

ISABELA FERREIRA DE MORAES

**Sintomas de depressão e/ou ansiedade em idosos: estudo de
associação conjunta de genes candidatos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Homero Pinto Vallada Filho

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão
original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo
2022**

ISABELA FERREIRA DE MORAES

**Sintomas de depressão e/ou ansiedade em idosos: estudo de
associação conjunta de genes candidatos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Psiquiatria
Orientador: Prof. Dr. Homero Pinto Vallada Filho

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão
original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Moraes, Isabela Ferreira de
Sintomas de depressão e/ou ansiedade em idosos :
estudo de associação conjunta de genes candidatos /
Isabela Ferreira de Moraes. -- São Paulo, 2022.
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Psiquiatria.
Orientador: Homero Pinto Vallada Filho.

Descritores: 1.Transtornos mentais
2.Polimorfismos 3.Idosos 4.Sinais e sintomas
5.Depressão

USP/FM/DBD-320/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Luiz Roberto e Simone que com amor, dedicação e simplicidade me ensinaram os verdadeiros valores da vida. Sou grata por tudo que eu conquistei até hoje e devo isso a vocês.

Aos meus avós Nelson e Cecília (*in memoriam*) pela saudade imensa, por todos os ensinamentos, inspirações e dedicação ao longo da vida. Por sempre demonstrarem a importância do amor e da fé. Eu amo vocês incondicionalmente. Saudades!

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, que guia os meus caminhos para que eu possa fazer as escolhas certas. Por toda coragem e força que me concedeu para mais essa conquista.

Aos meus pais, que sempre batalharam apesar de todas as dificuldades e estiveram ao meu lado e nunca deixaram que eu desistisse dos meus sonhos. Por todo incentivo e apoio em todas as etapas da minha vida, o meu amor por vocês é incondicional. Não há palavras para expressar minha eterna gratidão.

À minha família (irmã, tios, tias e primos), que sempre me apoiaram e torceram pelo meu sucesso e nunca duvidaram de mim. Obrigada por todo apoio e amor ao longo dessa trajetória.

Ao meu orientador, Prof. Homero Vallada, pela oportunidade, apoio, incentivo, dedicação, paciência, a confiança depositada em mim e também aos ensinamentos ao longo dessa caminhada, sempre demonstrando a importância do conhecimento para nós mesmos. Obrigada por nunca ter desistido de mim.

À Prof^a Helena Brentani, que gentilmente me acolheu e passou um pouco dos seus conhecimentos excepcionais na área. Agradeço imensamente por todo apoio e auxílio ao longo desses anos.

À Dr^a Thais Chile, por todo carinho, dedicação, incentivo, apoio e principalmente por estar sempre ao meu lado, com toda a paciência me ensinou, me motivou todos os

dias e me acalmou nos momentos angustiantes, e principalmente nunca duvidou do meu potencial. Sou eternamente grata por ter sido você, uma professora, companheira e amiga ao longo desses anos. Tenho que ressaltar a profissional maravilhosa que você é. Estarei sempre torcendo por todas as suas conquistas profissionais e pessoais. Gratidão.

Ao Prof. Cássio Machado Bottino (*in memoriam*) por ter sido o pilar para a construção desse trabalho. Pelo desenvolvimento do projeto e carinho com os idosos que precisam de uma atenção maior.

À Dr^a Gisele Gouveia, por estar sempre ao meu lado me apoiando e me guiando através de todo o apoio, incentivo, dedicação, conselhos e toda a paciência para me ensinar e me acalmar nos momentos difíceis. Obrigada por ser essa amiga incrível, que sempre me abraçou e me motivou todos os dias, me confortando com abraços e palavras de carinho.

À Alessandra Moraes, que me concedeu a oportunidade de estar no Instituto de Psiquiatria-HCFMUSP e sempre me ajudou e acolheu quando mais precisava. Obrigada por toda paciência e dedicação ao longo desses anos.

Aos meus amigos do Laboratório de Patologia, Marli, Elza, Katia e Jean por estarem presentes nessa etapa da minha vida sempre alegrando as minhas manhãs e deixando os meus dias mais alegres.

Ao Programa de Terceira Idade (PROTER), pela confiança para que eu pudesse desenvolver esse trabalho maravilhoso.

À CAPES. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro do projeto (Prevenção e tratamento da depressão em idosos: um estudo de base populacional - Processo: 2012/50010-0) e pela bolsa de treinamento técnico científico nível 3 (Processo: 2016/07699-8).

À todos que de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”
(José de Alencar)

Essa dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 <i>População de estudo</i>	2
1.2 <i>Transtornos depressivos</i>	3
1.3 <i>Transtornos de ansiedade</i>	4
1.4 <i>Associação entre transtornos depressivos e ansiosos</i>	5
1.5 <i>Associação entre transtornos depressivos e/ou ansiosos e gênero</i>	6
1.6 <i>Componente genético</i>	6
1.6.1 <i>Transportador de Serotonina (5HTT)</i>	9
1.6.2 <i>Apolipoproteína E (APOE)</i>	10
1.6.3 <i>Receptor da Angiotensina II (AGTR1)</i>	12
1.6.4 <i>Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)</i>	12
1.6.5 <i>Catecol-O-Metiltransferase (COMT)</i>	13
1.6.6 <i>Metilenotetrahidrofolato Redutase (MTHFR)</i>	14
1.6.7 <i>Proteína Alvo da Rapamicina (MTOR)</i>	15
1.6.8 <i>Proteína C-Reativa (CRP), Interleucina 6 (IL6), Interleucina 10 (IL10) e Fator de Necrose Tumoral (TNF)</i>	16
1.7 <i>Justificativa para o presente estudo</i>	18

2. OJETIVOS	21
3. MÉTODOS	23
3.1 <i>Metodologia clínica</i>	23
3.1.1 <i>Casuística</i>	23
3.1.2 <i>Critérios de inclusão</i>	23
3.1.3 <i>Critérios de exclusão</i>	24
3.1.4 <i>Instrumentos para avaliação de sintomas depressivos e ansiosos</i>	24
3.2 <i>Metodologia laboratorial</i>	25
3.2.1 <i>Coleta da amostra biológica</i>	25
3.2.2 <i>Extração do material genético</i>	26
3.2.3 <i>Purificação das amostras de DNA</i>	28
3.2.4 <i>Qualidade da amostra de DNA</i>	29
3.2.5 <i>Integridade da amostra de DNA</i>	29
3.2.6 <i>Genotipagem</i>	30
3.2.7 <i>PCR em tempo real</i>	31
3.2.8 <i>PCR convencional</i>	32
3.3 <i>Análises estatísticas</i>	34
3.3.1 <i>Construção dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)</i>	34
3.3.2 <i>Análise dos polimorfismos individuais</i>	36
3.3.3 <i>Análise conjunta dos polimorfismos</i>	36

