UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

FERNANDA VIANA FIGARO DRUMOND

Efeito de polimorfismos genéticos do gene *HSD11b1* sobre o risco para desenvolver depressão na população brasileira.

Ribeirão Preto

2017

FERNANDA VIANA FIGARO DRUMOND

Efeito de polimorfismos genéticos do gene *HSD11b1* sobre o risco para desenvolver depressão na população brasileira.

Dissertação apresentada a Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de mestre em ciências, Programa Enfermagem Psiquiátrica.

Linha de pesquisa: Promoção de Saúde Mental

Orientador: Professor Dr. Riccardo Lacchini

Ribeirão Preto

2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha Catalográfica

Catálogo da Publicação

Departamento de Enfermagem e Ciências Humanas

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Drumond, Fernanda Viana Figaro

Efeito de polimorfismos genéticos do gene *HSD11b1*
sobre o risco para desenvolver depressão na população brasileira. Fernanda Viana Figaro
Drumond; orientador Professor Doutor Riccardo Lacchini – Ribeirão Preto, 2016.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Enfermagem Psiquiátrica - Departamento de
Enfermagem Psiquiátrica e Ciências Humanas da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo.

1. Depressão 2. Polimorfismo genético 3. *HSD11b1*

Nome: Fernanda Viana Figaro Drumond

Título: Efeito de polimorfismos genéticos do gene *HSD11b1* sobre o risco para desenvolver depressão na população brasileira.

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao Daniel, por me encontrar durante esta trajetória e se tornar meu namorado, noivo, marido e amor da minha vida. Por me dar força e apoio de maneira incondicional e por me mostrar que com a nossa união todas as conquistas valem a pena.

AGRADECIMENTO

Agradeço à minha mãe, Edna, que dedicou a vida pela educação de suas filhas. Por me dar todo o apoio e incentivo e contribuir incisivamente para que essa dissertação se concretizasse.

Ao meu pai, Admir, que está no céu, por me acompanhar sempre e enviar luz e amor em todas as minhas realizações.

À minha irmã, Flavia, que é a maior ligação com o meu pai que tenho na Terra. Agradeço simplesmente por você existir.

Ao meu professor e orientador, Professor Doutor Riccardo Lacchini, por compartilhar comigo seus conhecimentos, por ter acreditado em mim e me proporcionar essa dissertação.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos por fornecer com toda gentileza materiais e equipamentos necessários para realização deste trabalho. À Sandra, técnica de laboratório do Prof. Tanus e todos os seus alunos de pós-graduação, que sempre me atenderam prontamente; em especial ao Gustavo pela sua contribuição com este trabalho.

Ao Prof. Dr. Mario Francisco Juruena, por abrir as portas da pesquisa clínica e proporcionar que este trabalho fosse realizado. Às suas alunas, Itiana, Cris e Brisa pela integração na pesquisa científica e contribuições para esta dissertação.

Às colegas de laboratório, Ana Maria e Aline por nós três, juntas, termos aberto as portas do Laboratório junto ao Prof. Riccardo e aos colegas que logo chegaram Guilherme, Jordana, Anderson, Martyella, Vitória, Letícia e Sherliane.

À Dra. Fernanda Lacchini, por toda paciência e compreensão durante meu mestrado, por me auxiliar na construção do conhecimento em biologia molecular e por contribuir para esta dissertação.

Aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Enfermagem Psiquiátrica e Ciências Humanas da EERP-USP.

Aos membros da Banca de Qualificação e de Defesa pela contribuição neste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

À todos os voluntários deste estudo por se mobilizarem a participar e acreditar na sua contribuição para a pesquisa científica brasileira e em particular me proporcionarem a conclusão desta dissertação.

EPÍGRAFE

“O bem que você faz hoje pode ser esquecido amanhã. Faça o bem assim mesmo. Veja que ao final das contas, é tudo entre você e Deus! Nunca foi entre você e os outros.”

Madre Teresa de Cálcuta.

“Nunca despreze as pessoas deprimidas, a depressão é o último estágio da dor Humana.”

Augusto Cury

RESUMO

A depressão tem sido considerada uma das principais causas de incapacidade e caracteriza-se pela presença de humor triste e perda de interesse ou prazer, acompanhada de alterações somáticas e cognitivas que afetam significativamente a capacidade de funcionamento do indivíduo. Evidências sugerem que o hormônio relacionado ao estresse, o cortisol, está envolvido na fisiopatologia da depressão em adultos. Isso pode estar relacionado com estresse precoce durante o desenvolvimento inicial, o que poderia levar a uma maior vulnerabilidade para desenvolver depressão e risco de tentativa de suicídio na fase adulta. O cortisol tem sua liberação mediada pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e a alteração deste eixo pode afetar significativamente a biodisponibilidade do cortisol circulante. É comprovado também que fatores ambientais e genéticos permeiam a causa da depressão e o eixo HPA tem sido implicado na fisiopatologia de transtornos depressivos. O gene *HSD11B1* que codifica a enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo1 que é a responsável por converter cortisona em cortisol permeia a função do eixo HPA. Com isso, polimorfismos genéticos no gene *HSD11B1* podem afetar o risco para desenvolver depressão e o risco de suicídio. O objeto foi avaliar se genótipos e haplótipos do gene *HSD11B1* estão associados com risco de depressão, com a gravidade dos sintomas e com o comportamento suicida, considerando o estresse precoce como um fator ambiental. Foram incluídos 107 pacientes depressivos e 67 pacientes saudáveis incluídos como controles. Todos os sujeitos foram submetidos a uma avaliação psicométrica com a Escala MINI, escala GRID-HAMD21, Questionário de Traumas Infantis CTQ e Escala Beck de Ideação Suicida. Foi encontrada associação significativa com o polimorfismo rs11119328 nos genótipos para risco aumentado de pelo menos uma tentativa de suicídio (OR: 12,53, p = 0,045) E uma associação de genótipos variantes do polimorfismo rs11811440 com humor eutímico para tratamento farmacológico otimizado (OR: 0,05, P = 0,027). Concluímos que os polimorfismos do gene *HSD11B1* podem ser biomarcadores relevantes para detectar indivíduos geneticamente vulneráveis a desenvolver depressão e a cometer suicídio.

ABSTRACT

Depression has been considered one of the main cause of disability and is characterized by the presence of sad mood and loss of interest or pleasure, accompanied by somatic and cognitive changes that significantly affect the ability of the individual to function. Evidence suggests that the stress-related hormone, cortisol, is involved in the pathophysiology of depression in adults. This may be related to adverse experiences in childhood during early development, which could lead to increased vulnerability to developing depression and suicide attempt risk in adulthood. Cortisol has its release mediated by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) and the alteration of this axis can significantly affect the bioavailability of the circulating cortisol. It is also proven that environmental and genetic factors permeate the cause of depression and the HPA axis has been implicated in the pathophysiology of depressive disorders. The *HSD11B1* gene encoding the 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 enzyme that is responsible for converting cortisone to cortisol permeates HPA axis function. Thus, genetic polymorphisms in the *HSD11B1* gene may affect the risk of developing depression and the risk of suicide. The objective was to evaluate if genotypes and haplotypes of the *HSD11B1* gene are associated with risk of depression, with severity of symptoms and with suicidal behavior, considering early stress as an environmental factor. We included 107 depressive patients and 67 healthy patients included as controls. All subjects underwent a psychometric evaluation with the MINI Scale, GRID-HAMD21 Scale, Child Trauma Questionnaire CTQ and Beck Scale of Suicidal Ideation. It was found a significant association with rs11119328 polymorphism in genotypes at increased risk of at least one suicide attempt (OR: 12.53, $p = 0.045$) and an association of rs11811440 polymorphism genotypes with euthymic humor for optimized pharmacological treatment (OR: 0.05, $P = 0.027$). We conclude that *HSD11B1* gene polymorphisms may be relevant biomarkers for detecting genetically vulnerable individuals to develop depression and commit suicide.

RESUMEN

La depresión ha sido considerada una de las principales causas de incapacidad y se caracteriza por la presencia de humor triste y pérdida de interés o placer, acompañada de alteraciones somáticas y cognitivas que afectan significativamente la capacidad de funcionamiento del individuo. Las evidencias sugieren que la hormona relacionada con el estrés, el cortisol, está implicada en la fisiopatología de la depresión en adultos. Esto puede estar relacionado con estrés precoz durante el desarrollo inicial, lo que podría conducir a una mayor vulnerabilidad para desarrollar depresión y riesgo de intento de suicidio en la fase adulta. El cortisol tiene su liberación mediada por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) y la alteración de este eje puede afectar significativamente la biodisponibilidad del cortisol circulante. Se ha comprobado también que factores ambientales y genéticos impregnan la causa de la depresión y el eje HPA ha sido implicado en la fisiopatología de trastornos depresivos. El gen *HSD11B1* que codifica la enzima 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo1 que es la responsable de convertir cortisona en cortisol permea la función del eje HPA. Así, los polimorfismos genéticos en el gen *HSD11B1* pueden afectar el riesgo de desarrollar depresión y el riesgo de suicidio. El objetivo fue evaluar si los genotipos y los haplotipos del gen *HSD11B1* están asociados con riesgo de depresión, con la gravedad de los síntomas y con el comportamiento suicida, considerando el estrés precoz como un factor ambiental. Se incluyeron 107 pacientes depresivos y 67 pacientes sanos incluidos como controles. Todos los sujetos fueron sometidos a una evaluación psicométrica con la escala MINI, escala GRID-HAMD 21, Cuestionario de Traumas Infantiles CTQ y Escala Beck de Ideación Suicida. Se encontró una asociación significativa con el polimorfismo rs11119328 en los genotipos para el riesgo aumentado de al menos un intento de suicidio (OR: 12,53, $p = 0,045$) y una asociación de genotipos variantes del polimorfismo rs11811440 con humor eutímico para tratamiento farmacológico optimizado (OR: 0,05, $P = 0,027$). Concluimos que los polimorfismos del gen *HSD11B1* pueden ser biomarcadores relevantes para detectar individuos genéticamente vulnerables a desarrollar depresión y cometer suicidio.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AD	Antidepressivo
ADT	Antidepressivo Tricíclico
AVP	Vasopressina
BSI	Escala de Ideação Suicida de Beck
CID-10	Classificação Internacional de Doenças
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CTQ	Questionário Sobre Traumas na Infância
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª. Edição
EERP	Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto
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
EDF	<i>Effective degrees of liberty</i> – Graus de Liberdade efetivos
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GR	Receptores Glicocorticóides

GRID-HAMD	Escala de Avaliação de Depressão GRID de Hamilton
HC-FMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IMC	Índice de Massa Corporal
ISRS	Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
µg/dL	Micrograma por Decilitro
MINI-Plus	Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional
MR	Receptores Mineralocorticóides
ng/mL	Nanograma por Mililitro
PQH	Ambulatório de Transtorno do Humor
PGA	<i>Power Genetic Analysis</i>
R ²	Proporção da variabilidade da média explicada pelo modelo
RMSE	Erro quadrático médio
Rpm	Rotações Por Minuto
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TSD	Teste de Supressão com Dexametasona
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

d.f.	Graus de Liberdade
N	Número de Sujeitos na Amostra
p	Nível de Significância Estatística
r	Coeficiente de Correlação de Pearson
®	Marca Registrada
t	Teste t de Student
χ^2	Teste do Qui-quadrado

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão.

Figura 2 – Cálculo de poder estatístico para estudos de associação com o programa PGA.

Figura 3 – Genotipagem do polimorfismo **rs11119328**.

Figura 4 – Genotipagem do polimorfismo **rs11811440**.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Especificador de gravidade/curso, com os respectivos códigos utilizados na área da saúde (CID-10 e DSM 5).

Tabela 2 – Oligonucleotídeos usados para ASO-PCR

Tabela 3 – Padronização da Solução da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Tabela 4 – Padronização das temperaturas e ciclos no termociclador.

Tabela 5 – Características clínicas dos pacientes estudados.

Tabela 6 – Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos saudáveis e depressivos.

Tabela 7 – Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com tentativas de suicídio.

Tabela 8 – Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com a presença de sintomas depressivos sob tratamento.

Tabela 9 – Análise de regressão linear multivariada mostrando a influência de rs11119328 e rs11811440 nas pontuações HAMD e BSI e número de tentativas de suicídio.

Tabela 10 – Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos saudáveis e depressivos.

Tabela 11 – Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com tentativas de suicídio.

Tabela 12 – Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com a presença de sintomas depressivos sob tratamento.

Tabela 13 – Análise de regressão linear multivariada mostrando a associação de haplótipos rs11119328 e rs11811440 com escores de HAMD e BSI e número de tentativas de suicídio.

Sumário

1. Introdução.....	18
1.1. Depressão: Aspectos Clínicos	18
1.2 Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA).....	23
1.3 Estresse Precoce.....	26
1.4 Depressão e Suicídio.....	28
1.5 Depressão e Genética	32
1.6 <i>11β-hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1</i>	35
2 Objetivos	36
2.2 Objetivo geral	36
2.3 Objetivos específicos	36
3 Materiais e Métodos.....	36
3.2 Tipo de estudo.....	36
3.3 Tamanho Amostral	36
3.4 Características do estudo.....	37
3.5 Critérios de inclusão e exclusão	38
3.6 Coleta de dados.....	38
3.7 Questionários e escalas.....	39
3.8 Coleta de material biológico	41
3.9 Experimentos laboratoriais	41
4 Resultados	48
5 Discussão	58
6 Conclusão	64
7 Anexos	65
8 Apêndices	70
Referências.....	77

1. Introdução

1.1. Depressão: Aspectos Clínicos

Os transtornos do humor se dão por manifestações afetivas consideradas inadequadas em termos de intensidade, frequência e duração (Neri Piccoloto, 2000). O transtorno depressivo encontra-se no grupo de transtornos do humor e é popularmente conhecido como depressão.

O Transtorno depressivo caracteriza-se pela presença de humor triste e perda de interesse ou prazer, acompanhado de alterações somáticas e cognitivas que afetam significativamente a capacidade de funcionamento do indivíduo (Apa, 2014a).

É uma doença de crescente prevalência em todo o mundo e os graves impactos que produz configuram esta doença como um dos mais sérios problemas de saúde pública no início do século XXI (Boing *et al.*, 2012). O custo econômico total da depressão é estimado em 83 bilhões de dólares nos Estados Unidos da América e 118 bilhões de euros na Europa; a organização Mundial da saúde estima que mais de 300 milhões de pessoas tenham depressão e que menos da metade tem acesso ao tratamento e que até 2020 seja a segunda mais incapacitante do mundo (Kessler e Bromet, 2013). Pessoas com depressão apresentam maiores gastos em saúde, incapacidade para o trabalho e menor aderência a tratamentos médicos prescritos e já está bem estabelecido que a depressão está significativamente associada a uma grande variedade de distúrbios físicos crônicos, incluindo artrite, asma, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, hipertensão arterial, distúrbios respiratórios crônicos e uma variedade de condições que cursam com dor crônica (Rahe *et al.*, 2016). Estudos epidemiológicos mostram que o sexo, a idade e o estado civil estão associados à depressão; as mulheres têm um risco duas vezes maior de depressão do que os homens (Flint e Kendler, 2014) e indivíduos que estão separados ou divorciados têm taxas significativamente maiores de depressão do que os casados (Kessler e Bromet, 2013). A depressão afeta pessoas principalmente nas idades médias e geralmente diminui com a idade. No que se refere à educação, a depressão se associa a um aumento de 60% de chance de abandono do ensino secundário. No quesito desemprego, foi demonstrada uma relação

recíproca onde o desemprego leva a depressão assim como a depressão leva a maior risco para perder o emprego (Boing *et al.*, 2012; Kessler e Bromet, 2013; Silva *et al.*, 2014).

Na depressão, entre outros diagnósticos, pode-se incluir o Transtorno Afetivo Bipolar e o Transtorno Depressivo Maior.

O diagnóstico atual de Transtorno Depressivo Maior (TDM) traz como referencia o humor deprimido e ou diminuição do prazer em todas ou quase todas as atividades (Rosenstrom e Jokela, 2017). Seguindo o manual diagnóstico amplamente conhecido na psiquiatria, o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM), a sua primeira edição foi publicada pela Associação Psiquiátrica Americana em 1953, sendo o primeiro manual de transtornos mentais focado na aplicação clínica (Araújo e Lotufo Neto, 2014). Hoje, está na sua 5ª edição, o DSM 5 (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 5) e para se diagnosticar Transtorno Depressivo Maior se tornam necessárias pelo menos duas semanas ou mais de duração, com modificações no afeto, na cognição e inclusive em funções neurovegetativas (Apa, 2014b). Ainda no tópico de transtorno depressivo maior este mesmo manual traz a atenção especial ao luto que pode induzir grande sofrimento, mas não costuma provocar um episódio de transtorno depressivo. Porém quando ocorrem conjuntamente a tendência é de maior gravidade do quadro depressivo (Apa, 2014b).

Características diagnósticas de Transtorno Depressivo Maior

De acordo com o DSM 5 apresentamos os critérios diagnósticos:

- “1. Humor deprimido na maior parte do dia, quase todos os dias, conforme indicado por relato subjetivo (p. ex., sente-se triste, vazio, sem esperança) ou por observação feita por outras pessoas (p. ex., parece choroso). (Em crianças e adolescentes, pode ser humor irritável).*
- 2. Acentuada diminuição do interesse ou prazer em todas ou quase todas as atividades na maior parte do dia, quase todos os dias (indicada por relato subjetivo ou observação feita por outras pessoas).*
- 3. Perda ou ganho significativo de peso sem estar fazendo dieta (p. ex., uma alteração de mais de 5% do peso corporal em um mês), ou redução ou aumento do apetite quase todos os dias. (Em crianças, considerar o insucesso em obter o ganho de peso esperado).*
- 4. Insônia ou hipersonia quase todos os dias.*

5. *Agitação ou retardo psicomotor quase todos os dias (observáveis por outras pessoas, não meramente sensações subjetivas de inquietação ou de estar mais lento).*
6. *Fadiga ou perda de energia quase todos os dias.*
7. *Sentimentos de inutilidade ou culpa excessiva ou inapropriada (que podem ser delirantes) quase todos os dias (não meramente autorrecriinação ou culpa por estar doente).*
8. *Capacidade diminuída para pensar ou se concentrar, ou indecisão, quase todos os dias (por relato subjetivo ou observação feita por outras pessoas).*
9. *Pensamentos recorrentes de morte (não somente medo de morrer), ideação suicida recorrente sem um plano específico, uma tentativa de suicídio ou plano específico para cometer suicídio.”*

Além dos sintomas é possível distinguir também a gravidade do quadro depressivo, se é um episódio único ou recorrente, se tem características psicóticas ou se está em um processo de remissão. Ainda por este manual é possível codificar o diagnóstico de uma maneira conhecida mundialmente pela psiquiatria. Uma alternativa razoável ao DSM-5 para o diagnóstico de transtornos depressivos é a Classificação Internacional da Organização Mundial da Saúde de Doenças (CID-10), que está na sua 10ª edição. A CID-10 é publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e tem como objetivo padronizar e codificar as doenças em geral de todas as áreas de conhecimento. Apresenta-se em códigos seguidos das respectivas doenças e com a descrição de sintomas, queixas, sinais e até mesmo circunstâncias sociais. Onde também contempla transtornos psiquiátricos como os transtornos depressivos (Organization., Geneva: 1992).

