (2013) 216–222.
- [45] S. Kittel-Schneider, M. Reuß, A. Meyer, H. Weber, A. Gessner, C. Leistner, J. Kopf, B. Schmidt, S. Hempel, J. Volkert, K.-P. Lesch, A. Reif, Multi-level biomarker analysis of nitric oxide synthase isoforms in bipolar disorder and adult ADHD, *J. Psychopharm.* 29 (1) (2015) 31–38.
- [46] American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, fourth edition, American Psychiatric Association, Washington DC, 1994 (DSM-IV).
- [47] American Psychiatric Association, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, fourth edition, American Psychiatric Association, Washington DC, 2000 Text Revision (DSM-IV-TR).
- [48] A. Kreinin, S. Lissou, E. Nesher, J. Schneider, J. Bergman, K. Farhat, J. Farah, F. Lejbkowitz, G. Yadiel, L. Raskin, I. Koman, Albert Pinhasov, Blood BDNF level is gender specific in severe depression, *PLoS One* 10 (2015) e0127643.
- [49] S. Numata, K. Ishii, A. Tajima, J.-I. Iga, M. Kinoshita, S. Watanabe, H. Umehara, M. Fuchikami, S. Okada, S. Boku, A. Hishimoto, S. Shimodera, I. Imoto, S. Morinobu, T. Ohmori, Blood diagnostic biomarkers for major depressive disorder using multiplex DNA methylation profiles: discovery and validation, *Epigenetics* 10 (2015) 135–141.
- [50] H.S. Rizavi, X. Ren, H. Zhang, R. Bhaumik, G.N. Pandey, Abnormal gene expression of proinflammatory cytokines and their membrane-bound receptors in the lymphocytes of depressed patients, *Psychiatry Res.* 240 (2016) 314–320.
- [51] M.T. Tsuang, N. Nosova, T. Yager, M.-M. Tsuang, S.-C. Guo, G.S. Kou, S.J. Glatt, C.C. Liew, Assessing the validity of blood-based gene expression profiles for the classification of schizophrenia and bipolar disorder: a preliminary report, *Am. J. Med. Gen. Neuropsych. Gen.* 133B (1) (2005) 1–5.
- [52] S.-Y. Watanabe, J.-I. Iga, K. Ishii, S. Numata, S. Shimodera, H. Fujita, T. Ohmori, Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene expression assays, *J. Psychiatr. Res.* 66–67 (2015) 1–6.
- [53] World Health Organization, *International Classification of Diseases*, 10th Revision (ICD-10), World Health Organization, Geneva, 1992.
- [54] G. Maccamone, C. Ditzel, A. Yasouridis, C. Rewerts, M. Uhr, M. Uhlen, F. Holsboer, C.W. Turck, Psychiatric patient stratification using biosignatures based on cerebrospinal fluid protein expression clusters, *J. Psychiatr. Res.* 47 (11) (2013) 1572–1580.
- [55] J.W. Campbell, H.C. Watson, G.I. Hodgson, Structure of yeast phosphoglycerate mutase, *Nature* 250 (1974) 301–303.
- [56] Z. Wu, X. Liu, L. Liu, H. Deng, Z. Jingjing, Q. Xu, J. Aimin, Cen Bohong, Regulation of lncRNA expression, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 19 (2014) 561–575.
- [57] R.L. Holland, What makes a good biomarker? *Adv. Precis. Med.* 1 (1) (2016) 4–11.
- [58] B.S. Fernandes, C.S. Gama, K.M. Ceresér, L.N. Yatham, G.R. Fries, G. Colpo, D. de Lucena, M. Kunz, F.A. Gomes, F. Kapczinski, Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: a systematic review and meta-regression analysis, *J. Psychiatr. Res.* 45 (2011) 995–1004.
- [59] P.S. Murray, P.V. Holmes, An overview of brain-derived neurotrophic factor and implications for excitotoxic vulnerability in the hippocampus, *Int. J. Pept.* (2011) 12p.
- [60] A.H. Nagahara, M.H. Tuszynski, Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders, *Nat. Rev. Drug Discov.* 10 (2011) 209–219.
- [61] O.M. Wolkowitz, E.S. Epel, Victor I. Reus, Synthia H. Mellon, Depression gets old fast: do stress and depression accelerate cell aging? *Depress. Anxiety* 27 (2010) 327–338.
- [62] A.S. Zannas, A.E. West, Epigenetics and the regulation of stress vulnerability and resilience, *Neuroscience* 264 (2014) 157–170.
- [63] Kirk I. Erickson, Ruchika Shaurya Prakash, Michelle W. Vos, Laura Chaddock, Susie Heo, Molly McLaren, D. Brandt, Pence, BDNF is associated with age-related decline in hippocampal volume, *J. Neurosci.* 30 (15) (2010) 5368–5375.
- [64] V. Lagente, C. Martin-Chouly, E. Boichot, M.A. Martins, P.M.R. Silva, Selective PDE4 inhibitors as potent anti-inflammatory drugs for the treatment of airway diseases, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100 (Suppl. 1) (2005) 131–136.