4. RESULTADOS	38
4.1 <i>População de estudo</i>	38
4.2 <i>Amostras válidas</i>	40
4.3 <i>Medianas dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)</i>	41
4.4 <i>Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)</i>	41
4.5 <i>Resultado da análise genotípica dos polimorfismos</i>	42
4.5.1 <i>Análise dos polimorfismos individuais</i>	42
4.5.2 <i>Análise conjunta dos polimorfismos</i>	49
5. DISCUSSÃO	51
6. CONCLUSÃO	62
7. ANEXOS	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

LISTA DE ABREVIATURAS

Lista de Abreviaturas

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
≤	Menor ou igual
μL	Microlitros
5HTT	Transportador de Serotonina (<i>Serotonin Transporter or 5hidroxitriptamine transporter</i>)
AGTR1	Receptor Vascular de Angiotensina II (<i>Angiotensin II Receptor Type 1</i>)
APOE	Apolipoproteína E (<i>Apolipoprotein E</i>)
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (<i>Brain-derived Neurotrophic Fator</i>)
CES-D	Center for Epidemiologic Studies Depression Scale
COMT	Catecol-O-Metiltransferase (<i>Catechol-O-Methyltransferase</i>)
CRP	Proteína C-Reativa (<i>C-Reactive Protein</i>)
DA	Doença de Alzheimer
DO	Densidade Óptica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 5ª Edição (<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Fifth Edition</i>)
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

GAI	Geriatric Anxiety Inventory
GSDA	Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa
IL6	Interleucina 6 (<i>Interleukin 6</i>)
IL10	Interleucina 10 (<i>Interleukin 10</i>)
mA	Miliampere
mg	Miligramas
mL	Mililitros
MEEM	Mini-Exame do Estado Mental
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato Redutase (<i>Methylenetetrahydrofolate Reductase</i>)
MTOR	Alvo Mecanístico da Rapamacina (<i>Mechanistic Target of Rapamycin</i>)
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
RAS	Sistema Renina-Angiotensina (<i>Renin-angiotensin System</i>)
rpm	Rotação por minuto
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio (<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>)
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único (<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>)

TNF	Fator de Necrose Tumoral (<i>Tumor Necrosis Factor</i>)
TOR	Alvo da rapamacina (<i>Target of Rapamycin</i>)
UBS	Unidades Básicas de Saúde
V	Tensão
VNTR	Repetição em Tandem de Número Variável (<i>Variable Number Tandem Repeats</i>)
W	Unidade de Potência (<i>Watt</i>)
WHOQOL	Organização Mundial da Saúde Qualidade de Vida (<i>World Health Organization Quality Life</i>)
xg	Força centrífuga relativa

LISTA DE FIGURAS

Lista de Figuras

- Figura 1.** Fluxograma da seleção dos participantes para o estudo.....25
- Figura 2.** Plot de discriminação alélica do gene BDNF para o rs6265. As cores, vermelha, azul e verde representam os genótipos C/C (homozigoto de maior frequência), C/T (heterozigoto) e T/T (homozigoto de menor frequência), respectivamente.....32
- Figura 3.** Gel representativo da eletroforese dos produtos da PCR para o polimorfismo 5HTTLPR. Em L e S são representados como alelos long e short, respectivamente.....34
- Figura 4.** Fluxograma do n total de amostras válidas para o estudo.....38

LISTA DE TABELAS

Lista de Tabelas

Tabela 1. Revisão da Literatura dos genes selecionados para o estudo.....	19
Tabela 2. Onze Genes candidatos com os 27 polimorfismos e seus respectivos alelos.....	30
Tabela 3. Oligonucleotídeos utilizados na avaliação da variante polimórfica 5HTTLPR.....	33
Tabela 4. Construção de Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA).....	35
Tabela 5. Valores categóricos da construção dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA).....	35
Tabela 6. Caracterização demográfica dos participantes.....	39
Tabela 7. Número de amostras válidas para cada polimorfismo após a análise genotípica.....	40
Tabela 8. Categorização das medianas das escalas GAI, MEEM e CES-D.....	41
Tabela 9. Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA) e o n total de idosos em cada grupo originado.....	42
Tabela 10. Representação dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA).....	42
Tabela 11. Variante rs2020933 do gene <i>5HTT</i> : probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	43
Tabela 12. Variante rs8071667 do gene <i>5HTT</i> : probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	44
Tabela 13. Variante rs5186 do gene <i>AGTR1</i> : probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	44
Tabela 14. Variante rs6265 do gene <i>BDNF</i> : probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	44

Tabela 15. Variante rs165599 do gene <i>COMT</i> : probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	45
Tabela 16. Variante rs1417938 do gene <i>CRP</i> : probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	45
Tabela 17. Variante rs1800795 do gene <i>IL6</i> : probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	45
Tabela 18. Variante rs1800896 do gene <i>IL10</i> : probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	46
Tabela 19. Variante rs2295080 do gene <i>MTOR</i> : probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.....	46
Tabela 20. Variante rs8071667 do gene <i>5HTT</i> : grupo do GSDA significativo (grupo 2) em comparação aos grupos não significativos (complemento).....	47
Tabela 21. Variante rs6265 do gene <i>BDNF</i> : grupo do GSDA significativo (grupo 4) em comparação aos grupos não significativos (complemento).....	47
Tabela 22. Variante rs165599 do gene <i>COMT</i> : comparação entre os dois grupos significativos do GSDA (grupos 3 e 7).....	47
Tabela 23. Variante rs165599 do gene <i>COMT</i> : grupos do GSDA significativos (grupos 3 e 7) em comparação aos grupos não significativos (complemento).....	48
Tabela 24. Variante rs1417938 do gene <i>CRP</i> : grupo do GSDA significativo (grupo 0) em comparação aos grupos não significativos (complemento).....	48
Tabela 25. Associação conjunta dos polimorfismos rs165599 (<i>COMT</i>) e rs1417938 (<i>CRP</i>).....	49

RESUMO
.....