As diferenças entre as classificações DSM5 e CID10 são mostradas na tabela 1.

Tabela 1 – Especificador de gravidade/curso, com os respectivos códigos utilizados na área da saúde (CID-10 e DSM 5).

Especificador de gravidade/curso	Episódio único	Episódio Recorrente
Leve	DSM 296.21 CID-10 (F32.0)	DSM 296.31 CID-10 (F33.0)
Moderada	DSM 296.22 CID-10 (F32.1)	DSM 296.32 CID-10 (F33.1)
Grave	DSM 296.23 CID-10 (F32.2)	DSM 296.33 CID-10 (F33.2)
Com características psicóticas	DSM 296.24 CID-10 (F32.3)	DSM 296.34 CID-10 (F33.3)
Em remissão parcial	DSM 296.25 CID-10 (F32.4)	DSM 296.35 CID-10 (F33.41)
Em remissão completa	DSM 296.26 CID-10 (F32.5)	DSM 296.36 CID-10 (F33.42)
Não especificado	DSM 296.20 CID-10 (F32.9)	DSM 290.30 CID-10 (F33.9)

Estra tabela reproduz dados retirados de (Apa, 2014a) e (Organization., Geneva: 1992).

O Transtorno afetivo bipolar (TAB), também englobado na depressão, pode se dividir em Tipo 1 e Tipo 2. O tipo 1 contempla episódio maníaco associado a episódios depressivos maiores durante o curso de sua vida com no mínimo uma semana. Já o transtorno bipolar tipo II, requer um ou mais episódios depressivos e pelo menos um episódio hipomaníaco durante o curso da vida com duração de pelo menos quatro dias. O episódios depressivos no TAB, seguem o mesmo critério de duração, de no mínimo 2 semanas. O episódio maniaco e hipomaníaco são períodos distintos de humor anormal e persistentemente elevado, expansivo ou irritável e aumento anormal e persistente da atividade dirigida a objetivos ou da energia,

com duração mínima de uma semana para o maníaco e no mínimo quatro dias para o hipomaníaco, estando presente na maior parte do dia, quase todos os dias (ou qualquer duração, se a hospitalização se fizer necessária). Durante o período de perturbação do humor e aumento da energia ou atividade, três (ou mais) dos seguintes sintomas (quatro se o humor é apenas irritável) estão presentes em grau significativo e representam uma mudança notável do comportamento habitual:

1. Autoestima inflada ou grandiosidade.
2. Redução da necessidade de sono (p. ex., sente-se descansado com apenas três horas de sono).
3. Mais loquaz que o habitual ou pressão para continuar falando.
4. Fuga de ideias ou experiência subjetiva de que os pensamentos estão acelerados.
5. Distratibilidade (i.e., a atenção é desviada muito facilmente por estímulos externos insignificantes ou irrelevantes), conforme relatado ou observado.
6. Aumento da atividade dirigida a objetivos (seja socialmente, no trabalho ou escola, seja sexualmente) ou agitação psicomotora (atividade sem propósito não dirigida a objetivos).
7. Envolvimento excessivo em atividades com elevado potencial para consequências dolorosas (p. ex., envolvimento em surtos desenfreados de compras, indiscrições sexuais ou investimentos financeiros insensatos)(Apa, 2014a).

Para contemplar a diferenciação do Transtorno Depressivo Maior e o Transtorno Afetivo Bipolar é que o primeiro consiste em episódios depressivos e o segundo consiste de um ou mais episódios depressivos seguidos de episódios maníacos e ou hipomaníacos (Neri Piccoloto, 2000).

No CID-10, a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde, o Transtorno Afetivo Bipolar vem codificado como F.31 (Organization., Geneva: 1992).

Dessa forma, o TDM e o TAB são doenças psiquiátricas distintas, mas que tem em comum a ocorrência de episódios depressivos, o que dificulta mais vezes o diagnóstico na prática clínica (Apa, 2014b).

Embora ambos os distúrbios sejam hereditários, o transtorno afetivo bipolar é substancialmente mais frequente em comparação com o transtorno depressivo maior na

herança genética, mostrado em estudos familiares onde ter um membro da família de primeiro grau com transtorno afetivo bipolar aumenta o risco em 7 vezes (Vohringer e Perlis, 2016).

Apesar de décadas de esforço, a psiquiatria ainda não tem um marcador biológico confiável para distinguir os dois transtornos, cuja fenomenologia do quadro depressivo pode ser extremamente similar, mas diferem em relação ao tratamento. A diferença entre o Transtorno Afetivo Bipolar e o Transtorno Depressivo Maior não é de grande importância ao se observar a prevalência ao longo da vida, mas sendo fundamental sua diferenciação para nortear o tratamento (Kessler e Bromet, 2013; Menezes Ic, 2017).

1.2 Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA)

Vários mecanismos biológicos têm sido envolvidos na fisiopatologia da depressão, a literatura traz quatro mecanismos centrais na etiologia da depressão e são eles: Eixo Hipotalâmico-Pituitário-Adrenal (HPA), Crescimento neutrófico, Vitamina D e a Inflamação (Verduijn *et al.*, 2015). Neste trabalho o foco é o eixo HPA.

A resposta ao estresse pelo eixo HPA é um dos muitos sistemas corporais que é projetado para ajudar o organismo a lidar com a adversidade. A importância deste sistema é sublinhada pela sua conservação através das espécies e manutenção da capacidade de resposta dinâmica ao longo da vida. A dinâmica do eixo HPA requer um equilíbrio rigorosamente controlado de excitação e inibição para resposta adequada ao estresse e adaptação à demanda ambiental (Herman *et al.*, 2016).

O eixo HPA permite que os organismos se adaptem às mudanças físicas e psicossociais. Quando o ser humano é exposto a situações de estresse o sistema nervoso central é ativado, essa ativação leva a liberação do hormônio corticotrofina (CRH) envolvendo o hipotálamo, a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na pituitária e do cortisol no córtex da supra-renal. Com a elevação dos níveis de cortisol circulante no plasma ocorre a inibição do sistema HPA através do feedback negativo (Schatzberg *et al.*, 2014).

O estudo de McEwen, 1998 traz as fases da dinâmica da resposta a estressores baseada no eixo HPA:

“... consistem de três fases: 1- Atividade basal, fase que não gera estímulos ao eixo HPA, 2- fase de Reatividade do estresse, na qual o cortisol aumenta a

partir da linha de base por níveis após o aparecimento de um estressor, 3-fase de recuperação em que os níveis de cortisol voltam aos níveis de referência após o deslocamento do estressor. Cada uma dessas fases reflete diferentes processos fisiológicos, como dos receptores mineralocorticoide (MRs) que regulam os níveis de cortisol durante períodos de baixa atividade do eixo HPA (por exemplo, à noite) e dos receptores glicocorticoides (GRs) que regulam as respostas do cortisol ao estresse e os níveis de cortisol durante períodos de alta atividade do eixo HPA (por exemplo, de manhã).” (Mcewen, 1998).

O eixo HPA tem ganhado mais destaque nos estudos, onde este eixo exerce papel fundamental na resposta aos estímulos externos e internos, incluindo os estressores psicológicos (Juruena *et al.*, 2004). A atividade do eixo HPA foi identificada como um marcador biológico chave de risco para depressão (Lemoult *et al.*, 2015). Uma literatura substancial tem documentado o link entre transtorno depressivo maior e anormalidades na atividade HPA (Krishnan e Nestler, 2008; Juruena, 2014; Gerritsen *et al.*, 2017; Wichmann *et al.*, 2017). A maior parte do que se sabe sobre o funcionamento do eixo HPA em indivíduos deprimidos baseia-se em estudos de atividade do eixo HPA e estudos de desafio farmacológico projetado para testar os mecanismos de feedback negativo no eixo HPA, tal como a dexametasona com teste de supressão (Ferguson *et al.*, 2017; Van Neijenhof *et al.*, 2017). Conclusões desse estudo sugerem que um subconjunto de indivíduos com transtorno depressivo maior têm níveis elevados de cortisol basal associados as respostas dos hormônios ACTH e cortisol (Burke *et al.*, 2005). Isso se justifica quando se observa o efeito da hiperatividade do eixo em pessoas deprimidas. A hiperatividade é percebida pelo aumento das concentrações de cortisol no plasma, na urina e no líquido cefalorraquidiano (LCR). Também pode ser percebida pela resposta exagerada de cortisol após estimulação com hormônio adrenocorticotrópico e aumento da pituitária e das glândulas adrenais seguida do feedback negativo ao eixo que resulta ao bloqueio de sinalizadores do cortisol circulante. A figura a baixo ilustra este processo do feedback negativo do Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (Juruena *et al.*, 2004).

Figura 1- O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. Adaptada de Mario F Juruena; Anthony J Cleare e Carmine M Pariante. Rev. Bras. de Psiquiatria, 2004.

Evidências substanciais indicam então que a elevação crônica dos níveis de cortisol e a disfunção do sistema de feedback do eixo HPA desempenham um papel proeminente nas respostas ao estresse. Contudo a ativação crônica do eixo HPA, induz ao dano e a respostas patológicas (Palma *et al.*, 2007). Por conta disso, o cortisol vem sendo rotineiramente usado como biomarcador de estresse psicológico e doenças mentais ou físicas relacionadas. O cortisol é produzido pelo córtex adrenal em resposta a um estímulo do eixo HPA, e atua sobre receptores glicocorticoides e mineralocorticoides. No sistema nervoso central os receptores MRs parecem ser mais expressos em regiões límbicas, principalmente hipocampo, enquanto os GRs são expressos de forma difusa no cérebro (Herman *et al.*, 1989). A maioria dos estudos consideram, por exemplo os níveis salivares de cortisol como uma medida confiável de adaptação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal ao estresse (Castro e Moreira, 2002; 2003).

A ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal é essencialmente um dos mecanismos adaptativos que permite que o corpo humano mantenha a estabilidade fisiológica

em resposta a sinais de tensão geral (estresse) (Cozma *et al.*, 2017). Cotidianamente usa-se o termo estresse para englobar os desafios psicofísicos encontrados na vida diária, ou seja, a resposta integrada de enfrentamento a situações adversas. Esses desafios refletidos em sentimento podem ser altamente adaptativos do ponto de vista evolutivo porque se ensina a lidar com circunstâncias semelhantes no futuro (Filgueiras e Hippert, 1999).

A fisiopatologia da resposta ao estresse compõe o conceito de alostase, que é o processo em curto prazo de alcançar a homeostase através de mudanças fisiológicas ou comportamentais que envolvem a manutenção da estabilidade. Em longo prazo chamada de carga alostática que é a degradação fisiológica do indivíduo como resultado de ciclos repetidos de alostase (Mello *et al.*, 2009). O processo fisiológico do estresse passa por três fases. A fase de alarme ou alerta (ocorre ruptura do equilíbrio interno do organismo e a mobilização para enfrentamento do agente estressor). A fase de resistência, onde se observa as respostas fisiológicas e comportamentais, com a intenção de manter a homeostase. Neste momento encontra-se fortemente a ação do hormônio cortisol, a partir desta ativação, o organismo é capaz de responder com seu melhor desempenho físico e cognitivo para neutralizar o agente estressor. A última fase, a fase de exaustão, é considerada uma fase crítica para o organismo na resposta adaptativa, pois quanto mais longo for o processo de enfrentamento ao agente estressor o organismo permanece cronicamente oferecendo resposta, com alterações comportamentais e fisiológicas, que antes eram adaptativas e agora passam a gerar uma sobrecarga energética levando a exaustão dos sistemas (Filgueiras e Hippert, 1999; Sousa *et al.*, 2015; Cozma *et al.*, 2017).

Qual é o limiar entre essas respostas adaptativas aos estressores ainda é uma questão a se responder no campo do estresse. Sendo importante então a busca por biomarcadores preditivos do risco de desenvolver doenças relacionadas ao estresse como o transtorno depressivo (Cozma *et al.*, 2017).

1.3 Estresse Precoce

É interessante notarmos que eventos de stress precoce parecem ter um efeito importante sobre o eixo HPA, o que poderia predispor os indivíduos ao desenvolvimento de depressão durante a vida adulta (Heim *et al.*, 2000; Holsboer, 2000; Shea *et al.*, 2005; Tyrka *et al.*, 2008; Baes *et al.*, 2014; Juruena, 2014).

Os quadros depressivos podem claramente depender de fatores genéticos para se desenvolverem. Mas é importante levar em consideração outros fatores distintos da genética que podem levar a um quadro depressivo como a exposição a estressores ambientais. Um importante fator exógeno que pode ser citado é a história de estresse precoce (Iorio *et al.*, 2017; Menezes Ic, 2017; Syed e Nemeroff, 2017)

A exposição ao estresse na primeira infância é um fator de risco significativo que pode gerar consequências prejudiciais em longo prazo para o desenvolvimento das crianças afetadas na saúde física e mental, educacional e até mesmo influenciar no sucesso no mercado de trabalho, rede social e estabelecimento da família e na literatura científica são encontradas evidências suficientes associando estresse precoce com distúrbios psiquiátricos específicos (Vaeever *et al.*, 2016; Saleh *et al.*, 2017).

Crianças que sofrem maus-tratos tem risco aumentado de depressão na adolescência e na idade adulta que se reflete no contexto familiar no qual os maus tratos se sucederam, além de ser amplamente conhecida a frequência da ocorrência de depressão, estudos trazem que cerca de um quarto a um terço das crianças maltratadas preencherão os critérios de depressão maior quando chegarem ao final da década dos 20 anos de idade; os maus tratos na infância são mais conhecidos como: abuso físico, abuso sexual, abuso emocional (ou psicológico) e negligência (Mello *et al.*, 2009; Vaeever *et al.*, 2016).

O estresse precoce provavelmente está relacionado a mais do que apenas a ocorrência do estressor e pode estar associado à intensidade, duração, estágio de desenvolvimento da vítima e resposta ao estresse fisiológico no momento do estresse. Presumivelmente, apenas estressores que resultam em respostas de estresse significativas ou sustentadas caracterizadas pelo eixo HPA ou outra atividade do sistema imune influenciariam a vulnerabilidade às doenças psiquiátricas (Saleh *et al.*, 2017).

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 deste eixo encontradas em pessoas com transtornos psiquiátricos (Heim *et al.*, 2000; Holsboer, 2000; Shea *et al.*, 2005; Tyrka *et al.*, 2008). Estudos sugerem que o estresse nas fases iniciais de desenvolvimento pode induzir alterações persistentes na capacidade do eixo HPA em responder ao estresse na vida adulta e que esse mecanismo poderia levar a uma maior suscetibilidade à depressão (Holsboer, 2000; Shea *et al.*, 2005; Mello *et al.*, 2007). Evidências indicam que experiências adversas precoces combinadas com o background genético

culminam na sensibilização de certos circuitos encefálicos a um estressor agudo. Por consequência, ocorrem alterações na reatividade do eixo HPA que, quando persistentes, resultam no desequilíbrio da modulação do eixo (Jurueña *et al.*, 2004; Lupien *et al.*, 2009).

Embora, algumas condições impactam a resposta ao eixo HPA, como estressores precoces e recentes e o estado psicológico, nem todo indivíduo exposto ao estresse precoce irá, necessariamente, desenvolver transtorno psiquiátrico, e nem todo adulto com transtorno psiquiátrico, necessariamente sofreu alguma experiência de abuso ou negligência na infância, o que demonstra a importância do caráter genético e da vulnerabilidade individual no desenvolvimento dos transtornos depressivos (Raabe e Spengler, 2013).

O cérebro em desenvolvimento é muito sensível aos efeitos de exposição precoce a estressores especialmente devido à reprogramação de uma série de vias de genes sensíveis ao estresse (Bondar e Merkulova, 2016). Com isso, o estresse precoce é um poderoso fator de risco para doenças mentais, como depressão, podendo levar a um curso prolongado da doença e uma resposta mais fraca ao tratamento (Raabe e Spengler, 2013). Os eventos estressantes na infância e a hiperatividade do eixo HPA, sozinhos não são os únicos desencadeadores para estados depressivos, mas este processo pode facilitar o desenvolvimento de depressão na idade adulta enfatizando assim sua importância (Jurueña, 2014).

1.4 Depressão e Suicídio

O transtorno depressivo maior é uma condição neuropsiquiátrica heterogênea com a maior morbidade mundial em todos os estratos sociodemográficos (Kessler *et al.*, 2003; Ustun *et al.*, 2004). Sendo uma doença tão significativa, é importante também relevar as consequências graves que ela pode trazer, como um provável risco de suicídio.

A morbimortalidade associada à depressão pode ser em boa parte prevenida com o tratamento correto (Márcio José Dal Bó, 2011).

Como já citada, a depressão caracteriza-se por sintomas depressivos e variação de humor; o que leva a pessoa acometida a ver o mundo e a realidade de forma alterada (Neri Piccoloto, 2000). Com taxas elevadas de transtorno depressivo no Brasil, é esperado que algumas consequências decorrentes dessa patologia venham a ocorrer, como o aumentado risco de cometer suicídio. É visto que cerca de 90% das pessoas que cometem suicídio têm sintomas de depressão e que 47% a 74% da população que tem risco de cometer suicídio tem depressão e/ou outros distúrbios psiquiátricos (Wang *et al.*, 2017). Alguns dados

epidemiológicos mostram que o suicídio é um fenômeno universal, sendo a principal causa de morte entre adolescentes de 15 a 19 anos. Ainda, ocorreram 804.000 suicídios em todo o mundo no ano de 2012, representando uma alta taxa de 11,4 por 100.000 habitantes e no Brasil a taxa gira em torno de e 4,3 por 100.000 habitantes (Silva *et al.*, 2015).

A definição de comportamento suicida é uma ação onde o indivíduo aplica dano a si mesmo, não importando o nível ou a razão da ação. Engloba pensamentos de autodestruição, a auto-agressão, revelada por gestos suicidas e tentativas de suicídio, e, por fim, o próprio suicídio (Braga e Dell'aglio, 2013). O suicídio é um fenômeno multifacetado com múltiplos fatores de risco, incluindo fatores psicossociais, neurobiológicos e psicopatológicos (Bahk *et al.*, 2017). Acredita-se que a tentativa de suicídio ocorre pelo menos dez vezes mais do que o suicídio efetivado. No entanto, quantificar as tentativas de suicídio torna-se empírico, pois não há registros mundiais oficiais sobre tentativas de suicídio. Torna-se então inviável obter esses dados com precisão devido a maioria dessas tentativas nunca serem registradas em contextos médicos ou jurídicos. Faz-se então uma estimativa em que as taxas de tentativas de suicídio podem ser 10 a 40 vezes maiores do que as taxas de suicídio (Alves *et al.*, 2016). A relação entre o transtorno mental e o suicídio já foi bem estudada, existem estudos que trazem a técnica de reconstrução diagnóstica chamada de autópsia psicológica que têm indicado que o transtorno psiquiátrico é um dos maiores fatores de risco para o suicídio (Turecki, 1999).