- [65] F. Kapczinski, E. Vieta, A.C. Andreazza, B.N. Frey, F.A. Gomes, J. Tramontina, M. Kauer-Sant'Anna, R. Grassi-Oliveira, R.M. Post, Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 32 (2008) 675–692.
- [66] M.B. Muri, D. Presti, V. Mondelli, C. Pantea, S. Patti, B. Olivieri, C. Arzani, M. Masotti, M. Resplino, M. Antonelli, L. Vassallo, G. Serafini, G. Perna, M. Pompili, M. Amore, The HPA axis in bipolar disorder: systematic review and meta-analysis, *Psychoneuroendocrinology* 63 (2016) 327–342.
- [67] S. Watson, P. Gallagher, J.C. Ritchie, I.N. Ferrier, A.H. Young, Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with bipolar disorder, *Br. J. Psychiatry* 184 (2004) 496–502.
- [68] O.M. Wolkowitz, V.I. Reus, S.H. Mellon, Of sound mind and body: depression, disease, and accelerated aging, *Dialogues Clin. Neurosci.* 13 (1) (2011) 25–39.
- [69] G.T. Rezin, M.R. Cardoso, C.L. Gonçalves, G. Scaini, D.B. Fraga, R.E. Riegel, C.M. Comim, J. Quevedo, E.L. Streck, Inhibition of mitochondrial respiratory chain in brain of rats subjected to an experimental model of depression, *Neurochem. Int.* (2014) 496–502.
- [70] G. Scaini, D.D. Maggi, B.T. De-Nês, C.L. Gonçalves, G.K. Ferreira, B.P. Teodorak, G.D. Bez, G.C. Ferreira, P.F. Schuck, J. Quevedo, E.L. Streck, Activity of mitochondrial respiratory chain is increased by chronic administration of antidepressants, *Acta Neuropsychiatr.* 23 (2011) 112–118.
- [71] J.L. Benovic, J. Gomez, Molecular cloning and expression of GRK6, A new member of the G protein-coupled receptor kinase family, *J. Biol. Chem.* 268:26 (1993) 19521–19527.
- [72] M. Erdmann-Vourliotis, P. Mayer, S. Ammon, U. Riechert, V. Holt, Distribution of G-protein-coupled receptor kinase (GRK) isoforms 2, 3, 5 and 6 mRNA in the rat brain, *Brain Res. Mol. Brain Res.* 95 (1–2) (2001) 129–137.
- [73] E.V. Gurevich, R.R. Gainetdinov, V.V. Gurevich, G protein-coupled receptor kinases as regulators of dopamine receptor functions, *Pharmacol. Res.* 111 (2016) 1–16.
- [74] B.W. Dunlop, C.B. Nemeroff, The role of dopamine in the pathophysiology of depression, *Arch. Gen. Psychiatry* 64 (3) (2007) 327–337.
- [75] C.C. Lin, C.T. Lee, Y.T. Lo, T.L. Huang, Brain-derived neurotrophic factor protein and mRNA levels in patients with bipolar mania - A preliminary study, *Biomed. J.* 39 (4) (2016) 272–276.
- [76] S. Sabuncuyan, B. Maher, S. Bahn, F. Dickerson, R.H. Yolken, Association of DNA methylation with acute mania and inflammatory markers, *PLoS ONE* 10 (7) (2015) e0132001.
- [77] A. Fernández-Sánchez, E. Madrigal-Santillán, M. Bautista, J. Esquivel-Soto, Á. Morales-González, C. Esquivel-Chirino, I. Durante-Montiel, G. Sánchez-Rivera, C. Valadez-Vega, J.A. Morales-González, Inflammation, oxidative stress, and obesity, *Int. J. Mol. Sci.* 12 (2011) 3117–3132.
- [78] A.S. Greenberg, M.S. Obin, Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism, *Am. J. Clin. Nutr.* 83 (Suppl) (2006) 461S–465S.
- [79] R. Monteiro, I. Azevedo, Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome, *Mediat. Inflamm.* (2010) 10p.
- [80] J. Lee, V. Taneja, R. Vassallo, Cigarette smoking and inflammation: cellular and molecular mechanisms, *J. Dent. Res.* 91 (2) (2012) 142–149.
- [81] S. Arimilli, B. Madhavan, P. Chen, K. Marano, G.L. Prasad, Gene expression profiles associated with cigarette smoking and moist snuff consumption, *BMC Genomics* 18 (2017) 156.
- [82] U.N. Das, A.A. Rao, Gene expression profile in obesity and type 2 diabetes mellitus, *Lipids Health Dis.* 6 (2007) 35.
- [83] S. Paul, S.A. Amundson, Differential effect of active smoking on gene expression in male and female smokers, *J. Carcinog. Mutagen.* 5 (2014).
- [84] R.L. Pruett, T.A. Wallace, S.A. Glynn, M. Yi, W. Tang, J. Luo, T.H. Dorsey, K.E. Stagliano, J.W. Gillespie, R.S. Hudson, A. Terunuma, J.L. Shoe, D.C. Haines, H.G. Yfantis, M. Han, D.N. Martin, S.V. Jordan, J.F. Borin, M.J. Naslund, R.B. Alexander, R.M. Stephens, C.A. Loffredo, D.H. Lee, N. Putluri, A. Sreekumar, A.A. Hurlwitz, S. Amb, An immune-inflammation gene expression signature in prostate tumors of smokers, *Cancer Res.* 76 (5) (2016) 1055–1065.