Resumo

Moraes IF. Sintomas de depressão e/ou ansiedade em idosos: estudo de associação conjunta de genes candidatos [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

INTRODUÇÃO: A população idosa brasileira tem aumentado nas últimas décadas, e os quadros de sintomas depressivos e ansiosos estão cada vez mais presentes na terceira idade. Sabe-se hoje que depressão e ansiedade apresentam um componente genético em sua etiopatogenia e parecem existir mecanismos fisiopatológicos comuns entre esses dois transtornos. Com base nisso, têm sido relatados na literatura, polimorfismos de genes candidatos associados aos fenótipos de depressão e/ou ansiedade. **OBJETIVO:** Investigar em uma população de idosos, variantes de genes candidatos associadas a um maior risco para desenvolver sintomas depressivos e/ou ansiosos. **METODOLOGIA:** Foi extraído DNA de sangue venoso periférico de um total de 874 idosos com idade igual ou superior a 60 anos para a realização de análise genotípica por PCR em tempo real de 27 polimorfismos de 11 genes candidatos para depressão e/ou ansiedade. Foi desenvolvido e introduzido na análise a alocação dos participantes em diferentes grupos de acordo com a presença de sintomatologia depressiva e/ou ansiosa (GSDA) baseado nas medianas das avaliações das escalas para depressão (CES-D), ansiedade (GAI) e cognição (MEEM). Para a análise estatística foi realizado o teste de qui-quadrado de *Pearson* com valor de significância estatística de $p \leq 0,05$ tanto para análise individual dos polimorfismos quanto para a análise conjunta. **RESULTADOS:** Os resultados estatisticamente significantes associados aos grupos de sintomatologia depressiva e/ou ansiosa (GSDA) foram para os polimorfismos rs8071667 ($p= 0,03$) do gene

5HTT, rs6165 ($p=0,004$) do gene *BDNF*, rs165599 ($p=0,023$) do gene *COMT* e rs1417938 ($p=0,006$) do gene *CRP*. Na análise conjunta, o resultado permaneceu estatisticamente significativo para os polimorfismos rs165599 do gene *COMT* e rs1417938 do gene *CRP* ($p= 1,72E-10$). **CONCLUSÃO:** Os polimorfismos rs165599 do gene *COMT* e rs1417938 do gene *CRP* foram os resultados mais robustos nessa investigação. Faz-se necessário, no entanto, confirmar os resultados apresentados em novos estudos utilizando amostras independentes.

Descritores: Transtornos mentais. Polimorfismos. Idosos. Sinais e Sintomas. Depressão.

ABSTRACT

Abstract

Moraes IF. Symptoms of depression and/or anxiety in the elderly: study of joint association of candidate genes [Dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

BACKGROUND: The percentage of elderly in the Brazilian population has been increasing in recent decades, and symptoms of depression and anxiety are increasingly present in old age. It is now known that depression and anxiety have a genetic component in their etiopathogenesis and there seem to be common pathophysiological mechanisms between these two disorders. Based on this, polymorphisms of candidate genes associated with depression and/or anxiety phenotypes have been reported in the literature. **OBJECTIVE:** To investigate candidate gene polymorphisms in an elderly population, selected from previous reports and which were associated with a risk of developing depression and/or anxiety symptoms. **METHODOLOGY:** DNA was extracted from peripheral venous blood of 874 elderly aged 60 years or older to perform genotypic analysis by real-time PCR of 27 polymorphisms of 11 candidate genes for depression and/or anxiety. Depressive and/or anxious symptom groups (GSDA) were developed and introduced into the analysis based on the medians of the scales applied to depression (CES-D), anxiety (GAI) and cognition (MMSE). For statistical analysis, we performed Pearson's chi-square test with a statistical significance value of $p \leq 0.05$ for both the individual analysis of polymorphisms and the joint analysis. **RESULTS:** Statistically significant results associated with the depressive and/or anxious symptomatology groups were observed with the polymorphisms rs8071667 ($p = 0.03$) of the 5HTT gene, rs6265 ($p = 0.004$) of the BDNF gene, rs165599 ($p = 0.023$) of the COMT gene and rs1417938 ($p =$

0.006) of the CRP gene. In the joint analysis, the result remained statistically significant for the polymorphisms rs165599 of the COMT gene and rs1417938 of the CRP gene ($p= 1.72E-10$). **CONCLUSION:** The polymorphisms rs165599 of the COMT gene and rs1417938 of the CRP gene were the most robust results in this investigation. It is necessary, however, to confirm the results presented in new studies using independent samples.

Descriptors: Mental disorders. Polymorphisms. Elderly. Signs and symptoms. Depression.

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1 População de estudo

Nas últimas décadas, o interesse em estudar o envelhecimento tornou-se importante em decorrência do aumento da população idosa acima de 60 anos em relação à população geral¹. Estima-se que até 2045 o número de idosos será maior quando comparado ao número de crianças. Para o Brasil que é um país que está em desenvolvimento isto se torna um desafio, visto que, é preciso lidar com o rápido envelhecimento juntamente com as grandes desigualdades tanto educacional quanto econômica^{1,2,3}.

O envelhecimento é um processo natural e intrínseco a vida, no qual ocorrem alterações físicas, fisiológicas e psicológicas, levando o idoso a uma readaptação ao meio onde vive, e podendo nesse novo equilíbrio conduzir a novas dificuldades ou mesmo incapacidades, ocasionando assim, uma redução na qualidade de vida⁴.

De acordo com *World Health Organization Quality of Life (WHOQOL)*, a qualidade de vida é um conceito abrangente envolvendo além da saúde física, as relações sociais, crenças pessoais, nível de independência e o estado psicológico, além de outros meios em seu ambiente⁵.

Com o crescimento da população idosa, faz-se necessária uma maior atenção às doenças que afetam os indivíduos nessa faixa etária, onde a depressão e ansiedade são os transtornos mentais mais comumente presentes em idosos, levando a uma piora na qualidade de vida^{6,7,8}.

1.2 Transtornos de depressão

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a depressão é um problema de saúde pública, pois é uma das principais causas de incapacidade na vida do indivíduo, promovendo um constante sofrimento emocional e ao final acarretando uma redução da qualidade de vida. É um transtorno que apresenta heterogeneidade tanto clínica quanto etiológica ^{7,9,10}.

Os sintomas depressivos podem incluir: alterações de sono e peso, sentimentos de inutilidade e culpa, fadiga ou perda de energia, agitação ou retardo psicomotor, falta de concentração e, também, ideação suicida podendo levar ao ato suicida ¹¹.