Evidências consistentes sugerem que tanto o abuso físico como o sexual estão associados à duplicação do risco de tentativa de suicídio em pessoas jovens (Mello *et al.*, 2009).

As intervenções para o transtorno depressivo maior e consequentemente os males que a patologia traz como, por exemplo, o risco para suicídio, incluem medicamentos antidepressivos, terapias somáticas e psicoterapia (Huang *et al.*, 2017).

As pesquisas em adultos sugerem que os antidepressivos diminuem a ideação suicida durante o período imediato após a iniciação do tratamento. Porém, segundo Henein, Prabhakar et al, não se sabe se o risco varia de acordo com o nível de adesão ou com a classe de medicação antidepressiva. Seu estudo então examinou se a adesão antidepressiva estava associada a uma maior ou menor probabilidade de ideação suicida em adultos com depressão. Os resultados deste estudo sugerem que a adesão aos antidepressivos pode prevenir ideação suicida em adultos com transtorno depressivo maior (Henein *et al.*, 2016).

Dessa forma os antidepressivos são a principal classe de psicofarmacos utilizadas no tratamento da depressão, porém muitos outros psicofármacos podem ser utilizados dependendo do subtipo de depressão, da presença de sintomas psicóticos e da gravidade do quadro (Baes, 2017). Os pacientes deste estudo durante seus tratamentos psicofarmacológicos foram expostos às seguintes classes:

Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina - ISRS

Os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) são antidepressivos globalmente populares. Além dos seus perfis de efeitos colaterais geralmente favoráveis em comparação com outras classes de antidepressivos, os ISRS atualmente possuem a maior variedade de indicações clínicas (Sansone e Sansone, 2012). Os ISRS inibem de forma incisiva e seletivamente a recaptação de serotonina (5-HT) no terminal neuronal pré-sináptico. (Moreno *et al.*, 1999; Brasil e Belisário Filho, 2000) (Baes, 2017).

Antidepressivos Tricíclicos

Os antidepressivos tricíclicos (ADTs) são fármacos mais antigos, contudo muito eficazes, porém menos seletivos; além de agirem sobre os receptores de serotonina e/ou noradrenalina e/ou dopamina, agem no bloqueio dos receptores colinérgicos, histaminérgicos e adrenérgicos, o que podem provocar muitas reações adversas. O efeito terapêutico dos ADTs está associado à sua capacidade de diminuir a recaptação da noradrenalina e da serotonina, potencializando as ações desses neurotransmissores. Seus efeitos colaterais resultam do bloqueio dos receptores muscarínicos, histamínicos e alfa-adrenérgicos atingindo então sistemas anticolinérgicos, cardiovasculares, neurológicos, metabólicos e endócrinos, reações cutâneas e gastrointestinais (Moreno *et al.*, 1999; Brasil e Belisário Filho, 2000; Baes, 2017).

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina – ISRSN

Alguns representantes são a Venlafaxina, Desvenlafaxina, Duloxetina. A venlafaxina e seu metabólito ativo A potência da inibição de recaptura de serotonina é maior que de recaptura de noradrenalina, ocorrendo em doses inferiores. Segundo Moreno 1999, ocorre também a alteração da sensibilidade de receptores beta-adrenérgicos após dose única, diferente de outros antidepressivos que levam à dessensibilização desses receptores após doses repetidas. Os efeitos colaterais mais frequentemente são náuseas, tonturas, sonolência; com doses mais altas podem aparecer sintomas como hipertensão, sudorese abundante e tremores (Moreno *et al.*, 1999). Os ISRSN são tradicionalmente vistos como uma família

distinta de antidepressivos, porém essas drogas apresentam diferenças farmacológicas, promovendo uma identidade única para cada um dentro do grupo (Sansone e Sansone, 2014).

Antipsicóticos

Os antipsicóticos são classificados em tradicionais ou típicos, este último também chamado de primeira geração e os atípicos ou de segunda geração. O principal mecanismo de ação terapêutica dos antipsicóticos deve-se ao bloqueio dos receptores de dopamina, tanto das vias mesolímbicas quanto mesocorticais, podendo haver forte bloqueio de todos os subtipos de receptores dopaminérgicos (D1, D2, D3 e D4). Esta divisão está relacionada com seu mecanismo de ação onde predomina o bloqueio de receptores da dopamina (D) nos típicos, e bloqueio dos receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos nos atípicos, o que pode interferir nos efeitos colaterais, em geral melhor tolerados nos atípicos. Os antipsicóticos convencionais têm alto índice terapêutico e são geralmente seguros, contudo possuem reações adversas; as mais conhecidas são neurológicas (sedação, sintomas extrapiramidais, delirium, convulsão) e cardiológicas (hipotensão e alterações no ECG) (Brasil e Belisário Filho, 2000; Baes, 2017).

Estabilizadores do Humor

Diversos estabilizadores têm sido propostos para o controle de oscilações do humor. Alguns representantes são o Lítio, Ácido Valpérico/ Valproato, Carbamazepina, Oxcarbazepina, Lamotrigina e Topiramato. O primeiro estabilizador do humor utilizado foi o carbonato de lítio, considerado padrão-ouro no tratamento dos episódios depressivos e maníacos agudos e na prevenção de recaídas ainda hoje. O mecanismo de ação do lítio acontece através de efeitos neurotróficos e citoprotetores. O lítio é um cátion monovalente que, se acredita, interfere nos sistemas intracelulares de segundos mensageiros. Ele inibiria vários passos do metabolismo do inositol trifosfato, e da fosfoquinase, interferindo na transdução de sinais, na transcrição e na expressão gênica, através da síntese de novas proteínas. Esses efeitos podem ter influência em vários aspectos do funcionamento neuronal, e provavelmente são os responsáveis pela ação profilática do uso continuado do lítio nos transtornos bipolares do humor (De Fazio *et al.*, 2017). Os anticonvulsivantes também são utilizados como estabilizadores do humor e apresentam resultados com o paciente bipolar. O mecanismo de ação do ácido valpróico não é totalmente conhecido. Acredita-se que ele atue tanto na mania quanto na epilepsia através de diversos mecanismos que teriam como efeito um aumento da atividade gabaérgica cerebral, inibindo o catabolismo do GABA, aumentando

sua liberação, diminuindo seu turnover, e aumentando a densidade de receptores GABA B (Machado-Vieira *et al.*, 2003).

Benzodiazepínicos

Os ansiolíticos/hipnóticos pertencem ao grupo dos benzodiazepínicos são prescritos com frequência em adultos por serem eficazes em quadros de ansiedade e bons indutores do sono. Dependendo do efeito que se deseja obter, a escolha dos benzodiazepínicos de ser segundo sua alta ou baixa potência e tempo de ação breve ou mais longa. Importante citar que os de alta potência (clonazepam) e/ou de meia vida curta (lorazepam, alprazolam) são os que mais provocam dependência e síndrome de retirada (Brasil e Belisário Filho, 2000). O mecanismo de ação desse grupo se dá pela ação nos receptores benzodiazepínicos, que são subunidades dos receptores GABA, facilitando a ação do principal neurotransmissor inibitório do SNC, o ácido gama-aminobutírico (GABA). Essa ativação facilita a ação do GABA, que resulta na abertura de canais de cloreto e incremento do influxo de cloreto no neurônio, o que leva a uma inibição da excitabilidade neuronal (Auchewski *et al.*, 2004; Baes, 2017).

Embora existam diversas opções de tratamento como demonstrado no texto acima, o que se percebe é que em vez de uma abordagem mais personalizada visando o perfil comportamental específico do doente, história ou fisiopatologia subjacente, a seleção do tratamento é frequentemente baseada em fatores subjetivos, tais como a preferência do doente e a orientação teórica do clínico assistente. Infelizmente, muitos pacientes não têm uma resposta antidepressiva benéfica com esta abordagem para a seleção do tratamento. Como resultado, há uma necessidade crítica de identificar biomarcadores de resposta ao tratamento para facilitar a seleção da modalidade de tratamento e assim se avaliar a resposta (Lima *et al.*, 2004; Niciu *et al.*, 2015).

De fato a participação do componente genético na etiologia do comportamento suicida é considerável. Porém é importante ressaltar que sozinha a carga genética não é específica ao suicídio, mas sim uma associação entre fenótipo e genótipo (Turecki, 1999).

1.5 Depressão e Genética

Fatores ambientais e genéticos permeiam a causa da depressão (Lafer e Vallada Filho, 1999). Experiências estressantes na infância como a morte dos pais ou substitutos, as privações materna ou paterna por abandono, separações ou divórcios, constituem um conjunto

de fatores de risco potenciais para transtorno depressivo. Eventos estressantes na vida são bem reconhecidos como precipitantes de episódios depressivos (Zavaschi *et al.*, 2002). No entanto, é importante destacar também a existência de fatores genéticos na suscetibilidade para as doenças afetivas (Lima *et al.*, 2004), onde, por exemplo:

“...os familiares de primeiro grau de indivíduos com transtorno depressivo maior têm risco 2 a 4 vezes mais elevado de desenvolver a doença que a população em geral. Os riscos relativos parecem ser mais altos para as formas de início precoce e recorrente. A herdabilidade é de aproximadamente 40%, e o traço de personalidade neuroticismo representa uma parte substancial dessa propensão genética...”. (Apa, 2014a)

O componente genético é estimado em representar cerca de 40% da susceptibilidade para desenvolver depressão unipolar e 70% para o transtorno bipolar (Lima *et al.*, 2004).

O estudo de associação é realizado na busca de genes causadores de doenças. Nesta modalidade para levantar a hipótese de que um determinado gene esteja envolvido na patofisiologia do transtorno, onde podemos chamar o gene de gene candidato, faz-se a análise da frequência de uma determinada variação ou alteração na estrutura desse gene, onde se compara com o resto da população através de experimentos laboratoriais.

“Busca-se, portanto, determinar se há uma associação entre a condição de afetado e aquela variação no gene. Este tipo de estratégia apresenta a vantagem de poder detectar genes que apresentam efeitos discretos ou moderados na determinação de uma doença, o que a torna mais adequada nas enfermidades poligênicas e multifatoriais” (Lafer e Vallada Filho, 1999).

A depressão unipolar e a depressão bipolar como doenças poligênicas e multifatoriais já trazem genes candidatos sendo investigados em estudos de associação (Lafer e Vallada Filho, 1999).

As mutações e os polimorfismos são dois tipos de modificações genéticas. As mutações são consideradas raras substituições de bases, alterações na organização ou no tamanho das sequências, incorporação do DNA extracromossômico e alterações anafásicas ou da citocinese; já os polimorfismos em genes são variações na sequência de DNA que podem criar ou destruir sítios de reconhecimento de enzimas de restrição e estarem associados a

apenas uma base, onde essas variações são frequentes em pelo menos 1% da população e por si só, não serem capazes de causar alguma doença genética (Collins e McKusick, 2001; Albert, 2011). As variações mais deletérias morrem ou permanecem raras devido à seleção natural. São encontrados em regiões funcionais, isto é, entre os SNPs em exons (regiões de codificação de proteínas) que alteram a sequência de aminoácidos ou em sequências que regulam a expressão gênica (Cichon *et al.*, 2009).

Os polimorfismos podem atuar como marcadores genéticos, já que são transmitidos e associados a outros genes localizados na região cromossômica próxima. Desta maneira, é possível que um gene perto de um marcador causador de uma patologia, consequentemente os indivíduos descendentes recebem tanto o marcador como o gene causador da doença. O lado positivo dos polimorfismos é que contribuem para a diversidade humana em geral, mas também podem influenciar sobre os fatores de risco associados a doenças comuns. Não é possível inferir os determinantes para a idade de início da doença e a variabilidade clínica, com isso a justificativa para tal se dá na observação dos fatores ambientais que influenciam sobre o indivíduo, o risco ou proteção predisponente, ou até mesmo uma segunda mutação ou polimorfismo podem interferir na evolução da doença (Collins e McKusick, 2001; Lima *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2007). Além da análise dos polimorfismos genéticos e na intenção de poder fornecer informações genéticas adicionais, faz-se importante a análise dos haplótipos. Os haplótipos são combinações de alelos de diferentes polimorfismos de um mesmo gene que são herdados em conjunto (Silva *et al.*, 2011).

Já foi comprovada a relação entre o transtorno depressivo, genes polimórficos e estresse e meio ambiente (Uher, 2014). Com isso em estudos tipo caso / controle que investigam efeitos da modificação genética do DNA, é, portanto, de suma importância também controlar a exposição ambiental, especialmente as exposições ambientais durante a infância (Menke e Binder, 2014).

Nos últimos anos, as pesquisas se concentraram cada vez mais na elucidação dos mecanismos genéticos implicados na depressão. Os estudos de associação em genoma completo (GWAS) avançaram a compreensão dos mecanismos genéticos de certos distúrbios psiquiátricos, mas ainda não foram suficientes para elucidar completamente as bases genéticas da depressão (Pearson *et al.*, 2016).

Para transtornos psiquiátricos a fisiopatologia ainda permanece obscura, com isso a maioria das hipóteses genéticas baseiam-se nos efeitos de medicamentos psiquiátricos na neurotransmissão de monoamina, focalizando particularmente em vários polimorfismos de vias funcionais; porém ainda nenhum estudo mostrou associação a um transtorno psiquiátrico

com um nível de significância que levaria à aceitação geral de uma descoberta (Cichon *et al.*, 2009).

1.6 *11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1*

A enzima escolhida para este estudo e consequentemente o gene, é a 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 1 (HSD11b1) esta é a enzima responsável pela conversão de cortisona em cortisol em diversos tecidos. Nos tecidos do hipotálamo e da hipófise, a expressão da HSD11b1 e da enzima HSD11b2 (que reconverte o cortisol em cortisona) fazem o controle fino da disponibilidade do cortisol (Tomlinson *et al.*, 2004). Animais knockout para a enzima HSD11b1 tem maiores níveis basais de ACTH e corticosterona, e uma resposta exacerbada ao stress, sugerindo uma redução no feedback via corticoides (Harris *et al.*, 2001). A enzima HSD11b1 é codificada pelo gene *HSD11b1* que contém 7 exons e está localizado na região 1q32.2 do cromossomo 1 dos seres humanos.

Um trabalho avaliou “*Tagging SNPs*” neste gene, e encontrou uma associação do polimorfismo **rs11119328** com maiores níveis de cortisol durante a noite, e maior risco para depressão (Dekker *et al.*, 2012). Outro polimorfismo, o **rs11811440** no intron 5 do gene HSD11B1 foi associado a maiores níveis de cortisol pós dexametasona em pacientes com osteoporose (Siggeikow *et al.*, 2014), podendo ser um bom candidato para associação com a depressão. Neste trabalho, aproveitou-se este conhecimento prévio sobre os polimorfismos citados e testamos nossa hipótese e análises no rs11119328 e rs11811440.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

- Buscar biomarcadores genéticos de predisposição à depressão.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a associação de polimorfismos no gene HSD11b1 com risco para depressão maior.
- Explorar a interação dos polimorfismos estudados com a exposição ambiental a estresse precoce e o risco para tentativa de suicídio.

3 Materiais e Métodos

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo transversal, observacional e caso-controle onde participaram do estudo os indivíduos que, após a explicação detalhada do trabalho, assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Pelo CAAE 50634615.3.0000.5393.

Foram estudados 108 indivíduos depressivos em seguimento no serviço de Saúde Mental do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Universidade de São Paulo), e 69 indivíduos saudáveis oriundos da população em geral.

3.2 Tamanho Amostral

O tamanho amostral deste estudo foi estimado utilizando o programa PGA (Menashe *et al.*, 2008) de forma a permitir a avaliação da associação de variantes genéticas relativamente mais raras com depressão, com $\alpha < 0.05$ e $\beta < 0.20$. Por exemplo, o alelo mais raro para um polimorfismo incluído no estudo ocorre com frequência esperada de 12%. Assim, para 100 pacientes, teríamos até dois indivíduos homozigotos para este genótipo,

viabilizando minimamente a comparação estatística (poder maior que 0.80) com o grupo controle para detectar uma razão de chances de 2.0 (Figura 2).

Figura 2: Cálculo de poder estatístico para estudos de associação com o programa PGA:

Para efetuar este cálculo usamos a frequência da doença (até 16% nos estados unidos (Fleck *et al.*, 2009)), a frequência do alelo mais raro que será estudado (12% no caso do SNP rs11119328), um grau de liberdade efetivo (EDF) igual a 1 (somente é possível calcular o grau efetivo após as genotipagens), um erro alfa de 0.05 e uma razão entre controles e casos =1 (100 controles para 100 casos), um risco relativo mínimo clinicamente relevante de 2.0, e assumimos que os alelos estudados são os causadores do efeito e/ou estão em desequilíbrio de ligação com o alelo funcional. Nota-se que uma vez que tivemos um número de controles menor que o idealizado (deviam ser 100 controles; coletamos 69), podemos incorrer em erro tipo 2 devido à falta de poder amostral.

3.3 Características do estudo

O diagnóstico de depressão foi realizado de acordo com os critérios diagnósticos do DSM-5 (Apa, 2014a) por psiquiatra colaborador da pesquisa. Os dados clínicos foram baseados em histórico médico, entrevistas, exames físicos e exames analíticos de rotina.

3.4 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão do grupo com depressão foram Idade entre 18 e 65 anos e diagnóstico médico de depressão. Os critérios de exclusão do grupo com depressão foram tabagismo pesado (acima de 25 cigarros por dia), doenças virais durante as duas últimas semanas, gravidez ou lactação, alcoolismo, doença física significativa (alergia grave, doença autoimune, hipertensão, câncer ou doenças hematológicas, endócrinas, pulmonares, renais, hepáticas, gastrointestinais, neurológicas ou psiquiátricas de causa orgânica). Os critérios de inclusão do grupo controle: Idade entre 18 e 65 anos, nenhum sintoma e nenhum diagnóstico psiquiátrico no decorrer da vida. Pai, mãe, irmãos ou filhos sem sintomas e ou diagnósticos psiquiátricos. Por fim, os critérios de exclusão do grupo controle: Diagnósticos psiquiátricos ou qualquer característica que possa remeter a transtornos psiquiátricos (triagem por escala) e o mesmo para: pai, mãe, irmãos ou filhos. Tabagismo pesado (acima de 25 cigarros por dia), doenças virais durante as duas últimas semanas, gravidez ou lactação, alcoolismo, doença física significativa (alergia grave, doença autoimune, hipertensão, câncer ou doenças hematológicas, endócrinas, pulmonares, renais, hepáticas, gastrointestinais, neurológicas ou psiquiátricas de causa orgânica).