ANEXO 4 – MINI PLUS (AMORIM, 2000)

M.I.N.I. PLUS

MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW

Brazilian Version 5.0.0

USA: D. Sheehan, J. Janava, R. Baker, K.Harnett-Sheehan, E. Knapp, M. Sheehan
University of South Florida - Tampa

FRANCE: Y. Lecrubier, E. Weiller, T. Hergueta, P. Amorim, L.I. Bonora, J.P. Lépine
Hôpital Salpêtrière - Paris

Tradução para o português (Brasil) : Patricia Amorim

© 1994, 1998, 2000, Sheehan DV & Lecrubier Y.

Todos os direitos são reservados. Este documento não pode ser reproduzido, todo ou em parte, ou cedido de qualquer forma, incluindo fotocópias, nem armazenado em sistema informático, sem a autorização escrita prévia dos autores. Os pesquisadores e os clínicos que trabalham em instituições públicas (como universidades, hospitais, organismos governamentais) podem *solicitar** uma versão do M.I.N.I. (*mediante cadastro*), para utilização no contexto estrito de suas atividades clínicas e de investigação.

UM TREINAMENTO PRÉVIO* É OBRIGATÓRIO, PARA QUALQUER UTILIZAÇÃO DO M.I.N.I.

* versões brasileiras do M.I.N.I. - cadastro, cópias e treinamentos : patLamorinha@gmail.com.br

M.I.N.I. Plus 5.0.0 (Julho, 2002)

GRID-HAMD-17

GRID-HAMD-21

Guia de entrevista estruturada

H	A	M	D
A			
M			
D			

Copyright © 2003, International Society for CNS Drug Development, San Diego, CA, EUA
Todos os direitos reservados.

TransPerfect, TPT255020, GRID HAMD 17 item only, Portuguese-Brazil, Level 1 translation, 11/12/10

ANEXO 6 – CHILDHOOD TRAUMA QUESTIONNAIRE (CTQ) (GRASSI-OLIVEIRA et al., 2006, 2014)

CTQ					
Nome:	Data:				
Enquanto eu crescia...	Nunca	Poucas Vezes	Às vezes	Muitas Vezes	Sempre
1. Eu não tive o suficiente para comer.					
2. Eu soube que havia alguém para me cuidar e proteger.					
3. As pessoas da minha família me chamaram de coisas do tipo "estúpido (a)", "preguiçoso (a)" ou "feio (a)".					
4. Meus pais estiveram muito bêbados ou drogados para poder cuidar da família.					
5. Houve alguém na minha família que ajudou a me sentir especial ou importante.					
6. Eu tive que usar roupas sujas.					
7. Eu me senti amado (a).					
8. Eu achei que meus pais preferiam que eu nunca tivesse nascido.					
9. Eu apanhei tanto de alguém da minha família que tive de ir ao hospital ou consultar um médico.					
10. Não houve nada que eu quisesse mudar na minha família.					
11. Alguém da minha família me bateu tanto que me deixou com machucados roxos.					
12. Eu apanhei com cinto, vara, corda ou outras coisas que machucaram.					
13. As pessoas da minha família cuidavam umas das outras.					
14. Pessoas da minha família disseram coisas que me machucaram ou me ofenderam.					
15. Eu acredito que fui maltratado (a) fisicamente.					
16. Eu tive uma ótima infância.					
17. Eu apanhei tanto que um professor, vizinho ou médico chegou a notar.					
18. Eu senti que alguém da minha família me odiava.					
19. As pessoas da minha família se sentiam unidas.					
20. Tentaram me tocar ou me fizeram tocar de uma maneira sexual.					
21. Ameaçaram me machucar ou contar mentiras sobre mim se eu não fizesse algo sexual.					
22. Eu tive a melhor família do mundo.					
23. Tentaram me forçar a fazer algo sexual ou assistir coisas sobre sexo.					
24. Alguém me molestou.					
25. Eu acredito que fui maltratado (a) emocionalmente.					
26. Houve alguém para me levar ao médico quando eu precisei.					
27. Eu acredito que fui abusado (a) sexualmente.					
28. Minha família foi uma fonte de força e apoio.					

ANEXO 7 – INVENTÁRIO BECK DE ANSIEDADE (CUNHA, 2001)

Date: _____

Nome: _____

Estado Civil: _____

Idade: _____

Sexo: _____

Ocupação: _____

Escolaridade: _____

Abaixo está uma lista de sintomas comuns de ansiedade. Por favor, leia cuidadosamente cada item da lista. Identifique o quanto você tem sido incomodado por cada sintoma durante a **última semana, incluindo hoje**, colocando um "x" no espaço correspondente, na mesma linha de cada sintoma.

ANEXO 8 – INVENTÁRIO BECK DE DEPRESSÃO II (GORESTEIN et al., 2012)

Manual do
Inventário de Depressão
de Beck – BDI-II

ANEXO 9 – ESCALA BECK DE DESESPERANÇA (CUNHA, 2001)

Date: _____

Nome: _____

Estado Civil: _____

Idade: _____

Sexo: _____

Ocupação: _____

Escolaridade: _____

Este questionário consiste em 20 afirmações. Por favor, leia as afirmações cuidadosamente, uma por uma. Se a afirmação descreve a sua atitude na **última semana, incluindo hoje**, escureça o círculo com "C", indicando CERTO, na mesma linha da afirmação. Se a afirmação não descreve a sua atitude, escureça o círculo com "E", indicando ERRADO, na mesma linha da afirmação. **Por favor, procure ler cuidadosamente cada afirmação.**

ANEXO 10 – ESCALA DE IDEIAÇÃO SUICIDA DE BECK

Date: _____

Nome: _____

Estado Civil: _____

Idade: _____

Sexo: _____

Ocupação: _____

Escolaridade: _____

Instruções: Por favor, leia cuidadosamente cada grupo de afirmações, abaixo. Faça um círculo na afirmação que em cada grupo **melhor** descreve como você tem se sentido na **última semana, incluindo hoje**. Tome o cuidado de ler todas as afirmações em cada grupo, antes de fazer uma escolha.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MENTAL
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