Em pessoas idosas, a apresentação dos sintomas é muitas vezes de difícil identificação devido aos problemas de saúde física concomitantes, sendo assim, dificulta a diferenciação entre outras doenças médicas e sintomas somáticos de depressão. Por exemplo, é frequente observar em quadros depressivos em pessoas idosas que boa parte das queixas (não só de pacientes como também de familiares) são sintomas cognitivos, como desatenção e/ou queixas de memórias, e portanto, podendo ser muitas vezes confundida com quadro demencial e podendo resultar em tratamento inadequado ^{7,12,13}.

O transtorno depressivo permanece também na terceira idade, como o principal fator que leva o idoso ao suicídio. Além disso, estudos recentes têm correlacionado a presença do quadro depressivo como um fator de risco para várias outras doenças como câncer, demência, doenças cardiovasculares como, por exemplo, acidente vascular cerebral e, infarto do miocárdio ^{14,15}.

É comum os indivíduos acreditarem que a depressão faz parte do envelhecimento normal, mas há vários indícios que apontam os problemas de saúde como fator principal da associação entre terceira idade e depressão ¹⁶.

1.3 Transtorno de ansiedade

O transtorno de ansiedade está também entre os distúrbios psiquiátricos mais comuns em idosos, e um fator relevante para a incapacidade na terceira idade, apresentando uma maior prevalência quando comparado à depressão, porém são relativamente pouco investigados na população idosa ^{7,8,17}.

De acordo com Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais da Associação Psiquiátrica Americana (DSM- 5ª Edição), os transtornos de ansiedade apresentam sintomas como: medo, preocupação, angústia, inquietação, distúrbios de sono, irritabilidade, dificuldade de concentrar, tensão muscular e facilidade de cansaço ¹⁸.

Assim como o transtorno depressivo, a detecção de ansiedade em pessoas idosas também se torna de difícil detecção devido a uma série de fatores, como por exemplo, apresentação diferencial de sintomas, comorbidades maiores de outros quesitos clínicos e também com o processo de envelhecimento ¹⁷.

Os transtornos de ansiedade também são relatados como transtornos complexos em sua etiologia, pois as causas podem surgir da combinação de fatores ambientais e genéticos ¹⁹ e com o aumento da população idosa no

mundo todo, acredita-se que o transtorno de ansiedade será um problema generalizado ¹⁷.

1.4 Associação entre transtornos depressivos e ansiosos

Estudos relatam que os indivíduos com ansiedade normalmente apresentam alguma sintomatologia depressiva, assim como indivíduos depressivos apresentam sintomas ou até mesmo transtornos de ansiedade. Como esses dois transtornos estão frequentemente associados, isto é, quando temos um deles, existe uma chance de 30-50% do outro transtorno também estar presente, ou em outras palavras, chamado de comorbidades ^{17,20}.

A combinação de sintomas depressivos e ansiosos pode agravar o quadro clínico e aumentar o risco para o suicídio, pois os indivíduos ficam mais incapacitados, mais resistentes ao tratamento e com maiores prejuízos físicos, psicológicos e sociais ¹⁷. Ambos esses transtornos estão associados com eventos estressantes da vida, afeto negativo e também processos cognitivos prejudicados ²¹.

É bastante importante o clínico procurar identificar as características psicopatológicas, gravidade, fatores familiares e entre outros na identificação do tipo de transtorno depressivo e/ou ansioso, pois pode exigir diferentes tipos de intervenções ¹⁷. O termo conhecido como “depressão ansiosa” é baseado nos indivíduos com transtorno depressivo maior que possuem clinicamente sintomas de ansiedade significativos, porém subsindômicos ²¹.

A influência genética está presente tanto para depressão quanto para ansiedade, a associação fenotípica dos sintomas para esses transtornos são

muitas vezes estudados por marcadores genético ²², assim como é o foco de nosso presente estudo.

1.5 Associação de transtornos depressivos e/ou ansiosos e sexo

Outro fator importante que deve ser ressaltado ao abordar pessoas com idade avançada e transtornos mentais é a diferença entre sexo feminino e sexo masculino, tanto com relação à prevalência quanto ao curso e prognóstico ⁸.

Vários estudos têm relatado uma maior incidência e prevalência de depressão e/ou ansiedade em indivíduos do sexo feminino ^{23,24}. De acordo com estudos mais recentes de revisões sistemáticas e coorte, mulheres idosas apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de ansiedade e depressão ⁸.

A relação entre transtorno mental e sexo em indivíduos idosos evidencia uma contradição em razão de taxas de mortalidade e suicídio, pois são 2-4 vezes maiores em idosos do sexo masculino. No entanto, estudos anteriores apontam que mulheres apresentam ao longo da vida uma saúde mental mais debilitada quando associadas aos sintomas depressivos e/ou ansiosos ^{8,25}.

1.6 Componente genético

A relação e atuação de fatores etiopatogênicos no desenvolvimento de transtornos depressivos e/ou ansiosos parecem ser extremamente complexas, sendo influenciadas por vários fatores de risco que podem ser subdivididos em dois grandes grupos: estressores ambientais (podendo ser psicológicos, alimentares, sociais, culturais, entre outros) e a influência genética. Calcula-se que o componente genético tanto para depressão como para ansiedade,

representa mais de um terço da variância total dos fatores envolvidos para desenvolver qualquer um desses transtornos ^{26,27}.

Em um estudo de meta-análise envolvendo publicações prévias em gêmeos idênticos (gêmeos monozigóticos) estimou uma herdabilidade ao redor de 37% tanto para depressão quanto para ansiedade ²⁷.

As pesquisas sobre a contribuição genética para um determinado fenótipo, no caso a depressão e a ansiedade em idosos, foram realizadas nas últimas décadas utilizando na maioria das vezes a abordagem chamada de estudos de associação onde são investigados marcadores polimórficos de genes, e geralmente, esses estudos realizam uma comparação entre dois grupos: pessoas afetadas (casos) e não afetadas pelo transtorno (controles). Outra abordagem também muito utilizada é o estudo da transmissão de um marcador polimórfico entre os membros de diferentes gerações de uma família, são os estudos de ligação (*linkage studies*). Em outras palavras, seleciona-se e observa-se a distribuição de um determinado marcador genético em uma amostra ou em famílias e se uma determinada variante genética é mais frequente em um grupo de afetados do que em não afetados e, portanto, podendo estar associado ao transtorno ^{19,28,29}.

É interessante notar com certa frequência que vários estudos acabam investigando os mesmo genes em diferentes transtornos psiquiátricos. Muitos deles apresentando resultados positivos para vários transtornos, sugerindo uma base genética compartilhada entre os diferentes diagnósticos psiquiátricos, fortalecendo o conceito de associação genética de um grupo de genes a traços comportamentais e, não, a transtornos específicos. ^{19, 26, 28}.