3.5 Coleta de dados

As coletas de dados e materiais biológicos aconteceram duas vezes na semana em um período de um ano e dois meses no ambulatório de Transtornos do Humor (PQH) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde os pacientes tinham consulta psiquiátrica previamente agendada pelo serviço. Ao aguardo das consultas era feita a abordagem dos pacientes e o convite para participação na pesquisa. Previamente à abordagem era conversado com o psiquiatra responsável quais dos pacientes agendados para o dia tinham o perfil para inclusão na pesquisa e a partir daí feito o convite.

Quando do aceite à participação, após finalização da consulta psiquiátrica, o paciente era encaminhado para outro consultório onde dispunha-se de mesa e cadeiras para assinatura do TCLE, entrevista sociodemográfica e aplicação das escalas psiquiátricas e uma bancada com materiais necessários para aferição de pressão arterial não invasiva, coleta de sangue venoso periférico e processamento do sangue com centrífuga clínica, pipetas, eppendorfs, caixas térmicas com gelo seco ou nitrogênio líquido para armazenamento do material

biológico e equipamentos de proteção individual. O tempo médio de participação foi de uma hora por sujeito.

Para realização da pesquisa com os controles do estudo foi utilizado o laboratório de farmacogenética do Professor Riccardo Lacchini da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, onde em suas dependências já existe suporte fixo de todo instrumental e equipamentos necessários para aplicação da pesquisa.

3.6 Questionários e escalas

Neste estudo foi utilizado um questionário sociodemográfico para direcionamento do perfil e coleta de dados básicos do participante e foram utilizadas quatro escalas, Questionário Sobre Traumas na Infância (CTQ) (Bernstein *et al.*, 2003) com o objetivo de verificar existência de estresse precoce, a Escala de Avaliação de Depressão GRID de Hamilton (GRID-HAM-D) (Hamilton, 1960) para avaliar a intensidade dos sintomas depressivos, a Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (MINI-Plus) (Sheehan *et al.*, 1998) para definição e confirmação diagnóstica e a Escala de Ideação Suicida de Beck (Beck Scale for Suicide Ideation - BSI) para avaliação da gravidade da ideação suicida (Beck *et al.*, 1988). A coleta de dados se deu pela triagem dos sujeitos participantes seguida pela aplicação das escalas M.I.N.I., GRID-HAM-D e CTQ nos sujeitos controle e a aplicação da GRID-HAM-D e CTQ nos pacientes já previamente diagnosticados como depressivos.

As informações clínicas foram usadas para classificar os pacientes em grupos com ou sem depressão, e subdividir os pacientes com ou sem estresse precoce.

Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (Mini International Neuropsychiatric Interview – MINI-Plus)

O MINI é uma breve entrevista estruturada de diagnóstico desenvolvida na França e nos Estados Unidos para explorar 17 transtornos de acordo com os critérios diagnósticos e estatísticos (DSM) –V (Amorim, 2000; Ayhan *et al.*, 2017). É um instrumento para ser utilizado em pesquisas, na prática clínica, na gestão de programas de saúde e no ensino; o tempo estimado para resposta da entrevista gira em torno de 15 a 30 minutos (Amorim, 2000). Foi traduzida e adaptada para o português por Amorim (2000), sendo sua versão original de Sheehan *et al.* (1998). Escolhida para este estudo por abordar e facilitar a identificação de transtornos do humor e risco para suicídio.

Escala de Avaliação de Depressão GRID de Hamilton

A GRID-HAMD foi originalmente desenvolvida na língua inglesa e é o instrumento mais utilizado para medir a gravidade da depressão e as mudanças clínicas devido a intervenções terapêuticas, e tem sido considerado um padrão internacional para esse propósito (Henrique-Araujo *et al.*, 2014). A GRID-HAMD separa a frequência da intensidade do sintoma para a maioria dos itens, refina várias âncoras problemáticas e integra um guia de entrevista estruturada (Williams *et al.*, 2008). Neste estudo utilizamos a GRID-HAM-D de 21 itens traduzida e adaptada para o português por Henrique-Araújo et al. (2014).

Questionário Sobre Traumas na Infância (Childhood Trauma Questionnaire – CTQ)

O Questionário de Trauma da Infância (CTQ) foi utilizado para medir o maltrato infantil. Com 28 itens, compreende quatro subescalas: o abuso sexual (5 itens), abuso físico (5 itens), emocional Abuso (5 itens) e negligência (13 itens). Os itens são classificados usando uma escala de tipo Likert de 5 pontos (Bahk *et al.*, 2017). Indivíduos que apresentam escores de Moderado-Severo ou Severo-Extremo, em qualquer um dos subtipos, são considerados com estresse precoce (Bernstein *et al.*, 2003). Não é um instrumento diagnóstico, porém é útil na busca por histórias de maus-tratos infantis em adultos; também utilizado como instrumento de pesquisa, além de poder auxiliar como mais um elemento na avaliação clínica (Grassi-Oliveira *et al.*, 2006). A CTQ foi traduzida e adaptada para o português por Grassi-Oliveira et al. em 2006 e validado para a população brasileira pelos mesmos autores em 2014 sendo esta versão utilizada neste estudo.

Escala de Ideação Suicida de Beck (Beck Scale for Suicide Ideation - BSI)

Esta escala é composta por 21 itens para avaliar risco de ideação suicida em adultos que refletem em graus a gravidade de desejos, atitudes e planos suicidas. A medida permite obter um resultado total, que varia entre 0 e 38, no sentido de maior gravidade da ideação suicida (Almeida e Quintao, 2012). Neste estudo foi utilizada a Escala de Ideação Suicida de Beck (BSI) traduzida e adaptada para o português por Cunha (2001) (Cunha, 2001), sendo sua versão original de Beck et al. (1988). Esta escala não foi aplicada pelo nosso grupo, mas pelos nossos colaboradores que avaliaram isto em um trabalho paralelo e nos cederam resultados.

3.7 Coleta de material biológico

Após a aplicação destes questionários e escalas foi realizada a verificação da pressão arterial e coleta de 14 ml sangue venoso por punção periférica.

- 6 ml Tubo roxo EDTA
- 3 ml Tubo amarelo SORO
- 5 ml Tubo verde Heparina

Os tubos de soro, heparina e um tubo de EDTA foram processados em centrífuga clínica previamente montada na sala de coleta de sangue para que seja feita a separação do plasma e soro, estes são divididos e aliquotados em eppendorfs de 1,5 ml e imediatamente acondicionados em gelo seco; o último tubo com sangue total EDTA é separado em eppendorfs sem passar pela centrifugação. Sendo com este último material (Sangue Total EDTA) que se busca a identificação dos biomarcadores genéticos. Os outros materiais são utilizados para testes bioquímicos e futuras investigações. Todo esse material faz parte de um projeto maior, estruturado para coleta e armazenamento de amostras em biorrepositório específico em longo prazo. A presente dissertação tem autorização para uso das amostras do projeto maior, e a presente autora desta dissertação é uma das pessoas que compõem a equipe executora do projeto maior, sob responsabilidade do Prof. Dr. Riccardo Lacchini. No presente projeto, utilizamos sangue total-EDTA para extração de DNA, e o próprio DNA extraído.

Plasma e soro foram acondicionados em freezer -80 e sangue total e centrifugado (papa de hemácias) em freezer -20, ambos localizados no Laboratório de Farmacogenética (PGXlab) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, sob coordenação do Professor Doutor Riccardo Lacchini.

3.8 Experimentos laboratoriais

As amostras de sangue total EDTA são usadas para extração de DNA pela técnica de *salting out*:

Para a extração do DNA genômico foram preparadas três soluções: solução A, contendo Triton X a 1%, MgCl₂ a 5mM, sacarose a 0,32M e Tris-HCl a 10mM em pH 8;

solução B, contendo Na₂EDTA a 20mM, NaCl a 20mM e Tris-HCl a 20mM; solução C contendo SDS a 20%, 25µL de solução B 2X, 12,5µL de água e proteinase K (20mg/mL).

Em tubos eppendorfs de 1,5 e 2mL adicionamos 700µL de sangue total e 600µL de solução A. Após repouso de 15 minutos no gelo, os tubos foram centrifugados por 5 minutos à velocidade de 13000 rpm e 4°C. Descartamos o sobrenadante e completamos o tubo com solução A. Repetindo o processo até que o *pellet* se tornasse límpido. Adicionamos então 50µL de solução C mais 100µL de solução B e deixamos em repouso em banho-maria a 37°C por 12h. Na sequência, adicionamos 300µL de fenol, com posterior homogeneização e centrifugação.

A fase superior (aquosa) foi coletada e foram adicionados 150µL de fenol e 150µL de solução clorofórmio / álcool isoamílico (24:1), seguindo os mesmos passos da adição de fenol descrita acima. Em seguida temos mais um passo com 300µL de solução clorofórmio / álcool isoamílico (24:1). Uma vez retirada a fase aquosa, esta é acondicionada em novo tubo eppendorf. Adicionamos então 1/10 do volume de acetato de sódio 3M e dois volumes de etanol absoluto gelado (-20°C). Após homogeneização e centrifugação por 15 minutos à velocidade de 10000 g, armazenamos os tubos a -20°C por algumas horas.

Após o descarte do sobrenadante foram adicionados 100µL de etanol gelado a 70%, com posterior centrifugação e novo descarte do sobrenadante. Adicionamos então 100µL de água tipo 1 e deixamos em repouso em banho-maria à 37°C por 12h.

Posteriormente realizou-se a quantificação de DNA genômico em NanoDrop ND1000. O DNA é diluído em volume variável de água extra pura (tipo 1) para ficar com concentração de 5ng/ul de DNA e armazenado a -20°C.

As genotipagens dos dois SNPs foram realizadas utilizando técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) - Alelo Específico, as quais foram padronizadas em nosso laboratório. Os primers utilizados nas PCRs de cada polimorfismo foram desenhados por colaboradores do laboratório, utilizando a ferramenta Primer-BLAST da NCBI e o software Gene Runner 5.0. Após o desenho, os primers foram sintetizados pela empresa Sigma-Aldrich®.

Tabela 2: Oligonucleotídeos usados para ASO-PCR

rs11119328

Forward, alelo específico (C)	5'-CATGTTCTTTTCTGGAAAGGCTC-3'
Forward, alelo específico (A)	5'-CATGTTCTTTTCTGGAAAGGCTA-3'
Reverse	5'-GGTACAAATGATGGTAGAACCTTGC-3'
Forward, Controle Interno	5'-TAGGAATTCAGTTCTGCATCAGCC-3'
rs11811440	
Forward, alelo específico(A)	5'-GCGTATCTCACACAAAACACA-3'
Forward, alelo específico (C)	5'-GCGTATCTCACACAAAACACC-3'
Reverse	5'-GGTAAACAAGCACTCTAGGAATG-3'
Forward, Controle interno	5'-GTCCACATCTATCCACTATTAC-3'

Todos os primers foram projetados por nós, usando a ferramenta Primer Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), complementada por análise de dímeros e cálculos ΔG usando Gene Runner v6.1.01

Tabela 3 – Padronização da Solução da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

A reação de PCR seguiu as seguintes medidas para o rs11119328	A reação de PCR seguiu as seguintes medidas para o rs11811440
- Solução Tampão: 1,5 uL	- Solução Tampão: 1,5 uL
- MgCl ₂ : 0,46 uL	- MgCl ₂ : 0,45 uL
- DNTP: 1,45 uL	- DNTP: 1,5 uL
- Primer C: 0,09 uL	- Primer C: 0,09 uL
- Primer R: 0,31 uL	- Primer R: 0,45 uL
- Primer A: 0,39 uL	- Primer A: 0,38 uL
- Taq: 0,1 uL	- Taq: 0,1 uL
- H ₂ O: 9,0 uL.	- H ₂ O: 8,53 uL

Para a padronização das PCRs foi preciso determinar uma temperatura de anelamento ideal a ser utilizada na ciclagem da PCR de cada SNP. Com base na temperatura de melting (T_m) dos pares de primers (fornecida pelo fabricante) utilizados em cada PCR, estabeleceu-se um gradiente de temperatura de anelamento. Para cada polimorfismo, este gradiente foi testado em uma reação de PCR, variando-se em 1°C, entre as colunas do termociclador, a temperatura de anelamento utilizada na ciclagem.

Após a padronização, as PCRs dos dois polimorfismos seguiram basicamente o mesmo programa de ciclagem, alterando-se apenas a temperatura de anelamento dos primers para cada reação:

Tabela 4 – Padronização das temperaturas e ciclos no termociclador.

Polimorfismo rs11119328	Polimorfismo rs11811440
1 ciclo a 95°C por 5 minutos para desnaturação do DNA.	1 ciclo a 95°C por 5 minutos para desnaturação do DNA.
30 ciclos a 95°C por 30 segundos.	30 ciclos a 95°C por 30 segundos.
62°C por 30 segundos para anelamento dos primers.	59°C por 30 segundos para anelamento dos primers.
72°C por 30 segundos para extensão do produto;	72°C por 30 segundos para extensão do produto;
1 ciclo de 72°C por 5 minutos para garantir a extensão.	1 ciclo de 72°C por 5 minutos para garantir a extensão.

Os produtos de amplificação das PCRs foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% preparado com GelRed™, aplicando-se 3 µL da solução da PCR por poço, com tempo de corrida de 1 hora e 30 minutos a 150 W, 300 V e 100 mA.

Através de eletroforese em gel de agarose a 1,5% preparado com o corante fluorescente de ácidos nucleicos GelRed™, foram observadas as bandas dos produtos de amplificação nas diferentes temperaturas de anelamento. Após análise das bandas, selecionou-se, para a PCR de cada SNP, a temperatura de anelamento na qual a banda do produto de interesse (que contém o SNP) estava mais intensa e que continha nenhum ou poucos produtos de amplificação inespecíficos. Visando ainda a eliminação de produtos inespecíficos, foram ajustadas as concentrações dos primers e/ou de DNA genômico utilizadas na PCR de cada polimorfismo, quando necessário.

Figura 3 – Genotipagem do polimorfismo **rs11119328**

Nesta genotipagem observa-se a primeira banda como controle da reação, já as bandas a baixo da primeira verifica-se a presença ou não do alelo específico. Sendo DC seguido de um número de identificação de cada amostra; AC e CC amostras testes com genótipos já definidos em outras reações e BB identifica reações onde não foram adicionados DNA para mostrar a não contaminação por DNA externo.

Figura 4 - Genotipagem do polimorfismo **rs11811440**

Nesta genotipagem observa-se a primeira banda como controle da reação, já as bandas a baixo da primeira verifica-se a presença ou não do alelo específico. Sendo DC seguido de um número de identificação de cada amostra; CC e AA amostras testes com genótipos já definidos em outras reações e BB identifica reações onde não foram adicionados DNA para mostrar a não contaminação por DNA externo.

Análise estatística

A análise foi realizada em tabelas de contingência quando separamos duas variáveis categóricas e as comparamos. Quando uma das variáveis foi numérica, utilizamos o teste T de Student ou Mann-Whitney se essa variável fosse paramétrica ou não paramétrica, respectivamente. O desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg foi avaliado por testes de qui-quadrado. Os modelos multivariados foram construídos por uma análise sequencial de cada variável independente, avaliando se eles estavam associados a cada variável dependente. As variáveis numéricas não paramétricas foram transformadas em log. Nós selecionamos o modelo final com o r^2 mais alto e o erro quadrático médio mais baixo possível. As variáveis independentes incluídas em todos os modelos finais foram a idade, gênero, presença de estresse precoce e anos de educação (estudos). Os modelos que avaliaram apenas os pacientes também incluíram o tratamento farmacológico com cinco variáveis independentes: 1)

inibidores seletivos da receptação serotonina ou inibidores seletivos da receptação de serotonina e noradrenalina ou antidepressivos atípicos; 2) benzodiazepínicos ou ansiolíticos não benzodiazepínicos; 3) antidepressivos tricíclicos; 4) antipsicóticos (típicos ou atípicos); 5) estabilizadores de humor. A classificação do tratamento farmacológico em 5 mecanismos principais diferentes foi feita de acordo com psiquiátricas colaboradores do estudo. As variáveis dependentes foram dicotômicas como a presença de depressão, estado depressivo atual (escore de HAM-D21 <8), comportamento suicida (pelo menos uma tentativa de suicídio); ou contínuo, como pontuação HAM-D21, pontuação BSI e número de tentativas de suicídio. Os valores de P foram considerados significativos se $<0,05$, exceto quando a análise global não foi significativa.

Cálculos de análise de potência

Foram utilizados dois programas diferentes para estimar o poder de nossos testes estatísticos. Para avaliar o poder da análise caso-controle, utilizamos o software PGA v.2.0 (Menashe *et al.*, 2008). Para a análise da associação de marcadores genéticos com depressão, utilizamos o modelo de herança dominante, a frequência da doença (estimada em 16% nos Estados Unidos da América (Fleck *et al.*, 2009)), a frequência do alelo menor do caso rs11119328 (16%), número de 107, relação caso-controle de 0,62 (67controls / 107 pacientes), graus efetivos de liberdade de 1,39 (calculado com nossos dados genéticos crus com a ferramenta EDF no pacote PGA), potência 0,8 e alfa 0,05. Conseguimos detectar associações com um odds ratio (OR) superior a 2,27 com potência de 80%. Para a análise da associação de marcadores genéticos com comportamento suicida, utilizamos o modelo de herança dominante, a frequência de tentativas de suicídio relatadas entre pacientes depressivos na literatura (estimada em 15% (Sokero *et al.*, 2003)), a frequência do alelo menor do polimorfismo rs11119328 (16 %), Número de casos de 48 tentadores suicidas, relação de caso-controle de 1,2 (58 pacientes que nunca tentaram suicídio / 48 pacientes que tentaram suicídio), graus efetivos de liberdade de 1,39 (calculado com nossos dados brutos com a ferramenta EDF), potência 0,8 e alfa 0,05. Conseguimos detectar associações com OR superiores a 2.77 com o poder de 80%. Podemos ter sido insuficientes para detectar pequenos efeitos sutis, com OR abaixo dos mencionados acima.

Para cálculos de análise de regressão linear multivariada usamos o G * Power v. 3.1.9.2 (Faul *et al.*, 2009). Também apresentamos modelos com 11 variáveis independentes, $n = 107$, $r^2 = 0,25$ e alfa = 0,05. O poder nessa situação foi calculado como 0,94.

Para desenvolver a partir da estatística os resultados das análises laboratoriais foi usado o teste de regressão logística multivariada. Para tanto, utilizamos o software JMP® (SAS Institute, Cary, NC, EUA). Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4 Resultados

A tabela 5 sumariza as características clínicas, fenótipas e genótipas dos pacientes dos grupos.

Tabela 5 – Características clínicas dos pacientes estudados.