Por meio deste termo, você está sendo convidado(a) a participar como voluntário (a) da pesquisa:

ESTRESSE PRECOCE NO DESENVOLVIMENTO DOS SUBTIPOS DE DEPRESSÃO UNIPOLAR E BIPOLAR (ATÍPICA E MELANCÓLICA): UM ESTUDO COM ABORDAGEM NEUROENDÓCRINA E GENÉTICA
Número do Parecer de Aprovação no CEP HCRP: 881.954

Pesquisadora: Itiana Castro Menezes. Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Saúde Mental da Faculdade Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Pesquisador Responsável/Orientador: Prof. Dr. Mário Francisco Jurueña. Docente do Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

I - OBJETIVO DA PESQUISA

O objetivo é estudar possíveis biomarcadores genéticos e endócrinos para diagnóstico diferencial entre depressão unipolar e depressão bipolar e biomarcadores endócrinos para resposta ao tratamento.

II – PROCEDIMENTOS

Inicialmente, você participará de uma entrevista na qual faremos perguntas sobre a sua saúde e lhe aplicaremos questionários com a finalidade de conhecer melhor suas características de personalidade, assim como a gravidade dos sintomas que você possa apresentar. Se não houver nenhuma contra-indicação, como o uso de algumas medicações específicas, por exemplo, você será convidado (a) a participar do estudo.

Se você for do grupo controle e algum transtorno for detectado, você será encaminhado ao pesquisador responsável que lhe instruirá sobre quais medidas devem ser tomadas para início de um tratamento adequado.

III – SUA PARTICIPAÇÃO AO LONGO DO ESTUDO

ETAPA GENÉTICA (PARTICIPANTES DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS E DO HOSPITAL DIA)

Haverá uma coleta de sangue após a avaliação psiquiátrica e a aplicação das escalas psicométricas terem sido realizadas. 10 mL de sangue para a investigação genética serão coletados. Os coletadores de sangue são profissionais experientes no procedimento de coleta de sangue (enfermeiros ou biomédica do grupo de pesquisa).

ETAPA ENDÓCRINA (PARTICIPANTES DO HOSPITAL DIA)

Serão coletadas amostras de saliva, sangue e de alguns fios de cabelo em dois momentos - Logo após seu ingresso no Hospital Dia e antes de sua alta do Hospital Dia. O objetivo é ver a resposta ao tratamento comparando os resultados dos hormônios no início e ao final da internação.

A) COLETA DE SALIVA

Você deverá coletar saliva com Salivettes®, conforme instruções que lhe daremos todas as vezes que os entregarmos a você. A coleta deverá acontecer da seguinte forma:

1ª coleta de saliva: Às 22h/ 10 horas da noite, antes de deitar para dormir.

2ª coleta de saliva: Ao acordar em jejum.

3ª coleta de saliva: 30 minutos após acordar, ainda em jejum.

4ª coleta de saliva: 60 minutos após acordar, ainda em jejum.

5ª coleta: ao chegar no Hospital Dia às 8h da manhã, ainda em jejum.

B) COLETA DE FIOS DE CABELO

Serão coletados cerca de 12 fios de cabelo (de diferentes áreas da cabeça). Os fios serão cortados com uma tesourinha bem pequena - não serão arrancados. Ou seja, não haverá dor. Os locais da cabeça de onde os fios forem retirados não ficarão visíveis.

C) COLETA DE SANGUE

A coleta de sangue acontecerá às 8h, no Hospital Dia. Serão coletados 10 mL de sangue. Os coletadores de sangue são profissionais experientes no procedimento de coleta de sangue (enfermeiros ou

APÊNDICE 1 – CONTINUAÇÃO - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Biomédica do grupo de pesquisa). Importante ressaltar que as coletas de sangue serão realizadas no Hospital Dia, após a coleta de saliva (do último Salivette®) e o participante ainda deverá estar em jejum.

IV- LOCAL DA REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Todas as coletas (saliva, cabelo, sangue) serão realizadas no Hospital Dia – Psiquiátrico (Rua Ten. Catão Roxo, 2650 – Bairro Monte Alegre) ou no Ambulatório de Humor do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (Campus Universitário).

V- RISCOS DE PARTICIPAÇÃO DO ESTUDO

Se ocorrer algum desconforto ao participante, será devido aos seguintes fatores: tempo que será gasto pelo participante para responder a todos os questionários, possível dor da picada da agulha e possíveis hematomas/equimoses (roxos) durante a coleta de sangue; cuidado com os horários de coleta de saliva.

Você terá o número do telefone de um médico da nossa equipe, no caso de sentir algum desconforto. Após a realização dos procedimentos acima, você dará início ao seu seguimento clínico regular.

VI- DIREITOS DO PARTICIPANTE

- Confidencialidade, sigilo e privacidade sobre sua identidade;
- Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga qualquer prejuízo a você;
- Você receberá uma VIA deste documento assinado também pelos pesquisadores, garantindo esses seus direitos;
- Acesso, a qualquer tempo, às informações dos procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa. Estaremos à disposição para esclarecê-lo e auxiliá-lo;

VII – CONTATOS DOS PESQUISADORES E DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A) Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Mário Francisco P. Juruena

Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP
Fone: (16) 3315-4614; Celular: (16) 98139-8456 Email: juruena@fmrp.usp.br

B) Pesquisadora Doutoranda: Itiana Castro Menezes

Fone: (16) 3315-0371; Celular: (16) 98100-4377 E-mail: itianacm@gmail.com

C) Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto

Fone: (16) 3602-2228 E-mail: cep@hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, de de 20.....