Em estudos utilizando diversos marcadores genéticos espalhados pelo genoma (*genome-wide association studies*) sugerem que várias regiões do genoma podem conter alelos de risco para depressão e ansiedade, porém esses dados permanecem como inconclusivos, visto que, até o momento nenhum gene foi identificado e reproduzido por amostras independentes. No entanto, embora existam resultados preliminares de estudos de ligação envolvendo genes e os transtornos de depressão e ansiedade, esses transtornos são classificados como transtornos complexos, onde o componente hereditário é constituído pela somatória de vários genes de pequenos efeitos na etiopatogênia desses transtornos e assim, contribuindo para o desenvolvimento e manifestações clínicas ³¹.

Em conclusão, nas últimas décadas, têm sido realizadas diversas pesquisas moleculares tentando elucidar quais os genes que poderiam estar associados ao risco de depressão e/ou ansiedade. Há relatos de estudos com associação positiva entre marcadores genéticos e depressão e/ou ansiedade, porém, outros estudos em amostras independentes não conseguiram reproduzir esses mesmos achados. Ou seja, apesar da existência do componente genético para esses dois transtornos não foi ainda possível identificar afirmativamente quais os genes envolvidos na etiopatogênia da depressão e/ou ansiedade ³².

Os genes relatados a seguir são alguns dos principais estudos que apresentam correlações positivas entre alguns polimorfismos e depressão e/ou ansiedade (em alguns casos estudos de associação envolvendo outros transtornos psiquiátricos).

1.6.1 Transportador de Serotonina (5HTT)

O gene codificador da proteína transportadora de serotonina (5HTT ou *SLC6A4*) tem sido selecionado como um gene candidato em diversos estudos investigando variados fenótipos psiquiátricos. A regulação do transporte de serotonina na fenda sináptica envolvendo os neurônios pré-sinápticos é realizada pela proteína 5HTT (transportador da 5-hidroxitriptamina) e o comprometimento deste transporte tem sido proposto como um dos importantes mecanismos fisiopatológicos no desenvolvimento de transtornos depressivos ^{33,34}.

O transportador de serotonina (5HTT) está envolvido na regulação dos níveis de serotonina no cérebro. O gene codificador dessa proteína contém polimorfismos genéticos em sua região promotora, demonstrando que a sua atividade transcricional pode ser afetada ³⁴.

Alguns estudos têm demonstrado a associação do transtorno depressivo à genótipos com uma baixa expressão de proteínas 5HTT. Diversos polimorfismos do gene 5HTT têm sido descritos, sendo alguns deles com variações funcionais, sendo o mais investigado o polimorfismo da região promotora desse gene, no qual, apresenta uma repetição em tandem de número variável na região promotora (5HTTLPR) possuindo os alelos longo (L) (*long*) e curto (S) (*short*). O alelo curto está associado com menor eficiência

transcricional e maior vulnerabilidade para depressão e/ou maior resistência ao tratamento medicamentoso ^{33,34}.

Como vários medicamentos antidepressivos atuam na regulação da serotonina cerebral, mais precisamente como inibidores da recaptação da serotonina (ISRS) na fenda sináptica, foi levantada a hipótese de que as pessoas com maior predisposição para depressão apresentariam o polimorfismo curto na região promotora do 5HTT, ou seja, uma deficiência de serotonina ³⁴.

O polimorfismo 5HTTLPR também foi associado a outras condições psiquiátricas além de depressão, como ansiedade, suicídio, alcoolismo, entre outros. Entretanto, com os relatos de outros estudos em amostras independentes não reproduzindo a associação com esse polimorfismo nesses transtornos mentais, conclui-se que outros possíveis mecanismos e fatores contribuam para o desenvolvimento tanto para depressão como para esses outros transtornos psiquiátricos ^{35,36,37}.

1.6.2 Apolipoproteína E (APOE)

A apolipoproteína E (APOE) é uma glicoproteína de transporte de lipoproteínas que está envolvida na formação da mielina, assim como, na regeneração neuronal pós-injúria, como também durante o desenvolvimento dos neurônios ^{38,39}.

O gene que codifica a APOE apresenta vários polimorfismos, mas sendo o rs429358 e rs7412 os mais estudados. A combinação desses dois polimorfismos determina três alelos conhecidos épsilon 2 ($\epsilon 2$), épsilon 3 ($\epsilon 3$) e

épsilon 4 ($\epsilon 4$), os quais determinam seis genótipos distintos ($\epsilon 2/ \epsilon 2$, $\epsilon 2/ \epsilon 3$, $\epsilon 2/ \epsilon 4$, $\epsilon 3/ \epsilon 3$, $\epsilon 3/ \epsilon 4$ e $\epsilon 4/ \epsilon 4$). Um estudo relatou que enquanto o genótipo $\epsilon 2/ \epsilon 3$ possivelmente apresenta um efeito protetor contra depressão na população geral, o alelo $\epsilon 4$ e o genótipo $\epsilon 3/ \epsilon 4$ foram associados com um aumento do risco para a depressão³⁸.

Em outro estudo investigando outro polimorfismo no gene da *APOE* rs405509 (G/C), foi observada uma associação entre essa variante e resposta aos antidepressivos do tipo inibidores de recaptção de serotonina e norepinefrina (SNRI) em indivíduos deprimidos⁴⁰.

A doença de Alzheimer (DA) é uma das principais doenças neurodegenerativas que levam o indivíduo à um quadro demencial⁴¹. E um dos principais fatores de risco genético para o desenvolvimento de DA de início tardio tem sido a presença do alelo $\epsilon 4$ da *APOE*⁴².

Alguns estudos têm relatado que, além de ser um fator de risco para a doença de Alzheimer, o alelo $\epsilon 4$ é também um fator de risco para o desenvolvimento da depressão^{43, 44}. Entretanto, outros estudos não têm confirmado essa associação entre o alelo $\epsilon 4$ e depressão⁴¹.

No entanto, o transtorno depressivo é uma comorbidade prevalente em pacientes com demência, apresentando desafios na avaliação clínica desses pacientes idosos na tentativa de identificar e separar os sintomas de depressão da DA⁴⁵.

Outra observação importante são os resultados de alguns estudos onde indicam que a depressão aumentaria também o risco para o desenvolvimento de DA, e sugerindo que o polimorfismo do gene *APOE*, poderia estar associado com a depressão^{38,45}.