Características	Controles n=67	Depressivos n=107	P
Clínicas			
Idade (anos)	34 ± 15	44 ± 12	<0.001*
Gênero (fem.) n (%)	44 (66%)	91 (85%)	0.003*
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	26.6 ± 5.2	28.8 ± 7.3	0.043*
Educação (anos)	15.5 ± 3.4	10.1 ± 5.0	<0.001*
Estresse Precoce (sim) n(%)	7 (10%)	51 (48%)	<0.001*
Etnia (brancos)	38 (57%)	60 (56%)	0.933
Fumantes atuais	4 (6%)	13 (12%)	0.182
Consumidores de bebida alcoólica	1 (2%)	0 (0%)	0.205
Consumidores de drogas ilegais	0 (0%)	0 (0%)	1.000
História familiar de depressão (sim) n(%)	14 (21%)	83 (78%)	<0.001*
Tipo de Depressão			
Depressão Maior -		53 (50%)	-
Depressão Bipolar -		54 (50%)	-
Tratamento -			-

Farmacológico

ISRS ou ISRSN ou atípica (sim)	-	76 (71%)	-
Ansiolíticos (sim)	-	18 (17%)	-
Tricíclicos antidepressivos (sim)	-	6 (6%)	-
Antipsicóticos (sim)	-	8 (8%)	-
Estabilizadores do Humor (sim)	-	14 (13%)	-
Tentativas de Suicídio (n)	-	1.4 ± 2.2	-

*: Estatisticamente significativo.

Na tabela 5 observaram-se algumas diferenças entre grupos de Depressão e Controle, quanto à idade, distribuição de gênero, índice de massa corporal e anos de educação. Essas diferenças foram tomadas em consideração ao criar modelos de regressão multivariada, e todos os fatores que pareciam influenciar a associação entre os fenótipos de depressão e os genótipos estudados foram incluídos nos modelos finais. Além disso, encontram-se maior incidência de estresse precoce e história familiar de depressão entre pacientes depressivos quando comparados a indivíduos saudáveis ($P < 0,001$), que era o esperado. Outros fatores, como a etnia e o uso de substâncias (álcool, tabaco e abuso de drogas ilegais) não foram diferentes entre os grupos.

Tabela 6 – Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos saudáveis e depressivos.

Polimorfismos		Controles (n=67)	Depressivos (n=107)	Valor de P não ajustado	Não ajustado OR (95% CI)	Valor de P ajustado	Ajustado OR (95% CI)
rs11119328	CC	45 (0.67)	72 (0.67)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	22 (0.33)	35 (0.33)	0.986	0.99 (0.52 para 1.91)	0.404	0.53 (0.12 para 2.49)
rs11811440	CC	43 (0.64)	72 (0.67)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	24 (0.36)	35 (0.33)	0.673	0.87 (0.46 para 1.66)	0.525	1.61 (0.35 para 6.81)

OR, odds ratio; **95% CI**, 95% de intervalo de confiança. Os dados são expressos com o n (frequência). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Os valores da razão P e Odds foram corrigidos em uma análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, gênero, presença de estresse inicial e anos de educação. Parâmetros do modelo: $R^2 = 0,33$.

A Tabela 6 apresenta genótipos rs11119328 e rs11811440 em grupos de Controle e Depressivos. Não encontramos associação entre os genótipos e risco de depressão, nem com uma comparação direta (valores de P não ajustados), nem com um modelo de regressão logística multivariada corrigindo fatores de confusão.

Tabela 7 – Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com tentativas de suicídio.

Polimorfismos		Nenhuma tentativa de suicídio (n=58)	Uma ou mais tentativas de suicídio (n=48)	Valor de P não ajustado	Valor de OR não ajustado (95% CI)	Valor de P ajustado	Ajustado OR (95% CI)
rs11119328	CC	43 (0.75)	28 (0.58)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	15 (0.25)	20 (0.42)	0.085	2.05 (0.90 para 4.66)	0.045*	12.53 (1.39 para 292.0)
rs11811440	CC	40 (0.70)	31 (0.65)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	18 (0.30)	17 (0.35)	0.633	1.22 (0.54 para 2.75)	0.149	0.16 (0.01 para 1.46)

OR, odds ratio; **95% CI**, 95% de intervalo de confiança. Os dados são expressos com o n (frequência). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Um paciente foi excluído desta análise por falta de dados. Os valores de P e Odds Ratio foram corrigidos em uma análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, sexo, presença de estresse inicial, anos de escolaridade e tratamento com cada um dos seguintes grupos de drogas: 1) inibidores selectivos da absorção de serotonina ou seletivo e noradrenalina seletiva Inibidores de absorção ou antidepressivos atípicos; 2) benzodiazepínicos ou ansiolíticos não benzodiazepínicos; 3) antidepressivos tricíclicos; 4) antipsicóticos (típicos ou atípicos); 5) estabilizadores de humor. Parâmetros do modelo: $R^2 = 0,29$.

Na tabela 7, observa-se dentro do grupo de depressivos a frequência de genótipos dos polimorfismos rs11119328 e rs11811440 nos indivíduos depressivos sem tentativa de suicídio (N=58) e depressivos com ao menos uma tentativa de suicídio (N=48). Curiosamente, encontraram-se associações dos genótipos variantes do rs11119328 com maior risco de comportamento suicida (OR: 12,53, $P = 0,045$).

Tabela 8 - Distribuição de genótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com a presença de sintomas depressivos sob tratamento.

Polimorfismo		Humor eutímico (23)	Sintomas Depressivos (80)	Valor de P não ajustado	OR Não ajustado (95% CI)	Valor de P ajustado	OR Ajustado (95% CI)
rs11119328	CC	15 (0.65)	54 (0.68)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	8 (0.35)	26 (0.32)	0.837	0.90 (0.34 para 2.40)	0.171	6.72 (0.60 para 191.9)
rs11811440	CC	12 (0.52)	57 (0.71)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
	CA+AA	11 (0.48)	23 (0.29)	0.086	0.44 (0.17 para 1.14)	0.027*	0.05 (0.00 para 0.51)

OR, odds ratio; **95% CI**, 95% de intervalo de confiança. Os dados são expressos com o n (frequência). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante. Quatro pacientes foram excluídos desta análise por falta de dados. Os valores de P e Odds Ratio foram corrigidos em uma análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, sexo, presença de estresse inicial, anos de educação e tratamento com cada um dos seguintes grupos de drogas: 1) inibidores seletivos da recaptação de serotonina ou inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina ou antidepressivos atípicos; 2) benzodiazepínicos ou ansiolíticos não benzodiazepínicos; 3) antidepressivos tricíclicos; 4) antipsicóticos (típicos ou atípicos); 5) estabilizadores de humor. O humor eutímico foi definido como um escore de HAMD abaixo de 8. Parâmetros do modelo: $R^2 = 0,21$.

Na Tabela 8, observa-se dentro do grupo de depressivos a frequência de genótipos dos polimorfismos rs11119328 e rs11811440 nos indivíduos depressivos segundo a presença de sintomas depressivos ou eutímia de acordo com o tratamento. Também encontramos associação dos genótipos variantes do rs11811440 associados com risco reduzido de humor depressivo concomitante com o tratamento farmacológico otimizado (OR : 0,05, $P = 0,027$).

Tabela 9 – Análise de regressão linear multivariada mostrando a influência de rs11119328 e rs11811440 nas pontuações HAMD e BSI e número de tentativas de suicídio.

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes					
	HAMD score		BSI score		Número de Tentativas de Suicídio	
	R ² : 0,25	RMSE: 8,56	R ² : 0,34	RMSE: 6,80	R ² : 0,30	RMSE:1,88
Idade (anos)	-0,08	0,379	-0,19	0,013*	-0,04	0,057
Gênero (fem.)	-1,70	0,191	-0,48	0,638	-0,30	0,299
Educação (anos)	-0,51	0,015*	-0,74	<.001*	-0,13	0,004*
Estresse						
Precoce (sim)	+0,47	0,630	+1,78	0,022*	+0,50	0,022*
Tratamento Farmacológico						
ISRS ou ISRSN						
ou atípicos (sim)	+0,40	0,732	+0,26	0,777	+0,19	0,467
Ansiolíticos (sim)	+2,78	0,011*	+0,03	0,972	-0,21	0,362
Antidepressivos						
Tricíclicos (sim)	+1,34	0,253	+1,81	0,053	+0,78	0,003*
Antipsicóticos (sim)	+0,17	0,876	+0,74	0,387	+0,22	0,362
Estabilizadores do Humor (sim)	-0,27	0,811	-0,06	0,951	+0,10	0,684
Marcadores Genéticos						
<i>HSD11b1</i>						
rs11119328						
CC	-1,47	0,407	+0,75	0,595	-0,25	0,29

CA+AA	+1,47	0,407	-0,75	0,595	+0,25	0,529
<i>HSD11b1</i>						
rs11811440						
CC	+1,06	0,546	-0,77	0,584	+0,23	0,553
CA+AA	-1,06	0,546	+0,77	0,584	-0,23	0,553

HAMD: Escala de Depressão de Hamilton ; **BSI:** Escala Beck de Ideação Suicida ; **ISRS:** Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina; **ISRSN:** Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina e Noradrenalida; **R²:** proporção da variabilidade da média explicada pelo modelo atual; **RMSE:** Erro médio quadrado. P<0.05 estatisticamente significativo.

Na tabela 9 foi realizado modelos de regressão linear multivariada avaliando a associação de genótipos estudados com alterações no escore de HAMD, pontuação BSI e o número bruto de tentativas suicidas, porém não encontramos associações significativas.

Tabela 10 – Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos saudáveis e depressivos.

Haplótipos	Controles (n=134)	Depressivos (n=214)	Valor de P não ajustado	OR Não ajustado (95% CI)	Valor de P ajustado	OR ajustado (95% CI)
CC	106 (0.79)	169 (0.79)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
CA	5 (0.04)	10 (0.05)	0.686	1.25 (0.42 para 3.77)	0.434	2.71 (0.21 para 32.7)
AC	2 (0.01)	4 (0.02)	0.795	1.25 (0.23 para 6.97)	0.562	3.90 (0.08 para 801.5)
AA	21 (0.16)	31 (0.14)	0.803	0.93 (0.51 para 1.70)	0.168	0.24 (0.03 para 1.60)
Valor global de P não ajustado: 0.957				Valor global de P ajustado: 0.395		

OR, odds ratio; **95% CI,** 95% intervalo de confiança. Os dados são expressos como n (frequência). P <0,05 foi considerado estatisticamente significante. Os valores de P e Odds Ratio foram corrigidos em análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, gênero, presença de estresse precoce e anos de educação. Parâmetros do modelo: R² = 0,34;

A tabela 10 é referente a dados já apresentados onde foram analisados considerando a interação entre os dois polimorfismos estudados como haplótipos. Não se encontrou associação entre os haplótipos do gene HSD11b1 com a depressão.

Tabela 11 - Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com tentativas de suicídio.

Haplótipos	Nenhuma Tentativa de Suicídio (n=116)	Uma ou mais Tentativas de Suicídio (n=96)	Valor de P não ajustado	OR não ajustado (95% CI)	Valor de P ajustado	OR Ajustado (95% CI)
CC	94 (0.81)	73 (0.76)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
CA	7 (0.06)	3 (0.03)	0.395	0.55 (0.14 para 2.21)	0.355	0.25 (0.01 para 4.27)
AC	1 (0.01)	3 (0.03)	0.213	3.86 (0.39 para 37.9)	0.175	15.3 (0.36 para 1885)
AA	14 (0.12)	17 (0.18)	0.253	1.56 (0.72 para 3.38)	0.879	0.85 (0.10 para 6.72)
Valor global de P não ajustado: 0.299				Valor global de P ajustado: 0.381		

OR, odds ratio; **95% CI**, 95% de intervalo de confiança. Os dados são expressos com o n (frequência). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Um paciente (dois alelos) foi excluído desta análise devido a dados faltantes. Os valores de P e Odds Ratio foram corrigidos em uma análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, sexo, presença de estresse inicial, anos de escolaridade e tratamento com cada um dos seguintes grupos de drogas: 1) inibidores seletivos da recaptação de serotonina ou inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina ou antidepressivos atípicos; 2) benzodiazepínicos ou ansiolíticos não benzodiazepínicos; 3) antidepressivos tricíclicos; 4) antipsicóticos (típicos ou atípicos); 5) estabilizadores de humor. Parâmetros do modelo: $R^2 = 0,26$.

Na tabela 11 também observou-se resultados negativos também para comportamento suicida quando se analisou os haplótipos.

Tabela 12 - Distribuição de haplótipos de polimorfismos rs11119328 e rs11811440 em indivíduos depressivos de acordo com a presença de sintomas depressivos sob tratamento.

Haplótipos	Humor eutímico (46)	Sintomas Depressivos (160)	Não ajustado P	OR não ajustado (95% CI)	Valor de P ajustado	OR Ajustado (95% CI)
CC	33 (0.72)	129 (0.81)	–	1.00 (Referência)	–	1.00 (Referência)
CA	5 (0.11)	5 (0.03)	0.028	0.26 (0.07 para 0.94)	0.302	0.25 (0.02 para 3.48)
AC	1 (0.02)	3 (0.02)	0.821	0.77 (0.08 para 7.62)	0.877	1.38 (0.03 para 192.1)
AA	7 (0.15)	23 (0.14)	0.714	0.84 (0.33 para 2.13)	0.959	0.95 (0.10 para 7.79)
Valor global de P não ajustado: 0.187					Valor global de P ajustado: 0.325	

OR, odds ratio; **95% CI**, 95% intervalo de confiança. Os dados são expressos como n (frequência). $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante. Quatro pacientes (oito alelos) foram excluídos desta análise por falta de dados. P e Odds Os valores de Ratio foram corrigidos em uma análise multivariada logística considerando as seguintes variáveis independentes: idade, sexo, presença de estresse inicial, anos de educação e tratamento com cada um dos seguintes grupos de drogas: 1) inibidores seletivos da recaptação de serotonina ou inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina ou antidepressivos atípicos; 2) benzodiazepínicos ou ansiolíticos não benzodiazepínicos; 3) antidepressivos tricíclicos; 4) antipsicóticos (típicos ou atípicos); 5) estabilizadores de humor. O humor eutímico foi definido como um escore de HAMD abaixo de 8. Parâmetros do modelo: $R^2 = 0,15$;

Na tabela 12 Estes resultados negativos foram observados também sintomas depressivos embora observamos uma associação limiar do haplótipo CA com risco reduzido de sintomas depressivos sob tratamento (OR: 0,26, $P = 0,028$, no entanto, o valor P global para esta análise foi de 0,187 e isso não foi reproduzido quando se tomaram em consideração fatores de confusão - OR 0,25, $P = 0,302$).

Tabela 13 - Análise de regressão linear multivariada mostrando a associação de haplótipos rs11119328 e rs11811440 com escores de HAMD e BSI e número de tentativas de suicídio.

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes					
	HAMD score		BSI score		Número de tentativas de suicídio	
	R ² : 0,25	RMSE:8,29	R ² : 0,34	RMSE: 6,54	R ² :0,30	RMSE:1,82
Idade (anos)	-0,07	0,274	-0,19	<0,001*	-0,04	0,007*
Gênero (fem.)	-1,61	0,069	-0,53	0,450	-0,30	0,129
Educação (anos)	-0,50	0,001*	-0,75	<0,001*	-0,14	<0,001*
Estresse						
Precoce (sim)	+0,48	0,468	+1,70	0,001*	+0,48	0,001*
Tratamento						
Farmacológico						
ISRS ou ISRSN						
ou atípicos (sim)	+0,43	0,586	+0,26	0,683	+0,20	0,246
Ansiolíticos (sim)	+2,72	<0,001*	+0,05	0,924	-0,22	0,171
Antidepressivos						
Tricíclicos (sim)	+1,45	0,071	+1,81	0,004*	+0,78	<0,001*
Antipsicóticos (sim)	+0,19	0,798	+0,71	0,221	+0,22	0,173
Estabilizadores do Humor (sim)	-0,23	0,763	-0,06	0,923	+0,11	0,505
<i>HSD11b1</i>	Valor global de P		Valor global de P		Valor global de P	
haplótipos	ajustado: 0,791		ajustado: 0,499		ajustado: 0,981	
CC	+0,63	0,675	-0,23	0,850	-0,13	0,706
CA	-1,36	0,612	+3,01	0,155	-0,05	0,935
AC	-1,12	0,732	-2,99	0,248	+0,26	0,723
AA	+1,85	0,322	+0,21	0,888	-0,08	0,841

HAMD: Escala de Depressão de Hamilton; **BSI**: Escala Beck de ideação suicida; **ISRS**: Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina; **ISRSN**: Inibidores Seletivos de Recaptação de Serotonina e Noradrenalina; **R²**: Proporção da variabilidade da média explicada pelo modelo atual; **RMSE**: Erro quadrático médio. $P < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Finalmente na tabela 13, também avaliamos os haplótipos HSD11b1 que afetam os escores de HAMD e BSI e o número bruto de tentativas suicidas em modelos de regressão linear multivariada, no entanto, não se encontraram associações significativas.

5. Discussão

A depressão maior é uma condição psiquiátrica complexa e multifacetada, caracterizada por uma variedade de sintomas, incluindo um estado persistente de tristeza e desesperança, anedonia, distúrbios do sono, indecisão, capacidade reduzida de concentração e ideação suicida recorrente (Gauthier *et al.*, 2017). Sendo a doença psiquiátrica mais comum e uma das principais causas de incapacidade em todo o mundo, a depressão maior é hereditária e geneticamente complexa e heterogênea. (Bigdeli *et al.*, 2017). O conhecimento dos fatores genéticos subjacentes aos transtornos do humor é útil para um diagnóstico precoce e para a descoberta de novos tratamentos (Serretti, 2017).

A depressão é uma das principais doenças relacionadas à vida moderna. Está altamente associada ao aumento do risco de suicídios e representa um fardo para a qualidade de vida do paciente, sob a forma de preconceitos nas suas carreiras profissionais, questões familiares, incluindo divórcios entre outros pontos; e sintomas clínicos, como baixo entusiasmo, redução da tolerância à dor, sintomas gastrointestinais e outros (Apa, 2014a). Além disso, a depressão não possui biomarcadores diretos altamente relevantes que, se quantificados, se correlacionariam com alta sensibilidade e especificidade com a doença (Strawbridge *et al.*, 2017). Esses biomarcadores teriam uma importância fundamental para melhorar o atendimento dos pacientes. As estratégias atuais incluem investigar marcadores genéticos que poderiam prever a vulnerabilidade do paciente à depressão (Strawbridge *et al.*, 2017). A herdabilidade desta doença é alta (Lima Ivm, 2004), portanto, é reconhecido que fatores genéticos são importantes (Strawbridge *et al.*, 2017).

Em nosso estudo observou-se através das características clínicas dos participantes um maior número de mulheres depressivas, e uma menor escolaridade em comparação com o grupo controle. Fato este vindo de encontro com outros artigos que também mostram este perfil do gênero feminino sobre a depressão como um estudo holandês da depressão em idosos com uma amostra global de 510 pessoas sendo 331 delas do gênero feminino, apontando também uma menor escolaridade (Comijs *et al.*, 2015). Outro estudo que também traz características demográficas mostrando um maior número de mulheres depressivas é o de Zanello *et al.* (2017), onde do total de 352 participantes 219 eram mulheres (Zanello *et al.*, 2017).

A hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é uma das anormalidades neuroendócrinas mais consistentes observadas em pacientes com transtorno depressivo maior (Chang *et al.*, 2015).

O gene HSD11b1 que codifica a enzima HSD11b1, que é responsável por converter cortisona em cortisol, participa ativamente na regulação do eixo HPA, uma vez que é expressado no nível do tecido no hipotálamo (Moisan *et al.*, 1990) e na glândula pituitária (Tomlinson *et al.*, 2004).

Alguns polimorfismos atuantes no eixo HPA, como o rs11119328 levam os portadores deste fator genético a apresentarem um risco aumentado para desenvolver depressão (Dekker *et al.*, 2012). E o rs11811440 também foi associado a depressão em um estudo onde os pacientes foram expostos ao pós teste de supressão por dexametasona (Siggekkow *et al.*, 2014).

Curiosamente, um estudo verificou que as alterações hepáticas específicas do gene HSD11b1 não resultou em alterações significativas no fenótipo macroscópico de animais e que a atividade enzimática extra-hepática neste modelo representou até 40% dos ratos controles (Lavery *et al.*, 2012). Isso ressalta a importância desta atividade enzimática em tecidos que não o fígado. Fatores que influenciam a expressão ou atividade do gene 11 β -HSD1 podem influenciar fenótipos que dependem desta proteína. Já foi comprovado que os polimorfismos genéticos do gene HSD11b1 demonstraram estar associados a diabetes tipo 2 (Nair *et al.*, 2004), hipertensão (Franks *et al.*, 2004) e com depressão (Dekker *et al.*, 2012). Aqui estudamos dois polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) do gene HSD11b1, rs11119328 e rs11811440. Não há dados funcionais diretos desses SNPs, e ambos os polimorfismos estão localizados na região dos intróns. No entanto, eles podem ser funcionais,

ou pelo menos estarem em desequilíbrio de ligação com variantes funcionais. Isso ocorre porque há evidências mostrando aumento da produção de cortisol noturno com os genótipos variantes de rs11119328 (Dekker *et al.*, 2012), ao passo que mostrou-se que os portadores de genótipos variantes do polimorfismo rs11811440 reduziram os níveis de cortisol após o teste de supressão de dexametasona (Siggelkow *et al.*, 2014) em pacientes com osteoporose. Estes dados sugerem que os portadores do genótipo variante do polimorfismo rs11119328 e portadores do genótipo ancestral do polimorfismo rs11811440 podem ser vulneráveis a ter o seu eixo HPA e consequentemente a produção de Cortisol alterados, provavelmente por um feedback negativo defeituoso. Uma vez que o gene HSD11b1 regularia a disponibilidade do cortisol intracelular em tecidos responsáveis pelo feedback negativo no eixo HPA, os polimorfismos com efeito de perda de função podem prejudicar o feedback negativo do cortisol e, portanto, explicar níveis mais elevados de cortisol no plasma de pacientes depressivos. Esta sugestão é consistente com os dados onde ratos com alterações no gene HSD11b1, em que os hormônios dos eixos HPA, como os níveis basais de corticosterona e ACTH, eram altos em comparação com animais de tipo selvagem e após estímulos de estresse, as respostas de corticosterona e ACTH eram exageradamente altas nestes ratos nocaute comparados aos controles (Harris *et al.*, 2001).

A ideia de aumentar os níveis de cortisol associado à depressão tem sido amplamente estudada. Vários artigos relatam o cortisol associado à depressão maior (Strawbridge *et al.*, 2017). Além disso, alguns artigos afirmam que o Cortisol teria um padrão em "U", em que os níveis de cortisol alto e baixo no plasma estão relacionados ao aumento do risco de depressão ou outros fenótipos neurológicos (Bremmer *et al.*, 2007; Moriarty *et al.*, 2014). Sugeriu-se então que níveis baixos de cortisol pudessem estar associados especificamente à depressão melancólica (Juruena e Cleare, 2007), enquanto os pacientes com depressão atípica apresentariam níveis mais elevados de cortisol (Juruena e Cleare, 2007; Strawbridge *et al.*, 2017). Além disso, níveis elevados de cortisol foram associados com maior risco de suicídio em pacientes depressivos com menos de 40 anos (O'Connor *et al.*, 2016). Se considerarmos que o nosso grupo depressivo era relativamente jovem, esse risco aumentado de suicídio é consistente com os resultados que mostramos aqui para os portadores dos genótipos variantes do polimorfismo rs11119328 (que demonstraram apresentar níveis mais elevados de cortisol na literatura (Dekker *et al.*, 2012)) associados a um risco aumentado de suicídio.

Além disso, foi demonstrado na literatura que o aumento dos níveis plasmáticos de cortisol podem influenciar negativamente a resposta para a psicoterapia (Fischer *et al.*, 2017)

e a farmacoterapia (Anacker *et al.*, 2011) da depressão. Essa idéia também é consistente com nossos achados desde os genótipos variantes do rs11811440 (associado na literatura com menores níveis plasmáticos de cortisol após o tratamento com dexametasona (Siggelkow *et al.*, 2014)) foram associados aqui com o humor eutímico em pacientes depressivos sob tratamento.

Não foram encontradas associações entre a frequência dos genótipos dos polimorfismos explorados nos sujeitos da pesquisa, contudo ainda nenhum outro estudo caso controle avaliou a associação do rs11119328 com o rs11811440 no gene HSD11b1 para se desenvolver depressão e este foi o primeiro estudo que avaliou a possível influência de polimorfismos genéticos e haplótipos do gene HSD11b1 para possibilidade de se desenvolver depressão na população brasileira juntamente com análise do risco para se cometer suicídio na associação aos polimorfismos rs11119328 e rs11811440 deste mesmo gene. A análise de haplótipos pode ter maior contribuição na associação à susceptibilidade à doenças do que a análise de polimorfismos isolados (Crawford e Nickerson, 2005). Uma investigação mais próxima envolvendo a Galanina, um neuropeptídeo com efeito modulador direto na regulação do eixo HPA, também não encontrou relação caso controle dentro de uma amostra com mais de 541 pacientes internados com transtorno depressivo maior e 541 controles saudáveis (Unschuld *et al.*, 2010).

Outro estudo avaliou as associações de polimorfismos do hormônio da corticotrofina atuante no eixo HPA com a susceptibilidade para desenvolver depressão maior, associação com a resposta ao tratamento antidepressivo, e a interação gênero-ambiente com eventos estressores da vida; foram estudados 149 pacientes com depressão maior e 193 indivíduos controle. Nos pacientes também se avaliou a resposta ao tratamento com antidepressivos. Neste estudo, também não foram encontradas associações significativas para genótipos e os haplótipos para o risco de desenvolver depressão maior. Neste mesmo estudo após 4 e 8 semanas de tratamento, pacientes homozigoto que não sofreram fatores estressores, obtiveram-se valores significativamente maiores na avaliação de Depressão de Hamilton de 21 itens em comparação com pacientes portadores de um ou nenhum alelo. Sugerindo então que a corticotrofina que é intimamente modulada pelos fatores estressores da vida como o estresse precoce, pode estar associada aos resultados de tratamento antidepressivo em pacientes com depressão maior. (Chang *et al.*, 2015)

O risco para cometer suicídio também contemplou objetivos deste trabalho. Como já visto anteriormente, o comportamento suicida, que vai desde ideação suicida até tentativas de suicídio e suicídio completo, representam uma dimensão fatal da saúde mental (Mirkovic *et al.*, 2016). Como já mostrado nos resultados o alelo CA do polimorfismo rs11119328 reflete ser fator predisponente para o risco de se cometer suicídio, sendo então o alelo CC um fator protetor. Explorando outros polimorfismos do eixo HPA o estudo de Marie E. Breen, que investigou se o risco de tentativa de suicídio poderia ser atribuído em parte à interação entre uma história de abuso físicos e sexual na infância e variação genética na via do eixo HPA; analisou-se as interações entre genótipos em 235 SNPs em dezenove genes da via do eixo HPA com a história de abusos na infância em 631 sujeitos que tentaram suicídio e 657 sujeitos que não tentaram suicídio. No entanto, nenhuma das interações foi significativa (Breen *et al.*, 2015).

Os principais resultados que encontramos aqui são uma associação de genótipos variantes rs11119328 com maior risco de tentativas de suicídio e uma associação de genótipos variantes de rs11811440 com humor eutímico sob tratamento de depressão. Para o nosso conhecimento, esta é a primeira vez na literatura a mostrar as associações mencionadas acima, além de ser o primeiro a avaliar a associação rs11811440 com depressão, o primeiro a avaliar os haplotipos HSD11b1 sobre risco de depressão e fenótipos associados, e o primeiro a levar em consideração a influência do estresse precoce nas associações genéticas do gene HSD11b1.

Aqui não conseguimos reproduzir uma associação anteriormente descrita do polimorfismo rs11119328 com depressão, publicada pela Dekker e colaboradores (Dekker *et al.*, 2012). Uma possível explicação para isso pode ser o perfil dos pacientes que estudamos. Estudamos pacientes mais jovens, e uma população misturada, que tem suas origens influentes de populações caucasianas, africanas e indígenas, enquanto que esse estudo citado incluiu apenas pacientes caucasianos da Holanda (Hofman *et al.*, 2009). De fato, há diferenças nas frequências dos polimorfismos estudados em dados de caucasianos e africanos do projeto Hapmap: a frequência de alelos do rs11119328 (MAF) foi de 0,16 em caucasianos e 0,21 em africanos iorubanos e do rs11811440 (MAF) foi de 0,17 em caucasianos e apenas 0,02 em africanos (The International HapMap Project, 2003). Outro fator é que existem diferenças significativas nos procedimentos de fenotipagem dos pacientes e dos controles em ambos os estudos, o que também poderia ter explicado os diferentes resultados em ambos os artigos.

Este estudo tem pontos fortes que devem ser destacados: em primeiro lugar, o fenótipo incluído em ambos os grupos. Utilizamos o mesmo instrumento para o diagnóstico de pacientes psiquiátricos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e em todos os controles incluídos. Além disso, a maioria dos estudos de associação genética ignoram fatores ambientais importantes, como o estresse precoce. Uma vez que já se demonstrou que os traumas durante o desenvolvimento têm um impacto profundo no eixo HPA e estão intimamente relacionados com a depressão em adultos (Faravelli *et al.*, 2010; Juruena *et al.*, 2015), acreditamos que a avaliação do estresse precoce que realizamos significa um grau de maior qualidade do fenótipo estudado aqui quando comparado às outras obras. Além disso, embora tenhamos poucos números em ambos os grupos, selecionamos polimorfismos comuns e desenvolvemos nosso estudo com um modelo dominante em mente (o que melhora o poder estatístico quando comparado aos modelos aditivos ou recessivos). Como limitações do nosso estudo, devemos citar o baixo número de sujeitos incluídos. Isso pode ter nos impedido de encontrar associações genéticas mais sutis. Além disso, se esse número fosse maior, teríamos sido capazes de testar marcadores genéticos mais raros que não incluídos aqui por causa do poder estatístico. Finalmente, como este é um estudo estritamente observacional, descrevemos aqui a vasta complexidade dos tratamentos farmacológicos utilizados para a depressão. Se pudéssemos avaliar pacientes tratados apenas com um medicamento, poderíamos ter obtido dados mais fáceis de farmacogenética que poderiam nos ajudar a ampliar nossas conclusões para o sucesso da terapia medicamentosa.

6. Conclusão

Embora os resultados que mostramos aqui devem ser reproduzidos em outras populações antes de serem aplicados em clínicas, eles sustentam o gene HSD11b1 como um alvo interessante que pode ser útil no futuro como um biomarcador preditivo para fenótipos relacionados à depressão, como regressão de sintomas depressivos e tentativas de suicídio. Os benefícios de biomarcadores válidos são imensos, pois podem ajudar a tratar pacientes que já apresentam sintomas de doença. Além disso, esses biomarcadores também podem ajudar, dando meios para identificar sujeitos geneticamente vulneráveis e permitindo que os profissionais da saúde mental desenvolvam estratégias de prevenção especialmente adaptadas a este subgrupo de pacientes.

Concluimos que os genótipos do gene HSD11b1 estão associados a fenótipos importantes para o manejo da depressão: o risco de tentativas de suicídio e o risco de apresentar humor depressivo, apesar do tratamento otimizado.

7. Anexos

A – MINI PLUS: Capa da versão original que foi utilizada na coleta de dados desta dissertação.

M.I.N.I. PLUS

MINI INTERNATIONAL NEUROPSYCHIATRIC INTERVIEW

Brazilian Version 5.0.0

USA: D. Sheehan, J. Janavs, R. Baker, K. Hammett-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) : Patrícia 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 : pat.amorinha@gmail.com.br

M.I.N.I. Plus 5.0.0 (Julho, 2002)

ANEXO B- Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton (HAMD): Capa da versão original que foi utilizada na coleta de dados desta dissertação.

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, TPT255029, GRID HAMD 17 Item only, Portuguese-Brazil, Level 1 translation, 11/12/10

Exemplificação da Escala de Avaliação de Depressão de Hamilton (HAMD). (Utilizada versão completa para coleta de dados)

1. Humor deprimido

	Frequência			
Este item avalia sentimentos de tristeza, desesperança, desamparo e inutilidade. <i>Observação: Este não é uma avaliação global da doença depressiva.</i>	<i>Ausente</i> Não ocorre ou é clinicamente insignificante	<i>Ocasional</i> Infrequente; menos de três dias; até 30% da semana	<i>Grande parte do tempo</i> Frequentemente; 3 a 5 dias; 31% a 75% da semana	<i>Quase todo o tempo</i> Persistente; 6 a 7 dias; mais de 75% da semana
Intensidade dos sintomas				
<i>Ausente</i>	0			
Leve Sentimentos de tristeza, desencorajamento, baixa autoestima, pessimismo	0	1	1	2
Moderada Clareos sinais não verbais de tristeza (como tendência ao choro), sentimentos de desesperança, desamparo ou inutilidade sobre alguns aspectos da vida		1	2	3
Grave Tristeza intensa, choro, desesperança sobre a maioria dos aspectos da vida, sentimentos de completo desamparo ou inutilidade		2	3	4
Muito grave Tristeza extrema, desesperança ou desamparo intensivos		3	4	4

Como esteve o seu humor nesta última semana (comparado a quando você se sente bem)?

Você tem se sentido desanimado ou deprimido? Triste ou desesperançado?

Desamparado? Inútil?

(Você pode descrever como este sentimento tem sido para você? Quão ruim é o sentimento?)

O sentimento some totalmente se alguma coisa boa acontece?

(Ele desaparece totalmente ou é apenas menos intenso?)

Há quanto tempo você tem se sentido desta forma?

Como você está se sentindo sobre o futuro?

Você tem chegado a chorar? SE A RESPOSTA FOR SIM: Com que frequência?

Frequência

- Durante a última semana, quantas vezes você se sentiu assim?
- Por quanto tempo você se sentiu assim?
- Quantos dias na última semana?
(Forem todos os dias? Quanto tempo em cada dia?)

Observações:

Convenções

• Este item NÃO deve ser considerado uma medida global de gravidade depressiva. O item 1 avalia um dos vários sintomas fundamentais da depressão.

• Flutuações normais de humor sem significância clínica devem ser marcadas "0".

• Avalie o humor deprimido mesmo se o paciente atribuir o humor a problemas da vida real (por ex., deprimido em razão de emprego ruim, conflito matrimonial).

• Alguns pacientes descrevem sensações de humor diminuído sem reconhecer "tristeza" ou "depressão" (por ex., "desanimado", "para baixo", "entorpecido"). Avalie como sintomático.

• Sinais não verbais (por ex., postura curvada, contato visual infrequente, sombrio, expressão facial triste) também são considerados ao avaliar a gravidade.

• Não avalie humor raivoso, irritável ou ansioso neste item.

GRID-HAMD

1

PONTUAÇÃO DO ITEM:

TransPerfect, TPT255029, GRID HAMD 17 Item only, Portuguese-Brazil, Level 1 translation, 09/30/2010

ANEXO C- Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) Questionário Sobre Traumas na Infância (QUESI)

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.					

8. Apêndices

Apêndice A – Ficha Sociodemográfica

FICHA SOCIODEMOGRÁFICA

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____

Registro do HC: _____

Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____

Peso: _____ Altura: _____

Sexo: 1 - Feminino 2 - Masculino

Religião: 1 - Católica 2 - Evangélica 3 - Espírita 4 - Sem religião

5 – Outras, qual: _____

Estado civil: 1 - Solteiro 2 – Casado/Amasiado 3 - Viúvo

4 – Divorciado/Desquitado/Separado

Cor: 1 - Branco 2 - Pardo 3 - Preto 4 - Amarelo

Escolaridade: () analfabeto () fundamental () médio () superior

() completo () incompleto () outros: _____

Profissão: _____

1 - ativo 2 - desempregado 3 - afastado 4 - aposentado

Renda Pessoal: R\$ _____ Renda Familiar: R\$ _____

Filhos: () Sim () Não Número: _____

Abortos prévios: () Sim () Não Número: _____

Reside: 1 - sozinho 2 - família originária 3 - família conjugal 4 - cuidador

outros: _____

Adotado: () Sim () Não Gêmeo: () Sim () Não _____

Doenças Clínicas: () Sim () Não

() DM () HAS () Cardiopatias () outras: _____

Medicamentos em uso: () Sim () Não

Descrição e dosage	Tempo de uso

Uso de Anticoncepcional: () Sim () Não

Menopausa: () Sim () Não Reposição Hormonal: () Sim () Não

Tabagista atual: () Sim () Não tempo _____ n.º cigarros /dia _____

Tabagismo prévio: () Sim () Não

Etilista atual: () Sim () Não tempo _____ quantidade dose /dia _____

Etilismo prévio: () Sim () Não

tipo de bebida: _____

Drogas ilícitas atual: () Sim () Não tempo _____ quantidade dose /dia _____

Uso prévio de drogas ilícitas: () Sim () Não

tipo: _____

Tratamentos Psiquiátricos Prévios: () Sim () Não

Internações Psiquiátricas Prévias: () Sim () Não

Tentativa de Suicídio Prévios: () Sim () Não n.º de tentativas _____

Doença mental na família: () Sim () Não qual(ais) familiar(es) e qual(ais) diagnóstico(s)

Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto grande sob responsabilidade do Prof. Dr. Riccardo Lacchini.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - **PACIENTE**

“Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para desenvolvimento de depressão maior na população brasileira”

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo cujos detalhes são:

- 1) Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, que tem como finalidade proteger eticamente os participantes de pesquisas. Este projeto pretende estudar algumas variações comuns de alguns dos seus genes (que transmitem características hereditárias) que podem estar associadas a uma vulnerabilidade natural à depressão. Além disso, pretendemos estudar como estas variações podem modificar as quantidades de algumas substâncias produzidas pelo seu organismo presentes no seu sangue. Isto poderá nos auxiliar no entendimento da depressão.
- 2) Sua participação neste estudo será: Serão retirados, em dois momentos, 30 mL do seu sangue, por punção venosa utilizando técnica adequada. Este volume de sangue é cerca de 20 (vinte) vezes menor do que o volume de sangue habitualmente doado quando um indivíduo doa sangue para bancos de sangue, e equivale a duas colheres de sopa. Este sangue será usado para todos os estudos laboratoriais mencionados acima. Serão feitas entrevistas de até duas horas de duração abordando assuntos relativos ao seu humor, episódios estressantes de seu passado, histórico familiar, entre outros assuntos pertinentes ao projeto e dados do seu prontuário do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto ou do Hospital Dia serão obtidos citando, por exemplo, nível de glicose sanguínea, medicamentos em uso, ou outras informações clínicas relevantes.
- 3) Seu material genético (DNA) será coletado, depositado, armazenado em um biorrepositório por até dez anos sob responsabilidade do coordenador do projeto. Após este período seu material genético poderá ser destruído. A qualquer momento você pode solicitar que suas amostras biológicas sejam devolvidas ou destruídas. O uso deste material será com fins unicamente de pesquisa relacionada à análise das informações genéticas contidas na amostra.
- 4) Você tem garantido o conhecimento dos resultados obtidos com a utilização do seu material biológico e às orientações quanto as suas implicações, incluindo aconselhamento genético quando aplicável, a qualquer tempo.
- 5) Você tem direito à indenização caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa. Além disso, você terá direito a ressarcimento financeiro caso ocorram gastos

gerados exclusivamente pela sua participação como voluntário desta pesquisa, tendo como exemplo o transporte e alimentação, estendendo-se ao paciente e acompanhante, conforme as leis vigentes no país.