NOME DO PARTICIPANTE: _____

Assinatura do participante: _____

Ribeirão Preto, de de 20.....

NOME DO PESQUISADOR: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Ribeirão Preto, de de 20.....

NOME DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL: _____

Assinatura do pesquisador responsável: _____

APÊNDICE 2 - QUESTIONÁRIO SOCIODEMOGRÁFICO

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE

Nome _____

Telefone: () _____ / () _____ Email: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: ()Feminino ()Masculino

Peso: _____ Altura: _____

Cidade onde nasceu: _____ Cidade onde mora: _____

Estado Civil: () Solteiro () Companheiro () Casado () Separado () Viúvo

Religião: () Sim () Não () Ignorado Qual? _____

Cor: () Branco () Pardo () Preto () Amarelo () Índio

Escolaridade: () Analfabeto () Ensino Fundamental () Ensino Médio () Ensino Superior/Pós

Profissão: _____ () Ativo () Inativo

Renda Pessoal: R\$ _____ Renda Familiar: R\$ _____ Filhos: () Sim () Não Quantos? _____

Abortos Prévios: () Espontâneo Quantos: _____ () Provocados Quantos: _____

Reside: () Sozinho () Outras pessoas Quantas pessoas? _____

Tem irmãos? () Sim () Não Quantos? _____

Você é Adotado? () Sim () Não Tem irmão Gêmeo? () Sim () Não

Tem doenças clínicas: () DM () HAS () Cardiopatias () Epilepsia/convulsão
() Enxaqueca () Dislipidemia () Hipo/hipertireoidismo () Cushing () outras: _____

Tem histórico de dor crônica? _____

Usa anticoncepcional? () Sim () Não Está na menopausa? () Sim () Não

Já fez reposição hormonal? () Sim () Não

Abuso: () Bebida alcoólica () Drogas ilícitas () Tabagismo/Quantidade de cigarros por dia? _____

Medicações em uso: () Sim () Não

Idade de início da depressão: _____

Já tentou suicídio: () Sim () Não Quantas? _____

Já teve internações Psiquiátricas: () Sim () Não
Quantas? _____

Tem doença Psiquiátrica na família? () Sim () Não Quem? _____

Medicamento	Dose/dia

APÊNDICE 3 - POLIMORFISMO RS5522 E TEMAS AO QUAL FOI RELACIONADO EM ESTUDOS NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL

Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs5522 presentes nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática	
Alterações Neuromorfológicas/Funcionais	Bogdan et al., 2012; Di iorio et al., 2017; Pagliaccio et al., 2015a, b;
Artigos de Revisão	Bogdan, 2011; Bogdan et al., 2016; Goodyer et al., 2010; Hornung & Heim, 2015; Kloet et al., 2016;
Cognição	Bogdan et al., 2010, 2011; Durand, 2018; Wirz et al., 2017;
Comportamento, traços ou transtorno de personalidade	Li et al., 2017;
Doenças clínicas (DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica, cardiopatias, etc.)	De Maria et al., 2012; Macedo et al., 2008; Martinez et al., 2009; Ritter et al., 2016; Sasaki et al., 2016; Schmitz et al., 2014; Van Dijk et al., 2017;
Drogadição	Rovaris et al., 2015; Santos et al., 2012;
Estresse Precoce	Bogdan et al., 2012; Di iorio et al., 2017; Hornung & Heim, 2015; Rovaris et al., 2015; Vinkers et al., 2015;
Gestantes, parto pré-maturo ou complicações na gestação	Anderson et al., 2015; Christiaens et al., 2015; Chistiakova et al., 2013;
Neoplasias	Starkweather et al., 2013;
Processamento de emoções	Hamstra et al., 2017, 2016; Pagliaccio et al., 2015 a,b;
Resistência ou sensibilidade a glicocorticoides e/ou responsividade a corticosteroides	Luo et al., 2014; van Leeuwen et al., 2010;
Responsividade a psicotrópicos	Fortier et al., 2013;
Resposta ao Estresse ou Exposição a Traumas	Bouma et al., 2011; van Leeuwen et al., 2011;
Suicídio	Supriyanto et al., 2011;
TDAH	Fortier et al., 2013; Kortmann et al., 2013;
Transtornos Alimentares	Slof-Op et al., 2015;
Transtornos de Ansiedade	Chistiakova et al., 2013;
Transtornos de Humor	Hornung & Heim, 2015; Keller et al., 2017; Klok et al., 2011; Schatzberg et al., 2014; Vinkers et al., 2015;
Transtornos Psicóticos	Schatzberg et al., 2014;
Nota: DM: diabetes <i>mellitus</i> ; HAS: hipertensão arterial sistólica; TDAH: transtorno de deficit de atenção e hiperatividade.	