1.6.3 Receptor da Angiotensina II (AGTR1)

A angiotensina II é um peptídeo que exerce uma função essencial no sistema cardiovascular, em especial no controle da pressão arterial através de sua ação em receptores específicos. O *AGTR1* (*Angiotensin II Receptor 1*) é o mais estudado e o mais importante receptor da angiotensina II, sendo o principal responsável pelos seus efeitos vasculares sistêmicos ^{46,47}.

Conforme comentado acima, existem estudos relatando que a depressão e a demência compartilham fatores de risco similares e histórico patogênético comum, incluindo fatores de risco cardiovasculares. Desta forma, tem sido postulado que o sistema renina-angiotensina (RAS) possa estar envolvido na patogenia da depressão e demência, em razão de seu papel nas doenças cardiovasculares ⁴⁸.

O sistema renina-angiotensina (RAS) também está sendo alvo de estudos com transtornos depressivos, principalmente a variante rs5186 ⁴⁶. Dessa forma, um conjunto de evidências apoia a relação entre depressão e doenças cardiovasculares como hipertensão e infarto do miocárdio ^{48,49}.

1.6.4 Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF)

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) é uma proteína que faz parte das neurotrofinas, que são um grupo de proteínas que promove e protege os neurônios desempenhando as funções de crescimento, maturação, diferenciação e mutação das células ⁵⁰.

O polimorfismo mais estudado no gene *BDNF* é o rs6265. Nessa variante ocorre a substituição de uma base guanina por uma adenina na posição 196 levando à troca do aminoácido valina por metionina no códon 66, conhecido como Val66Met. Há relatado na literatura associando essa substituição de valina por metionina à susceptibilidade no desenvolvimento de distúrbios psiquiátricos ^{51, 52, 53, 54}. A presença deste polimorfismo estimula uma alteração funcional que diminui o tráfego intracelular e a secreção de BDNF, reduzindo os níveis no sistema límbico ^{55, 56}. Alguns estudos de neuroimagem têm relatado essas alterações envolvendo pacientes com transtornos psiquiátricos ⁵⁷.

Outros estudos associaram variações genéticas com a etiologia da depressão e, também, com a resposta aos tratamentos⁵⁸. Pesquisas relataram que a função restringida do BDNF no cérebro se tornou uma hipótese para uma predisposição do indivíduo à depressão ^{59,60}. Outros estudos tem demonstrado que, no soro de indivíduos adultos deprimidos, o nível de BDNF encontra-se em média abaixo dos níveis encontrados em indivíduos saudáveis ^{61,62}.

Uma questão levantada pelos pesquisadores tem sido em relação a diminuição de BDNF observado em alguns estudos: será que essa redução contribui para o desenvolvimento de quadro depressivo ou a depressão pode contribuir com a diminuição dos níveis de BDNF ⁶³

1.6.5 Catecol-O-Metiltransferase (COMT)

O gene da catecol-O-metiltransferase (COMT) é outro relevante alvo de investigação como gene candidato para depressão e ansiedade. A enzima

COMT codificada por este gene exerce um papel importante na degradação de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina e dopamina) no córtex pré-frontal^{64,65}.

O polimorfismo mais estudado nesse gene é o Val158Met (rs4680) no qual ocorre uma substituição de valina (val) por metionina (met) no códon 158, resultando uma redução da enzima COMT em até quatro vezes em caucasianos⁶⁶.

Alguns estudos na literatura sugerem que a alteração na neurotransmissão do sistema dopaminérgico pode impactar em alguns sintomas de quadros depressivos, podendo ser uma associação com o polimorfismo e depressão^{67,68}, porém, outros estudos tiveram resultados inconclusivos⁶⁹.

1.6.6 Metilenotetrahidrofolato Redutase (MTHFR)

A enzima metilenotetrahidrofolato redutase é importante no ciclo metil e também inclui a conversão de homocisteína em metionina. A MTHFR converte 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato (metabolismo do folato), para a metabolização de homocisteína, o folato (ou vitamina B9), assim como a vitamina B6 e B12 são empregados como cofatores^{70,71}.

Estudos têm demonstrado que a deficiência do folato, cofator na metabolização da homocisteína (convertendo em metionina), pode levar a uma hiperhomocisteinemia e essa insuficiência enzimática estaria associada aos polimorfismos rs1801133 (C677T) e rs1800131 (A1298C). Há algumas

evidências de que esses polimorfismos possam estar possivelmente associados à depressão ^{70,71, 72}.

Outros estudos ressaltam a relevância entre MTHFR e diversas outras doenças, como doenças cardiovasculares, tumores, doenças neurológicas, além de diferentes transtornos psiquiátricos ⁷⁰. Há, no entanto, outros estudos relatando resultados inconclusivos ^{73,74}.

1.6.7 Proteína Alvo da Rapamicina (*MTOR*)

A proteína alvo da rapamicina (MTOR da sigla em inglês “*mammalian target of rapamycin*”) também conhecido como alvo mecanístico da rapamicina é uma treonina-quinase que tem sua ação inibida pela rapamicina (Guertin e Sabatini, 2005) ⁷⁵. A mTOR modula a plasticidade sináptica pela regulação da fosforilação de dois alvos: a proteína ribossomal S6K e a proteína de ligação 4E. A via de sinalização de mTOR está associado com diversos mecanismos fisiológicos do sistema nervoso. Essa proteína é formada por dois complexos proteicos: complexo 1 da mTOR (mTORC1) e complexo 2 da mTOR (mTORC2), e parece participar nos processos moleculares no desenvolvimento de sintomas depressivos ^{75, 76, 77}.

Especula-se que as alterações na sinalização de mTOR possam estar envolvidos em dificuldades nos mecanismos de aprendizagem, memória, e assim como, participação em transtornos psiquiátricos ^{75,78}

Em 2015, um estudo demonstrou uma falha na sinalização da proteína mTOR em pacientes com transtorno bipolar no período de fase com sintomas

depressivos. Além disso, alguns fármacos antidepressivos como imipramina, fluoxetina e mais recentemente a cetamina, parecem ter efeitos também na via de sinalização do mTOR ⁷⁹. Sendo assim, pesquisas sugerem que alterações na via de sinalização da mTOR podem estar contribuindo no desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos, incluindo o transtorno depressivo ⁸⁰.