6) Os riscos físicos decorrentes da pesquisa são apenas os causados pela coleta de sangue por punção intravenosa. Pode ocorrer dor e formação de hematoma no local da punção. Se isto ocorrer, a equipe está orientada a aguardar sua absorção espontânea e utilizar compressas frias para amenizar a dor local. Além disto, há o risco de gerar tristeza e/ou ansiedade devido a perguntas de caráter pessoal contidas nos instrumentos de avaliações usados. Asseguramos, no entanto, que você pode retirar seu consentimento e interromper sua participação no estudo sem qualquer prejuízo. Além disso, se você apresentar ansiedade ou tristeza ao responder as perguntas, será oferecido apoio pela equipe envolvida na coleta, e se isto não for suficiente, entraremos em contato com a equipe médica. O paciente que venha participar dessa pesquisa, caso tenha algum dano decorrente da pesquisa, não abre mão dos seus direitos de indenização de acordo com as leis vigentes no país.

7) NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTA PESQUISA.

8) Indiretamente, acreditamos que este estudo trará como benefício um entendimento dos aspectos hereditários da depressão.

9) Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos voluntários nela envolvidos.

10) Você pode retirar o seu consentimento para participar deste estudo a qualquer momento, inclusive sem justificativas e sem qualquer prejuízo para você.

11) Você terá a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa e o procedimento a que será submetido. Qualquer questão a respeito do estudo ou de sua saúde deve ser dirigida ao Prof. Dr. Riccardo Lacchini do Departamento de Enfermagem Psiquiátrica e Ciências Humanas (EERP) e ao Prof. Dr. Mário Francisco Pereira Juruena do Departamento de Psiquiatria (FMRP). O telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da EERP é 16-3315-3386 (horário de funcionamento de segunda à sexta, das 8h às 17h) e o endereço é: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Avenida dos Bandeirantes, 3900, Campus Universitário - Bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP – Brasil, CEP: 14040-902.

Eu, _____, abaixo assinado, declaro que em ____/____/____ fui informado em detalhes pelo pesquisador responsável sobre os objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e benefícios, à forma de ressarcimento no caso de eventuais despesas, bem como à indenização quanto por danos decorrentes da pesquisa. Declaro que tenho pleno

conhecimento dos direitos e das condições que me foram asseguradas e acima relacionadas. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Assinatura do investigador/testemunha

Responsáveis: Prof. Dr. Riccardo Lacchini (FMRP-USP) (0xx16 3315 3447) e Prof. Dr. Mário Francisco Pereira Juruena (FMRP-USP) (0xx16 3630 7961)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - **CONTROLE**

“Efeito de polimorfismos genéticos sobre o risco para desenvolvimento de depressão maior na população brasileira”

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo cujos detalhes são:

1) Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, que tem como finalidade proteger eticamente os participantes de pesquisas. Este projeto pretende estudar algumas variações comuns de alguns dos seus genes (que transmitem características hereditárias) que podem estar associadas a uma vulnerabilidade natural à depressão. Além disso, pretendemos estudar como estas variações podem modificar as quantidades de algumas substâncias produzidas pelo seu organismo presentes no seu sangue. Isto poderá nos auxiliar no entendimento da depressão.

2) Sua participação neste estudo será: Serão retirados, em dois momentos, 30 mL do seu sangue, por punção venosa utilizando técnica adequada. Este volume de sangue é cerca de 20 (vinte) vezes menor do que o volume de sangue habitualmente doado quando um indivíduo doa sangue para bancos de sangue, e equivale a duas colheres de sopa. Este sangue será usado para todos os estudos laboratoriais mencionados acima. Serão feitas entrevistas de até duas horas de duração abordando assuntos relativos ao seu humor, episódios estressantes de seu passado, histórico familiar, entre outros assuntos pertinentes ao projeto. Você entrará no

grupo de indivíduos saudáveis. Seus dados obtidos durante a coleta ou em algum momento posterior serão usados para comparação com o grupo de indivíduos depressivos.

3) Seu material genético (DNA) será coletado, depositado, armazenado em um biorrepositório por até dez anos sob responsabilidade do coordenador do projeto. Após este período seu material genético poderá ser destruído. A qualquer momento você pode solicitar que suas amostras biológicas sejam devolvidas ou destruídas. O uso deste material será com fins unicamente de pesquisa relacionada à análise das informações genéticas contidas na amostra.

4) Você tem garantido o conhecimento dos resultados obtidos com a utilização do seu material biológico e às orientações quanto as suas implicações, incluindo aconselhamento genético quando aplicável, a qualquer tempo.

5) Você tem direito à indenização caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa. Além disso, você terá direito a ressarcimento financeiro caso ocorram gastos gerados exclusivamente pela sua participação como voluntário desta pesquisa, tendo como exemplo o transporte e alimentação, estendendo-se ao paciente e acompanhante, conforme as leis vigentes no país.

6) Os riscos físicos decorrentes da pesquisa são apenas os causados pela coleta de sangue por punção intravenosa. Pode ocorrer dor e formação de hematoma no local da punção. Se isto ocorrer, a equipe está orientada a aguardar sua absorção espontânea e utilizar compressas frias para amenizar a dor local. Além disso, há o risco de gerar tristeza e/ou ansiedade devido a perguntas de caráter pessoal contidas nos instrumentos de avaliações usados. Asseguramos, no entanto, que você pode retirar seu consentimento e interromper sua participação no estudo sem qualquer prejuízo. Além disso, se você apresentar ansiedade ou tristeza ao responder as perguntas, será oferecido apoio pela equipe envolvida na coleta, e se isto não for suficiente, entraremos em contato com a equipe médica. O paciente que venha participar dessa pesquisa, caso tenha algum dano decorrente da pesquisa, não abre mão dos seus direitos de indenização de acordo com as leis vigentes no país.

7) NÓS NÃO PODEMOS E NÃO GARANTIREMOS QUE VOCÊ RECEBERÁ QUALQUER BENEFÍCIO DIRETO DESTE ESTUDO.

8) Indiretamente, acreditamos que este estudo trará como benefício um entendimento dos aspectos hereditários da depressão.

9) Qualquer dado que possa ser publicado posteriormente em revistas científicas, não revelará a sua identidade. Entretanto, órgãos governamentais ligados à saúde podem solicitar informações a respeito da pesquisa e identidade dos voluntários nela envolvidos.

10) Você pode retirar o seu consentimento para participar deste estudo a qualquer momento, inclusive sem justificativas e sem qualquer prejuízo para você.

11) Você terá a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações

relacionadas com a pesquisa e o procedimento a que será submetido. Qualquer questão a respeito do estudo ou de sua saúde deve ser dirigida ao Prof. Dr. Riccardo Lacchini do Departamento de Enfermagem Psiquiátrica e Ciências Humanas (EERP) e ao Prof. Dr. Mário Francisco Pereira Juruena do Departamento de Psiquiatria (FMRP). O telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da EERP é 16-3315-3386 (horário de funcionamento de segunda à sexta, das 8h às 17h) e o endereço é: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Avenida dos Bandeirantes, 3900, Campus Universitário - Bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto - SP – Brasil, CEP: 14040-902.

Eu, _____, abaixo assinado, declaro que em ____/____/____ fui informado em detalhes pelo pesquisador responsável sobre os objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e benefícios, à forma de ressarcimento no caso de eventuais despesas, bem como à indenização quanto por danos decorrentes da pesquisa. Declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram asseguradas e acima relacionadas. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar do referido projeto.

Ribeirão Preto, _____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Assinatura do investigador/testemunha

Responsáveis: Prof. Dr. Riccardo Lacchini (FMRP-USP) (0xx16 3315 3329) e Prof. Dr. Mário Francisco Pereira Juruena (FMRP-USP) (0xx16 3630 7961)

Referências

ALBERT, P. R. What is a functional genetic polymorphism? Defining classes of functionality. **J Psychiatry Neurosci**, v. 36, n. 6, p. 363-5, Nov 2011. ISSN 1488-2434 (Electronic)

1180-4882 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22011561> >.

ALMEIDA, L.; QUINTAO, S. [Depression and suicidal ideation in elderly institutionalized and non-institutionalized in Portugal]. **Acta Med Port**, v. 25, n. 6, p. 350-8, Nov-Dec 2012. ISSN 1646-0758 (Electronic)

0870-399X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23534586> >.

ALVES, V. D. M. et al. Evaluation of the quality of life and risk of suicide. **Clinics**, v. 71, p. 135-139, 2016. ISSN 1807-5932. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322016000300135&nrm=iso >.

AMORIM, P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, p. 106-115, 2000. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462000000300003&nrm=iso >.

ANACKER, C. et al. The glucocorticoid receptor: pivot of depression and of antidepressant treatment? **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 3, p. 415-25, Apr 2011. ISSN 1873-3360 (Electronic)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20399565> >.

APA. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. ARTMED. Porto Alegre 5ª ed.

2014a.

_____. **Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais**. . **Porto Alegre: Artmed**, n. 5ª ed. , 2014b.

ARAÚJO, Á. C.; LOTUFO NETO, F. A nova classificação Americana para os Transtornos Mentais: o DSM-5. **Revista Brasileira de Terapia Comportamental e Cognitiva**, v. 16, p. 67-82, 2014. ISSN 1517-5545. Disponível em: < http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-55452014000100007&nrm=iso >.

AUCHEWSKI, L. et al. [Evaluation of the medical orientation for the benzodiazepine side effects]. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 26, n. 1, p. 24-31, Mar 2004. ISSN 1516-4446 (Print)

1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15057836> >.

AYHAN, G. et al. Suicide risk among prisoners in French Guiana: prevalence and predictive factors. **BMC Psychiatry**, v. 17, n. 1, p. 156, May 02 2017. ISSN 1471-244X (Electronic)

1471-244X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28464856> >.

BAES, C. et al. Early Life Stress in Depressive Patients: HPA Axis Response to GR and MR Agonist. **Front Psychiatry**, v. 5, p. 2, 2014. ISSN 1664-0640 (Print)

1664-0640 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24478730> >.

BAES, C. V. W. A. J., MARIO FRANCISCO. . Pharmacotherapy for general practitioners. **Medicina (Ribeirão Preto, Online.)**, v. 50(Supl.1),jan-fev.:22-36, 2017.

BAHK, Y. C. et al. The Relationship between Childhood Trauma and Suicidal Ideation: Role of Maltreatment and Potential Mediators. **Psychiatry Investig**, v. 14, n. 1, p. 37-43, Jan 2017. ISSN 1738-3684 (Print)

1738-3684 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28096873> >.

BECK, A. T.; STEER, R. A.; RANIERI, W. F. Scale for Suicide Ideation: psychometric properties of a self-report version. **J Clin Psychol**, v. 44, n. 4, p. 499-505, Jul 1988. ISSN 0021-9762 (Print)

0021-9762 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3170753> >.

BERNSTEIN, D. P. et al. Development and validation of a brief screening version of the Childhood Trauma Questionnaire. **Child Abuse Negl**, v. 27, n. 2, p. 169-90, Feb 2003. ISSN 0145-2134 (Print)

0145-2134 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12615092> >.

BIGDELI, T. B. et al. Genetic effects influencing risk for major depressive disorder in China and Europe. **Transl Psychiatry**, v. 7, n. 3, p. e1074, Mar 28 2017. ISSN 2158-3188 (Electronic)

2158-3188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28350396> >.

BOING, A. F. et al. Associação entre depressão e doenças crônicas: um estudo populacional. **Revista de Saúde Pública**, v. 46, p. 617-623, 2012. ISSN 0034-8910. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102012000400005&nrm=iso >.

BONDAR, N. P.; MERKULOVA, T. I. Brain-derived neurotrophic factor and early-life stress: Multifaceted interplay. **J Biosci**, v. 41, n. 4, p. 751-758, Dec 2016. ISSN 0973-7138 (Electronic)

0250-5991 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27966494> >.

BRAGA, L. D. L.; DELL'AGLIO, D. D. Suicídio na adolescência: fatores de risco, depressão e gênero. **Contextos Clínicos**, v. 6, p. 2-14, 2013. ISSN 1983-3482. Disponível em: < http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-34822013000100002&nrm=iso >.

BRASIL, H. H. A.; BELISÁRIO FILHO, J. F. Psicofarmacoterapia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, p. 42-47, 2000. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462000000600012&nrm=iso >.

BREEN, M. E. et al. Investigating the role of early childhood abuse and HPA axis genes in suicide attempters with bipolar disorder. **Psychiatr Genet**, v. 25, n. 3, p. 106-11, Jun 2015. ISSN 1473-5873 (Electronic)

0955-8829 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25714448> >.

BREMMER, M. A. et al. Major depression in late life is associated with both hypo- and hypercortisolemia. **Biol Psychiatry**, v. 62, n. 5, p. 479-86, Sep 01 2007. ISSN 0006-3223 (Print)

0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17481591> >.

BURKE, H. M. et al. Depression and cortisol responses to psychological stress: a meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 9, p. 846-56, Oct 2005. ISSN 0306-4530 (Print)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15961250> >.

CASTRO, M.; MOREIRA, A. C. Diagnóstico Laboratorial da Síndrome de Cushing. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, p. 97-105, 2002. ISSN 0004-2730. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302002000100014&nrm=iso >.

CASTRO, M.; MOREIRA, A. C. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47, p. 358-367, 2003. ISSN 0004-2730. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302003000400008&nrm=iso >.

CHANG, H. S. et al. Association analysis for corticotropin releasing hormone polymorphisms with the risk of major depressive disorder and the response to antidepressants. **Behav Brain Res**, v. 292, p. 116-24, Oct 01 2015. ISSN 1872-7549 (Electronic)

0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26055202> >.

CICHON, S. et al. Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. **Am J Psychiatry**, v. 166, n. 5, p. 540-56, May 2009. ISSN 1535-7228 (Electronic)

0002-953X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19339359> >.

COLLINS, F. S.; MCKUSICK, V. A. Implications of the Human Genome Project for medical science. **JAMA**, v. 285, n. 5, p. 540-4, Feb 07 2001. ISSN 0098-7484 (Print)

0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11176855> >.

COMIJS, H. C. et al. The two-year course of late-life depression; results from the Netherlands study of depression in older persons. **BMC Psychiatry**, v. 15, p. 20, Feb 12 2015. ISSN 1471-244X (Electronic)

1471-244X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25775143> >.

COZMA, S. et al. Salivary cortisol and $\pm$ -amylase: subclinical indicators of stress as cardiometabolic risk. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, 2017. ISSN 0100-879X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2017000200201&nrm=iso >.

CRAWFORD, D. C.; NICKERSON, D. A. Definition and clinical importance of haplotypes. **Annu Rev Med**, v. 56, p. 303-20, 2005. ISSN 0066-4219 (Print)

0066-4219 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15660514> >.

CUNHA, J. A. **Manual da versão em português das Escalas Beck**. . 2001.

DE FAZIO, P. et al. Lithium in late-life mania: a systematic review. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 13, p. 755-766, 2017. ISSN 1176-6328 (Print)

1176-6328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28331326> >.

DEKKER, M. J. et al. The effect of common genetic variation in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 on hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and incident depression. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 2, p. E233-7, Feb 2012. ISSN 1945-7197 (Electronic)

0021-972X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22112815> >.

FARAVELLI, C. et al. Childhood traumata, Dexamethasone Suppression Test and psychiatric symptoms: a trans-diagnostic approach. **Psychol Med**, v. 40, n. 12, p. 2037-48, Dec 2010. ISSN 1469-8978 (Electronic)

0033-2917 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20132583> >.

FAUL, F. et al. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. **Behav Res Methods**, v. 41, n. 4, p. 1149-60, Nov 2009. ISSN 1554-3528 (Electronic)

1554-351X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19897823> >.

FERGUSON, E. H. et al. HPA axis reactivity to pharmacologic and psychological stressors in euthymic women with histories of postpartum versus major depression. **Arch Womens Ment Health**, v. 20, n. 3, p. 411-420, Jun 2017. ISSN 1435-1102 (Electronic)

1434-1816 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28251369> >.

FILGUEIRAS, J. C.; HIPPERT, M. I. S. A polêmica em torno do conceito de estresse. **Psicologia: Ciência e Profissão**, v. 19, p. 40-51, 1999. ISSN 1414-9893. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-98931999000300005&nrm=iso >.

FISCHER, S. et al. Cortisol as a predictor of psychological therapy response in depressive disorders: systematic review and meta-analysis. **Br J Psychiatry**, v. 210, n. 2, p. 105-109, Feb 2017. ISSN 1472-1465 (Electronic)

0007-1250 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27908897> >.

FLECK, M. P. et al. [Review of the guidelines of the Brazilian Medical Association for the treatment of depression (Complete version)]. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 31 Suppl 1, p. S7-17, May 2009. ISSN 1516-4446 (Print)

1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19565151> >.

FLINT, J.; KENDLER, K. S. The genetics of major depression. **Neuron**, v. 81, n. 3, p. 484-503, Feb 05 2014. ISSN 1097-4199 (Electronic)

0896-6273 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24507187> >.

FRANKS, P. W. et al. Interaction between an 11betaHSD1 gene variant and birth era modifies the risk of hypertension in Pima Indians. **Hypertension**, v. 44, n. 5, p. 681-8, Nov 2004. ISSN 1524-4563 (Electronic)

0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15452033> >.