APÊNDICE 4. POLIMORFISMO RS2070951 E TEMAS AO QUAL FOI RELACIONADO EM ESTUDOS NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL

Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs2070951 presentes nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática	
Artigos de Revisão	de Kloet et al., 2016; Schatzberg et al., 2014;
Cognição	Bouma et al., 2011; Hamstra et al., 2017; Keller te al., 2017; van Leeuwen et al., 2011; Wirz et al., 2017;
Comportamento, traços ou transtorno de personalidade	Li et al., 2017;
Doenças autoimunes e alergias	Ritter et al., 2016; Starkweather et al., 2013; Van Dijk et al., 2017; van Leeuwen et al., 2010b; Yazici et al., 2016;
Doenças clínicas (DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica, cardiopatias, etc.)	Ritter et al., 2016; Starkweather et al., 2013; Van Dijk et al., 2017; van Leeuwen et al., 2010b; Yazici et al., 2016;
Drogadição	Supriyanto et al., 2011; Taylor et al., 2017;
Estresse Precoce	Bortoluzzi et al., 2014; Vinkers et al., 2015;
Gestantes, parto pré-maturo ou complicações na gestação	Chistiakova et al., 2013;
Resistência ou sensibilidade a glicocorticoides e/ou responsividade a corticosteroides	Fortier et al., 2013; Muhtz et al., 2011; van Leeuwen et al., 2010;
Responsividade a psicotrópicos	Muhtz et al., 2011; van Leeuwen et al., 2010;
TDAH	Fortier et al., 2013;
Transtornos de Ansiedade	Chistiakova et al., 2013;
Transtornos de Humor	Schatzberg et al., 2014; Taylor et al., 2017; Vinkers et al., 2015;
Suicídio	Supriyanto et al., 2011; Taylor et al., 2017;
Nota: DM: diabetes <i>mellitus</i> ; HAS: hipertensão arterial sistólica; TDAH: transtorno de deficit de atenção e hiperatividade.	

APÊNDICE 5. POLIMORFISMO RS56149945 E TEMAS AO QUAL FOI RELACIONADO EM ESTUDOS NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL

Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs56149945 presentes nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática	
Artigos de Revisão	Bidzinska, 2004; Charmandari, 2012, 2011; Charmandari et al. , 2013; Chen&Li, 2012; Chrousos & Kino, 2009, 2007; DeRijk & De Kloet, 2008, 2005; DeRijk, 2008, 2009; Koper et al., 2014; Majer-Łobodzińska & Adamiec-Mroczek , 2017; Majnik et al., 2016; Manenschijn et al., 2009; Marti et al., 2006; Pristupa et al., 2013; Vitellius et al., 2018;
Cognição	Kumsta et al., 2010; Kuningas et al., 2007; VanDerVoorn et al., 2015; West et al., 2010; Wust et al., 2004;
Comportamento, traços ou transtorno de personalidade	Luijk et al., 2010; Velders et al; 2012;
Doenças autoimunes e alergias	Bertalan et al., 2009b; Braun et al., 2009; Cheng et al., 2016; Damjanovic et al., 2013; Giordano et al., 2012; Kassi et al., 2016; Maltese et al., 2009, 2012; Manenschijn et al., 2010; Melief et al., 2016; Molnar et al., 2016; Moreira et al., 2013; O'Meara et al., 2015; Panek et al., 2016, 2015, 2014, 2013, 2012a,b; 2011; Pietras et al., 2010; Quax et al., 2015, 2012; Roerink et al., 2016; Ross et al., 2013; Sanchez et al., 2009; Schwabe et al., 2009; Szczepankiewicz et al., 2008; Van Winsen et al., 2009, 2007, 2005; Vannucchi et al., 2014; Xuan et al., 2014; Zhang et al., 2015; Zotter et al., 2017;
Doenças clínicas (DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica, cardiopatias, etc.)	Bayramci et al., 2017; Bertalan et al., 2009; Bonifati et al., 2006; Buemannet al., 2005; Cellini et al., 2010; Cercato et al., 2009; Chung et al., 2009; Ciechanowicz et al., 2002; Corvol et al., 2007; Damjanovic et al., 2013; DiBlasio et al., 2003; Dobson et al., 2001; Finken et al., 2009, 2011; Gerzenstein et al., 2008; Giordano et al. ,2012; Goracy et al., 2013; Jewell et al., 2014, 2016; Jewell & Cidlowski, 2015; Kaya et al., 2016; Koeijvoets et al., 2008; Krzy et al., 2008; Juningas et al., 2006; Lin et al., 2003; Luczay et al., 2006; Marti et al., 2006; Martins et al., 2017; Melcescu et al., 2012; Molnar et al., 2016; Moreira et al., 2013; Noppe et al., 2016; Otte et al., 2009, 2010; Porzezinska-Furtak et al., 2014; Roerink et al., 2016; RosaMaciel et al., 2014; Rosmond et al., 2003; 2006; Rosmond, 2003; Roussel et al., 2003; Syed et al., 2004, 2006, 2008; Szabo et al., 2007; Tansey et al., 2000; van Rossum et al., 2004; Wang et al., 2015; Wester et al., 2016; Yan et al., 2013; Ye et al., 2006; Zhukouskaya et al., 2015;
Gestantes, parto pré-maturo ou complicações na gestação	Bertalan et al., 2009b; Bertalan et al., 2008; Chistiakova et al., 2013; Feng et al., 2000; Finken et al., 2007; Geelhoed et al., 2010; Manenschijn et al., 2010; Quax et al., 2012; Schreiner et al., 2017, 2009; VanDerVoorn et al., 2015;
Neoplasias	Antonini et al., 2002; Balcerczak et al., 2013; Cihan et al., 2017; Eipel et al., 2016, 2013a,b, 2010; El-Fayoumi et al., 2018; Gaitan et al., 1995; KaymakCihan et al., 2017; Majnik et al., 2006; Morelli et al., 2010; Morris, 2003a,b.; Namazi et al., 2011; Reimondo et al., 2016; Tissing et al., 2005;
Resistência ou sensibilidade a glicocorticoides e/ou responsividade a corticosteroides	Huizenga et al., 1998; Kumta et al., 2008; Lange et al., 1999; Raalte et al., 2012; Ross et al., 2013; Savas et al., 2007; Souza et al., 2014; Fortier et al., 2013; Kok et al., 2018; Oretti et al., 2009;
Responsividade a psicotrópicos	Nouraei et al., 2018;