1.6.8 Proteína C-Reativa (CRP), Interleucina 6 (IL6), Interleucina 10 (IL10) e Fator Necrose Tumoral (TNF)

Diversos estudos apontaram um aumento dos níveis de citocinas inflamatórias e seus receptores solúveis em sangue periférico de indivíduos com transtornos relacionados ao humor e ansiedade, relatando uma desregulação do sistema imune na patogênese desses transtornos ^{81,82}.

Investigar genes relacionados com a expressão e regulação da produção de citocinas é também uma boa estratégia para compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de quadros depressivos e ansiosos, pois a literatura vem relatando correlações entre os genes de citocinas com transtornos depressivos ⁵⁹.

As citocinas são peptídeos cuja principal função está relacionada à sinalização celular. Trata-se de uma categoria bastante ampla e diversa, e pode ser classificada de acordo com suas ações, como pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias de acordo com suas ações no corpo ⁸³.

A associação entre citocinas secretadas por macrófagos ativados (pró-inflamatórias), como a interleucina 6 (IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral (TNF)

com depressão tem sido proposta por alguns estudos ^{78,84}. Outros transtornos relacionados ao comportamento como, humor negativo, inatividade, entre outros, também foram associados à ativação de citocinas pró-inflamatórias ⁸⁴.

De acordo com a literatura, quando ocorre um aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e o TNF pode estar correlacionado a alterações de comportamentos (sintomas) associados a transtornos depressivos ⁷⁸. Outros relatos envolvendo pessoas idosas observaram correlação de níveis elevados de TNF com transtornos de humor e ansiedade ^{82,85}.

A Interleucina 10 (IL-10) também conhecida como uma citocina tipo 2 de linfócitos T está envolvida na regulação negativa das reações inflamatórias, ou seja, essa interleucina é capaz de suprir a produção de citocinas pró-inflamatórias. Um estudo relatou um aumento de IL-10 em pacientes idosas com transtorno depressivo de moderado a grave, levando a hipótese dessa interleucina estar associada à depressão ⁸⁶.

Ainda dentro do processo inflamatório, a Proteína C-Reativa (CRP) é uma proteína produzida no fígado e encontra-se circulante no plasma sanguíneo, cuja principal função é a resposta aguda a alguma inflamação sistêmica. Alguns estudos tem observado um aumento dessa proteína em pacientes deprimidos. Além disso, alguns polimorfismos do gene *CRP* foram descritos na literatura por estarem associados aos sintomas depressivos e também, algumas outras pesquisas sugerem que os processos inflamatórios podem atuar como um fator na patogênese do transtorno de ansiedade ^{87,88,89}.

De acordo com o estudo de Su et al (2009) ⁹⁰, estudos com gêmeos têm mostrado uma relação entre depressão e a ativação do sistema imune,

demonstrando uma correlação robusta entre a gravidade dos sintomas depressivos e o aumento de IL6 e proteína C-reativa no sangue. Os diversos achados na literatura que associam inflamação e depressão não se limitam apenas aos níveis plasmáticos dessas proteínas, dado que, muitos estudos sugerem que variantes alélicas dos genes *IL6*, *IL10*, *TNF* e *CRP* aumentam o risco para sintomas depressivos e ansiosos ^{91,92},

1.7 Justificativa para o presente estudo

A partir de estudos genético-epidemiológicos, sabe-se hoje que a contribuição do componente genético para o desenvolvimento de transtornos depressivos ou transtornos ansiosos é por volta de 30-40%. Com base nesses resultados, diversos grupos de pesquisas têm procurado nas últimas décadas identificar os genes envolvidos na susceptibilidade para depressão e ansiedade. Apesar dos esforços, os resultados desses estudos genético-moleculares ainda não são conclusivos. Portanto, os fatores etiológicos e os mecanismos moleculares para o desenvolvimento de transtornos depressivos e ansiosos permanecem ainda pouco conhecidos.

No Brasil, não existem estudos de investigação genética para depressão e ansiedade em idosos de base populacional, com isso, na tentativa de contribuir com a literatura, o presente estudo propõe-se investigar uma população mais específica, envolvendo apenas pessoas com idade igual ou superior a 60 anos, onde serão avaliados polimorfismos genéticos de genes candidatos e sua correlação com a sintomatologia depressiva e/ou ansiosa.

A seleção dos genes e seus respectivos polimorfismos aqui estudados foram descritos na literatura científica como genes candidatos para depressão e/ou ansiedade ou também para outros transtornos psiquiátricos. Apesar de existir diversos genes e polimorfismos, a escolha de cada um foi baseada em publicações prévias promissoras, no qual decidimos investigar em nossas amostras.

Além disso, incluímos uma avaliação cognitiva, pois a alteração da cognição é frequentemente relatada em idosos (presença de déficit cognitivo ou mesmo quadro demencial), com o objetivo de incluir essa sintomatologia apenas em grau leve nas análises para a identificação de genes de vulnerabilidade para sintomas depressivos e/ou ansiosos.

Os genes candidatos selecionados para o estudo foi discutido acima, na parte da introdução, e resumidos na tabela abaixo (tabela 1).

Tabela 1. Revisão da literatura dos genes selecionados para o estudo.

GENES	NOME OFICIAL	POLIMORFISMOS
<i>5HTT</i>	<i>solute carrier family 6 member 4</i>	5HTTLPR- rs4583306- rs2020933- rs8071667- rs4251417- rs2020942-rs6355
<i>APOE</i>	<i>apolipoprotein E</i>	rs7412- rs429358- rs405509
<i>AGTR1</i>	<i>angiotensin II receptor type 1</i>	rs5186
<i>BDNF</i>	<i>brain derived neurotrophic factor</i>	rs6265
<i>COMT</i>	<i>catechol-O-methyltransferase</i>	rs4680- rs737865- rs165599
<i>CRP</i>	<i>C-reactive protein</i>	rs1205- rs3093058- rs1417938- rs1800947- rs3093066- rs2808630
<i>IL6</i>	<i>interleukin 6</i>	rs1800795
<i>IL10</i>	<i>interleukin 10</i>	rs1800896
<i>MTHFR</i>	<i>methylenetetrahydrofolate reductase</i>	rs1801133- rs1801131
<i>MTOR</i>	<i>mechanistic target of rapamycin kinase</i>	rs2295080
<i>TNF</i>	<i>tumor necrosis factor</i>	rs1800629

OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1 Objetivo Principal

- Identificar variantes genéticas de genes candidatos associadas a um maior risco para desenvolver sintomas depressivos e/ou ansiosos em pacientes idosos.