GAUTHIER, G. et al. Treatment patterns, healthcare resource utilization, and costs following first-line antidepressant treatment in major depressive disorder: a retrospective US claims database analysis. **BMC Psychiatry**, v. 17, n. 1, p. 222, Jun 19 2017. ISSN 1471-244X (Electronic)

1471-244X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28629442> >.

GERRITSEN, L. et al. HPA Axis Genes, and Their Interaction with Childhood Maltreatment, are Related to Cortisol Levels and Stress-Related Phenotypes. **Neuropsychopharmacology**, Jun 07 2017. ISSN 1740-634X (Electronic)

0893-133X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28589964> >.

GRASSI-OLIVEIRA, R.; STEIN, L. M.; PEZZI, J. C. [Translation and content validation of the Childhood Trauma Questionnaire into Portuguese language]. **Rev Saude Publica**, v. 40, n. 2, p. 249-55, Apr 2006. ISSN 0034-8910 (Print)

0034-8910 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16583035> >.

HAMILTON, M. A rating scale for depression. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 23, p. 56-62, Feb 1960. ISSN 0022-3050 (Print)

0022-3050 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14399272> >.

HARRIS, H. J. et al. Intracellular regeneration of glucocorticoids by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11beta-HSD)-1 plays a key role in regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: analysis of 11beta-HSD-1-deficient mice. **Endocrinology**, v. 142, n. 1, p. 114-20, Jan 2001. ISSN 0013-7227 (Print)

0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11145573> >.

HEIM, C. et al. Pituitary-adrenal and autonomic responses to stress in women after sexual and physical abuse in childhood. **JAMA**, v. 284, n. 5, p. 592-7, Aug 02 2000. ISSN 0098-7484 (Print)

0098-7484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10918705> >.

HENEIN, F. et al. A Prospective Study of Antidepressant Adherence and Suicidal Ideation Among Adults. **Prim Care Companion CNS Disord**, v. 18, n. 6, Nov 17 2016. ISSN 2155-7780 (Electronic)

2155-7780 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27907275> >.

HENRIQUE-ARAUJO, R. et al. 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. **Innov Clin Neurosci**, v. 11, n. 7-8, p. 10-8, Jul 2014. ISSN 2158-8333 (Print)

2158-8333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25337441> >.

HERMAN, J. P. et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. **Compr Physiol**, v. 6, n. 2, p. 603-21, Mar 15 2016. ISSN 2040-4603 (Electronic)

2040-4603 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27065163> >.

HERMAN, J. P. et al. Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. **Mol Endocrinol**, v. 3, n. 11, p. 1886-94, Nov 1989. ISSN 0888-8809 (Print)

0888-8809 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2558306> >.

HOFMAN, A. et al. The Rotterdam Study: 2010 objectives and design update. **Eur J Epidemiol**, v. 24, n. 9, p. 553-72, 2009. ISSN 1573-7284 (Electronic)

0393-2990 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19728115> >.

HOLSBOER, F. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 5, p. 477-501, Nov 2000. ISSN 0893-133X (Print)

0893-133X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11027914> >.

HUANG, X. et al. Demographics as predictors of suicidal thoughts and behaviors: A meta-analysis. **PLoS One**, v. 12, n. 7, p. e0180793, 2017. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28700728> >.

The International HapMap Project. **Nature**, v. 426, n. 6968, p. 789-96, Dec 18 2003. ISSN 1476-4687 (Electronic)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14685227> >.

IORIO, C. R. D. et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis genetic variation and early stress moderates amygdala function. **Psychoneuroendocrinology**, v. 80, p. 170-178, Jun 2017. ISSN 1873-3360 (Electronic)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28364727> >.

JURUENA, M. F. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. **Epilepsy Behav**, v. 38, p. 148-59, Sep 2014. ISSN 1525-5069 (Electronic)

1525-5050 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24269030> >.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J. [Overlap between atypical depression, seasonal affective disorder and chronic fatigue syndrome]. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 29 Supl 1, p. S19-26, May 2007. ISSN 1516-4446 (Print)

1516-4446 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17546343> >.

JURUENA, M. F.; CLEARE, A. J.; PARIANTE, C. M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 26, p. 189-201, 2004. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462004000300009&nrm=iso >.

JURUENA, M. F. et al. Early life stress in depressive patients: role of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors and of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. **Curr Pharm Des**, v. 21, n. 11, p. 1369-78, 2015. ISSN 1873-4286 (Electronic)

1381-6128 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25564387> >.

KESSLER, R. C.; BROMET, E. J. The epidemiology of depression across cultures. **Annu Rev Public Health**, v. 34, p. 119-38, 2013. ISSN 1545-2093 (Electronic)

0163-7525 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23514317> >.

KRISHNAN, V.; NESTLER, E. J. The molecular neurobiology of depression. **Nature**, v. 455, n. 7215, p. 894-902, Oct 16 2008. ISSN 1476-4687 (Electronic)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18923511> >.

LAFER, B.; VALLADA FILHO, H. P. Genética e fisiopatologia dos transtornos depressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 12-17, 1999. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500004&nrm=iso >.

LAVERY, G. G. et al. Lack of significant metabolic abnormalities in mice with liver-specific disruption of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. **Endocrinology**, v. 153, n. 7, p. 3236-48, Jul 2012. ISSN 1945-7170 (Electronic)

0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22555437> >.

LEMOULT, J. et al. Predicting first onset of depression in young girls: Interaction of diurnal cortisol and negative life events. **J Abnorm Psychol**, v. 124, n. 4, p. 850-9, Nov 2015. ISSN 1939-1846 (Electronic)

0021-843X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26595472> >.

LIMA IVM, S. E., VALLADA FILHO HP. Genética dos transtornos afetivos **Psiquiatria Clínica**, v. 31: 34-9., 2004.

LIMA, I. V. M.; SOUGEY, E. B.; VALLADA FILHO, H. P. Genética dos transtornos afetivos. **Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, v. 31, p. 34-39, 2004. ISSN 0101-6083. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-60832004000100006&nrm=iso >.

LIMA, J. M. D. et al. Estudo do polimorfismo genético no gene p53 (códon 72) em câncer colorretal. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 43, p. 8-13, 2006. ISSN 0004-2803. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032006000100005&nrm=iso >.

LUPIEN, S. J. et al. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nat Rev Neurosci**, v. 10, n. 6, p. 434-45, Jun 2009. ISSN 1471-0048 (Electronic)

1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19401723> >.

MACHADO-VIEIRA, R. et al. Neurobiologia do transtorno de humor bipolar e tomada de decisão na abordagem psicofarmacológica. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, p. 88-105, 2003. ISSN 0101-8108. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-81082003000400010&nrm=iso >.

MÁRCIO JOSÉ DAL BÓ, G. S. D. S., DANÚBIA FELIPPE GRASSI DE PAULA MACHADO, ROSEMERI MAURICI DA SILVA. Prevalência de sintomas depressivos em pacientes internados em enfermarias de clínica médica de um hospital geral no Sul de Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica** v. Méd 9.4 2011.

MCEWEN, B. S. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. **Ann N Y Acad Sci**, v. 840, p. 33-44, May 01 1998. ISSN 0077-8923 (Print)

0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9629234> >.

MELLO, A. F. et al. Depressão e estresse: existe um endofenótipo? **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 29, p. s13-s18, 2007. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462007000500004&nrm=iso >.

MELLO, M. F. et al. Maus-tratos na infância e psicopatologia no adulto: caminhos para a disfunção do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, p. S41-S48, 2009. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462009000600002&nrm=iso >.

MENASHE, I.; ROSENBERG, P. S.; CHEN, B. E. PGA: power calculator for case-control genetic association analyses. **BMC Genet**, v. 9, p. 36, 2008. ISSN 1471-2156 (Electronic)

1471-2156 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18477402> >.

MENEZES IC, J. M. Diagnóstico de depressões unipolares e bipolares e seus especificadores. **Medicina (Ribeirão Preto, Online.)**, v. 50(Supl.1), p. 64-71, 2017, jan-fev. 2017.

MENKE, A.; BINDER, E. B. Epigenetic alterations in depression and antidepressant treatment. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 16, n. 3, p. 395-404, Sep 2014. ISSN 1958-5969 (Electronic)

1294-8322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25364288> >.

MIRKOVIC, B. et al. Genetic Association Studies of Suicidal Behavior: A Review of the Past 10 Years, Progress, Limitations, and Future Directions. **Front Psychiatry**, v. 7, p. 158, 2016. ISSN 1664-0640 (Print)

1664-0640 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27721799> >.

MOISAN, M. P.; SECKL, J. R.; EDWARDS, C. R. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase bioactivity and messenger RNA expression in rat forebrain: localization in hypothalamus, hippocampus, and cortex. **Endocrinology**, v. 127, n. 3, p. 1450-5, Sep 1990. ISSN 0013-7227 (Print)

0013-7227 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2387261> >.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. D. M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 24-40, 1999. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000500006&nrm=iso >.

MORIARTY, A. S. et al. Cortisol awakening response and spatial working memory in man: a U-shaped relationship. **Hum Psychopharmacol**, v. 29, n. 3, p. 295-8, May 2014. ISSN 1099-1077 (Electronic)

0885-6222 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24911579> >.

NAIR, S. et al. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase Type 1: genetic polymorphisms are associated with Type 2 diabetes in Pima Indians independently of obesity and expression in adipocyte and muscle. **Diabetologia**, v. 47, n. 6, p. 1088-95, Jun 2004. ISSN 0012-186X (Print)

0012-186X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15156315> >.

NERI PICCOLOTO, R. W., LUCIANE BENVENÚ, MÁRIO JURUENA. . Curso e prognóstico da depressão. Revisão comparativa entre os transtornos do humor. **Arch. clin. psychiatry (São Paulo, Impr.)**, v. 27(2), p. 93-103

2000.

NICIU, M. J. et al. A history of early life parental loss or separation is associated with successful cognitive-behavioral therapy in major depressive disorder. **J Affect Disord**, v. 187, p. 241-4, Nov 15 2015. ISSN 1573-2517 (Electronic)

0165-0327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26363143> >.

O'CONNOR, D. B. et al. Cortisol levels and suicidal behavior: A meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 63, p. 370-9, Jan 2016. ISSN 1873-3360 (Electronic)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26555430> >.

ORGANIZATION., W. H. **International statistical classification of diseases and related health problems**. v.1. Geneva: 1992.

PALMA, B. D. et al. Repercussões imunológicas dos distúrbios do sono: o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal como fator modulador. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 29, p. s33-s38, 2007. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462007000500007&nrm=iso >.

PEARSON, R. et al. Additive genetic contribution to symptom dimensions in major depressive disorder. **J Abnorm Psychol**, v. 125, n. 4, p. 495-501, May 2016. ISSN 1939-1846 (Electronic)

0021-843X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27124715> >.

RAABE, F. J.; SPENGLER, D. Epigenetic Risk Factors in PTSD and Depression. **Front Psychiatry**, v. 4, p. 80, 2013. ISSN 1664-0640 (Print)

1664-0640 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23966957> >.

RAHE, C. et al. Impact of major depressive disorder, distinct subtypes, and symptom severity on lifestyle in the BiDirect Study. **Psychiatry Res**, v. 245, p. 164-171, Nov 30 2016. ISSN 1872-7123 (Electronic)

0165-1781 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27543830> >.

ROCHA, A. P. D. et al. Polimorfismos genéticos: implicações na patogênese do carcinoma medular de tireóide. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, p. 723-730, 2007. ISSN 0004-2730. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302007000500009&nrm=iso >.

ROSENSTROM, T.; JOKELA, M. Reconsidering the definition of Major Depression based on Collaborative Psychiatric Epidemiology Surveys. **J Affect Disord**, v. 207, p. 38-46, Jan 01 2017. ISSN 1573-2517 (Electronic)

0165-0327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27690352> >.

SALEH, A. et al. Effects of early life stress on depression, cognitive performance and brain morphology. **Psychol Med**, v. 47, n. 1, p. 171-181, Jan 2017. ISSN 1469-8978 (Electronic)

0033-2917 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27682320> >.

SANSONE, R. A.; SANSONE, L. A. SSRIs: bad to the bone? **Innov Clin Neurosci**, v. 9, n. 7-8, p. 42-7, Jul 2012. ISSN 2158-8341 (Electronic)

2158-8333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22984652> >.

SANSONE, R. A.; SANSONE, L. A. Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors: a pharmacological comparison. **Innov Clin Neurosci**, v. 11, n. 3-4, p. 37-42, Mar 2014. ISSN 2158-8333 (Print)

2158-8333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24800132> >.

SCHATZBERG, A. F. et al. HPA axis genetic variation, cortisol and psychosis in major depression. **Mol Psychiatry**, v. 19, n. 2, p. 220-7, Feb 2014. ISSN 1476-5578 (Electronic)

1359-4184 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24166410> >.

SERRETTI, A. Genetics and pharmacogenetics of mood disorders. **Psychiatr Pol**, v. 51, n. 2, p. 197-203, Apr 30 2017. ISSN 2391-5854 (Electronic)

0033-2674 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28581531> >.

SHEA, A. et al. Child maltreatment and HPA axis dysregulation: relationship to major depressive disorder and post traumatic stress disorder in females. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, n. 2, p. 162-78, Feb 2005. ISSN 0306-4530 (Print)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15471614> >.

SHEEHAN, D. V. et al. 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. **J Clin Psychiatry**, v. 59 Suppl 20, p. 22-33;quiz 34-57, 1998. ISSN 0160-6689 (Print)

0160-6689 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9881538> >.

SIGGELKOW, H. et al. Genetic polymorphisms in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 correlate with the postdexamethasone cortisol levels and bone mineral density in patients evaluated for osteoporosis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 2, p. E293-302, Feb 2014. ISSN 1945-7197 (Electronic)

0021-972X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24285685> >.

SILVA, D. D. S. D. et al. Depression and suicide risk among nursing professionals: an integrative review. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 49, p. 1023-1031, 2015. ISSN 0080-6234. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342015000601023&nrm=iso >.

SILVA, M. T. et al. Prevalence of depression morbidity among Brazilian adults: a systematic review and meta-analysis. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 36, p. 262-270, 2014. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462014000300262&nrm=iso >.

SILVA, P. S. et al. Implicações farmacogenéticas de polimorfismos da eNOS para drogas de ação cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, p. e27-e34, 2011. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2011000200017&nrm=iso >.

SOKERO, T. P. et al. Suicidal ideation and attempts among psychiatric patients with major depressive disorder. **J Clin Psychiatry**, v. 64, n. 9, p. 1094-100, Sep 2003. ISSN 0160-6689 (Print)

0160-6689 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14628986> >.

SOUSA, M. B. C. D.; SILVA, H. P. A.; GALVÃO-COELHO, N. L. Resposta ao estresse: I. Homeostase e teoria da alostase. **Estudos de Psicologia (Natal)**, v. 20, p. 2-11, 2015. ISSN 1413-294X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-294X2015000100002&nrm=iso >.

STRAWBRIDGE, R.; YOUNG, A. H.; CLEARE, A. J. Biomarkers for depression: recent insights, current challenges and future prospects. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 13, p. 1245-1262, 2017. ISSN 1176-6328 (Print)

1176-6328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28546750> >.

SYED, S. A.; NEMEROFF, C. B. Early Life Stress, Mood, and Anxiety Disorders. **Chronic Stress (Thousand Oaks)**, v. 1, Feb 2017. ISSN 2470-5470 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28649671> >.

TOMLINSON, J. W. et al. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. **Endocr Rev**, v. 25, n. 5, p. 831-66, Oct 2004. ISSN 0163-769X (Print)

0163-769X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15466942> >.

TURECKI, G. O suicídio e sua relação com o comportamento impulsivo-agressivo. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 18-22, 1999. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44461999000600006&nrm=iso >.

TYRKA, A. R. et al. Childhood parental loss and adult hypothalamic-pituitary-adrenal function. **Biol Psychiatry**, v. 63, n. 12, p. 1147-54, Jun 15 2008. ISSN 1873-2402 (Electronic)

0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18339361> >.

UHER, R. Gene-environment interactions in severe mental illness. **Front Psychiatry**, v. 5, p. 48, 2014. ISSN 1664-0640 (Print)

1664-0640 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24860514> >.

UNSCHULD, P. G. et al. Gender-specific association of galanin polymorphisms with HPA-axis dysregulation, symptom severity, and antidepressant treatment response. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 7, p. 1583-92, Jun 2010. ISSN 1740-634X (Electronic)

0893-133X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237460> >.

VAEVER, M. S.; SMITH-NIELSEN, J.; LANGE, T. Copenhagen infant mental health project: study protocol for a randomized controlled trial comparing circle of security -parenting and care as usual as interventions targeting infant mental health risks. **BMC Psychol**, v. 4, n. 1, p. 57, Nov 22 2016. ISSN 2050-7283 (Electronic)

2050-7283 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27876079> >.

VAN NEIJENHOF, R. et al. Subjective insomnia symptoms and sleep duration are not related to hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in older adults. **J Sleep Res**, Jun 15 2017. ISSN 1365-2869 (Electronic)

0962-1105 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28618114> >.

VERDUIJN, J. et al. Pathophysiology of major depressive disorder: mechanisms involved in etiology are not associated with clinical progression. **Transl Psychiatry**, v. 5, p. e649, Sep 29 2015. ISSN 2158-3188 (Electronic)

2158-3188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26418277> >.

VOHRINGER, P. A.; PERLIS, R. H. Discriminating Between Bipolar Disorder and Major Depressive Disorder. **Psychiatr Clin North Am**, v. 39, n. 1, p. 1-10, Mar 2016. ISSN 1558-3147 (Electronic)

0193-953X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26876315> >.

WANG, Y. H.; SHI, Z. T.; LUO, Q. Y. Association of depressive symptoms and suicidal ideation among university students in China: A systematic review and meta-analysis. **Medicine (Baltimore)**, v. 96, n. 13, p. e6476, Mar 2017. ISSN 1536-5964 (Electronic)

0025-7974 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28353586> >.

WICHMANN, S. et al. Cortisol stress response in post-traumatic stress disorder, panic disorder, and major depressive disorder patients. **Psychoneuroendocrinology**, v. 83, p. 135-141, Jun 10 2017. ISSN 1873-3360 (Electronic)

0306-4530 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28623762> >.

WILLIAMS, J. B. et al. The GRID-HAMD: standardization of the Hamilton Depression Rating Scale. **Int Clin Psychopharmacol**, v. 23, n. 3, p. 120-9, May 2008. ISSN 0268-1315 (Print)

0268-1315 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18408526> >.

ZANELLO, A.; BERTHOUD, L.; BACCHETTA, J. P. Emotional crisis in a naturalistic context: characterizing outpatient profiles and treatment effectiveness. **BMC Psychiatry**, v. 17, n. 1, p. 130, Apr 07 2017. ISSN 1471-244X (Electronic)

1471-244X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28388881> >.

ZAVASCHI, M. L. S. et al. Associação entre trauma por perda na infância e depressão na vida adulta. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 24, p. 189-195, 2002. ISSN 1516-4446. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462002000400009&nrm=iso >.