CONTINUAÇÃO APENDICE 5. Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs56149945 nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática

Resposta ao Estresse ou Exposição a Traumas	Bachmann et al., 2005; Duan et al., 2009; Ising et al., 2008; Kumsta et al., 2007;
Sistema Reprodutor	Kahsar-Miller et al., 2000; Rosa-Maciel et al., 2014; Sandres et al., 2002; Witchel et al., 1999;
TDAH	Fortier et al., 2013; Schote et al., 2016;
Tecido ósseo, muscular ou hematopoietico	Ash et al., 2016; Boekel et al., 2014; Bouamar et al., 2009; Peeters et al., 2008; van Schoor et al., 2007; Szappanos et al., 2009; Zhao et al., 2017;
Transtornos alimentares	Cellini et al., 2010;
Transtornos de Ansiedade	Chistiakova et al., 2013; Lee et al., 2009; Panek et al., 2014;
Transtornos de Humor	Bayramci et al., 2016; Brouwer et al., 2006; DeRijk et al., 2008a; Hardeveld et al., 2015; Nouraei et al., 2018; van Rossum et al., 2006; Sarubin et al., 2017; Sommer et al., 2000; Spijker et al., 2011; Szczepankiewicz et al., 2011;
Transtornos Psicóticos	Feng et al., 2000;
Transtornos Neurológicos	Lesage et al., 2009;
Nota: DM: diabetes <i>mellitus</i> ; HAS: hipertensão arterial sistólica; TDAH: transtorno de deficit de atenção e hiperatividade.	

APÊNDICE 6. POLIMORFISMO RS6190 E TEMAS AO QUAL FOI RELACIONADO EM ESTUDOS NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL

Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs6190 nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática	
Artigos de Revisão	Bidzinska et al., 2004; Derijk, 2009, 2008; Derijk & De Kloet, 2005, 2008; Gross & Cidlowski, 2008; Herrera et al., 2018; Lamberts, 2009; van Rossum & Lamberts, 2006; van Rossum & Lamberts, 2004; van Rossum et al., 2005;
Cognição	Beckman, 2012; Kumsta et al., 2009; Kuningas et al., 2007; Pleiger et al., 2018; van der Voorn et al., 2015;
Comportamento, traços ou transtorno de personalidade	Aiting et al., 2017 ; Li et al., 2017; Luijk et al., 2010; Velders et al., 2012;
Doenças autoimunes e alergias	Boyle et al., 2008; Chen & Li, 2012; Cheng et al., 2016; Corvol et al., 2007; Davies et al., 2010 ; Giordano et al., 2012; Herrera et al., 2018; Kassi et al., 2016; Krupoves et al., 2011; Maltese et al., 2012, 2009; Moreira et al., 2013; Oreti et al., 2009; Panek et al., 2016, 2015, 2014, 2013, 2012, 2011; Pietras et al., 2010; Quax et al., 2012, 2015; Trementino et al., 2014; Vanucchi et al., 2014; ; van Oosten et al., 2010; Van Rossum et al., 2004; Van Winsen et al., 2005, 2009; Wang et al., 2009; Winsenet al., 2007; Xuan et al., 2014;
Doenças clínicas (DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica, cardiopatias, etc.)	Bertalan et al., 2009; Blanco et al., 2010; Cellini et al., 2010; Gerzenstein et al., 2008; Giordano et al., 2012; Goracy et al., 2013; Kaya et al., 2016; Koeijvoets et al., 2006, 2008; Kuningas et al., 2006; Majer-Łobodzińska& Adamiec-Mroczek, 2017; Martins et al., 2017; Mora et al., 2012; Moraitis et al., 2017; Otte et al., 2010, 2009; Pristupa et al., 2013; Raalte et al., 2012; Roerink et al., 2016; Ross et al., 2013; Szabó et al., 2007; van Rossum & Lamberts, 2004; van Rossum et al., 2004, 2002; Trementino et al., 2013; Wester et al., 2016; Yan et al., 2013;
Gestantes, parto pré-maturo ou complicações na gestação	Bertalan et al., 2008; 2009a,b; Schreiner et al., 2016; Voorn et al., 2015;
Neoplasias	Bula et al., 2008; Damjanovic et al., 2012; Eipel et al., 2016; Majnik et al., 2006; Morelli et al., 2010; Namazi et al., 2011; Reimondo et al., 2016; Ruiter et al., 2014; Tissing et al., 2005; Xue et al., 2015;
Resistência ou sensibilidade a glicocorticoides e/ou responsividade a corticosteroides	Charmandari et al., 2011, 2013; Chen & Li, 2012; Kumsta et al., 2009; Lamberts, 2009; Molnar et al., 2018; Nicolaides et al., 2014; Pristupa et al., 2013; Russcher et al., 2005a,b; Souza et al., 2014; Spijker, 2012; Wester et al., 2014;
Responsividade a psicotrópicos	Fortier et al., 2013; Nouraei et al., 2018; Raef et al., 2008;
Resposta ao Estresse ou Exposição a Traumas	Bouma et al., 2011; Derijk, 2009; DeRijk & De Kloet, 2005; Duan et al., 2009; Kumsta et al., 2007; van Leeuwen et al., 2011; West et al., 2010; Wüst et al., 2005;
Sistema Reprodutor	Valkenburg et al., 2011;
TDAH	Fortier et al., 2013; Schote et al., 2016;
Tecido ósseo, muscular ou hematopoiético	Peeters et al., 2008; Szappanos et al., 2009; van Schoor et al., 2007; Zhao et al., 2017;
Transtornos de Ansiedade	Panek et al., 2014;
Transtornos de Humor	Brower et al., 2006; Engineer et al., 2013; Galecka et al., 2013; Hardeverd et al., 2015; Lee et al., 2009; Nemec et al., 2013; Panek et al., 2014; Sinclair et al., 2012; Spijker, 2012; Spijker et al., 2011; Van Rossum et al., 2006;

CONTINUAÇÃO APENDICE 6. Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs6190 nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática

Transtornos Neurológicos	Van Rossum et al., 2008;
Transtornos Psíquicos	Sinclair et al., 2012;
Nota: DM: diabetes <i>mellitus</i> ; HAS: hipertensão arterial sistólica; TDAH: transtorno de déficit de atenção e hiperatividade.	

APÊNDICE 7. POLIMORFISMO RS41423247 E TEMAS AO QUAL FOI RELACIONADO EM ESTUDOS NA LITERATURA ATÉ A DATA ATUAL

Artigos encontrados sobre dos temas estudados relacionados ao polimorfismo rs41423247 nas base de dados PubMed, PsycInfo, Web of Science e Scopus após busca sistemática	
Alterações Neuromorfológicas/Funcionais	Montag et al., 2013; Won&Ham, 2016; Pagliaccio et al., 2015a,b; Sinclair et al., 2012b; Won et al., 2016;
Artigos de Revisão	Bogdan et al., 2016; De Iudibus et al., 2011; Herrera et al., 2018; Medeiros et al., 2015; Nugent et al., 2011; van Rossum & Akker, 2010, 2011a, b;
Cognição	El-Hage et al., 2013; Keller et al., 2017;
Comportamento, traços ou transtorno de personalidade	Aiting et al., 2017; Luijk et al., 2010; Montag et al., 2013; Slof-Op't et al., 2014; Velders et al., 2012;
Doenças autoimunes e alergias	De Iudibus et al., 2011; Herrera et al., 2018; Keskin et al., 2016; Kmyta et al., 2015; Kostik et al., 2011; Panek et al., 2016; Quax et al., 2015; Schwartz et al., 2014; Szczepankiewicz et al., 2008;
Doenças clínicas (DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica, cardiopatias, etc.)	Castelini et al., 2016; Cellini et al., 2010; Chung et al., 2009; Kok et al., 2018; Lee et al., 2017; Martins et al., 2017; Roerink et al., 2016; Srivastava et al., 2011; Suvanto et al., 2016; van Dijk et al., 2017; van Moorsel et al., 2017; van Raalte et al., 2012; Wang et al., 2015; Yan et al., 2013, 2014;
Drogadição	Rovaris et al., 2016, 2017;
Estresse Precoce	Nugent et al., 2011;
Gestantes, parto pré-maturo ou complicações na gestação	Geelhoed et al., 2010; Haas et al., 2012; Schneider et al., 2014; Schreiner et al., 2017; Velders et al., 2012;
Neoplasias	Dawidowska et al., 2016; El-Fayoumi et al., 2018; Starkweather et al., 2013; Xue et al., 2015;
Processamento de emoções	Pagliaccio et al., 2015b; Ridder et al., 2012;
Resistência ou sensibilidade a glicocorticoides e/ou responsividade a corticosteroides	Cvijanovich et al., 2017; Keskin et al., 2016; Kok et al., 2018; Nebesio et al., 2016; O'Meara et al., 2015; Schwartz et al., 2014; Souza et al., 2014; Szczepankiewicz et al., 2008;
Responsividade a psicotrópicos	Fortier et al., 2013; Nouraei et al., 2018; Ventura-Junca et al., 2014;
Resposta ao Estresse ou Exposição a Traumas	Dmitrzak-Weglarz et al., 2016; Lian et al., 2014; Li-Tempel et al., 2016; Pagliaccio et al., 2015; Plieger et al., 2018;
Sistema Reprodutor	Hanna et al., 2010; Nordkap et al., 2017; Valkenburg et al., 2011;
Suicídio	Park et al., 2016; Taylor et al., 2017;
TDAH	Fortier et al., 2013; Schote et al., 2016;
Tecido ósseo, muscular ou hematopoietico	Thomaes et al., 2011;
Transtornos Alimentares	Castelini et al., 2016; Cellini et al., 2010; Dmitrzak-Weglarz et al., 2016; Op't et al., 2014;
Transtornos de Ansiedade	Zhou et al., 2017;
Transtornos de Humor	Reuter et al., 2012; Rovaris et al., 2016; Schatzberg et al., 2014; Schneider et al., 2014; Sinclair et al., 2012a,b; Tan et al., 2015; Taylor et al., 2017; Ventura-Junca et al., 2014; Won&Ham, 2016; Won et al., 2016;
Transtornos Psicóticos	Sinclair et al., 2012 a,b;
Nota: DM: diabetes <i>mellitus</i> ; HAS: hipertensão arterial sistólica; TDAH: transtorno de deficit de atenção e hiperatividade.	