2.2 Objetivos Secundários

- Organizar grupos de sintomatologia depressiva e ansiosa baseado nas pontuações da mediana das escalas de depressão (CES-D), ansiedade (GAI) e cognição (MEEM);

- Realizar análise de associação entre os polimorfismos de cada gene e os grupos ordenados segundo as pontuações das medianas da CES-D, GAI e MEEM;

- Realizar análise de associação conjunta com os polimorfismos que apresentaram resultados estatisticamente significativos nas análises individuais para cada marcador.

3. Métodos

3.1 Metodologia Clínica

3.1.1 Casuística

Este projeto de mestrado é parte do projeto temático: “Prevenção e Tratamento da Depressão em Idosos: um estudo de base populacional” (FAPESP: nº 2012/50010-0) sob coordenação inicial do Prof. Dr. Cássio Bottino e após o seu falecimento em 19/09/2016, coordenado pelo Prof. Dr. Geraldo Busatto Filho.

O estudo selecionou indivíduos idosos que eram atendidos pelas Unidades Básicas de Saúde (UBS) da região do Butantã (distritos de Raposo Tavares e Rio Pequeno), onde procurou identificar sintomas depressivos e/ou ansiosos subsindrômicos para essa faixa etária de 60 anos ou mais. Os idosos que apresentaram esses sintomas foram posteriormente avaliados com uma entrevista psiquiátrica estruturada para identificar quais desses idosos apresentavam transtorno depressivo e/ou ansiosos.

3.1.2 Critérios de Inclusão

Idosos com idade igual ou superior a 60 anos, matriculados na Unidade Básica de Saúde (UBS) da região do Butantã (Projeto Região Oeste), e que aprovaram com as informações apresentadas no termo de consentimento livre,

aceitando assim, serem avaliados em suas residências por entrevistadores treinados.

3.1.3 Critérios de Exclusão

Foram dispensados os indivíduos que apresentaram dificuldades em se locomover, acamados, e portadores de doença clínica grave descompensada.

3.1.4 Instrumentos para Avaliação de Sintomas Depressivos e Ansiosos

Para o rastreio de sintomas depressivos foi utilizada a CES-D (*Center for Epidemiologic Studies Depression Scale*), que contém 20 itens (com variação do escore de 0 a 60), essa escala avaliou os sentimentos e comportamentos dos indivíduos decorrentes nas duas últimas semanas ^{72,73,95}.

A GAI (*Geriatric Anxiety Inventory*) é um instrumento rápido para avaliar ansiedade em população idosa. É constituído por 20 itens no qual o idoso deverá marcar a resposta declarando em aprovar ou desaprovar das informações apontadas ^{96,97}.

Para rastreio cognitivo, foi utilizado o MEEM (*Mini-Exame do Estado Mental*), sendo o teste mais usado em todo o mundo com capacidade de avaliar cinco áreas de cognição: orientação, registro, atenção e cálculo, recuperação e linguagem, com escores variando de 0 a 30 pontos. Se o indivíduo atinge um escore de 23/24 pontos é considerado como indicativo de déficit cognitivo e possível demência. Os seguintes pontos de corte foram

utilizados neste presente estudo: analfabetos < 18 pontos, 1 a quatro anos de escolaridade < 23, 5 a 8 anos de escolaridade < 25, e mais de nove anos de escolaridade < ^{98,99,100}.

O fluxograma (figura 1) representa o esquema da seleção dos participantes segundo os a amostragem, critérios de inclusão e exclusão e também pelas escalas de rastreio (CES-D, GAI e MEEM).

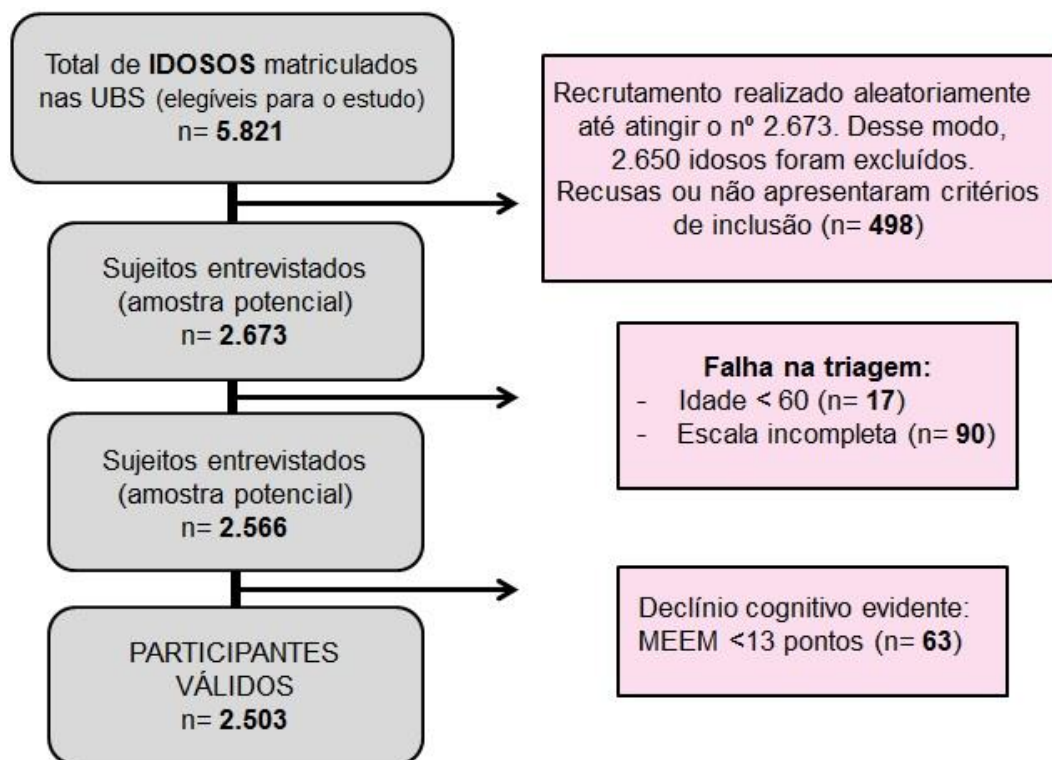


Figura 1. Fluxograma de seleção dos participantes para o estudo.

3.2 Metodologia Laboratorial

3.2.1 Coleta da Amostra Biológica

Foi coletado amostras de sangue total por punção de veia periférica, aproximadamente 5mL (mililitros), em tubos contendo anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) e encaminhados ao laboratório de Patologia Clínica do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas para serem processados e armazenados no banco de DNA do Programa de Genética e Farmacogenética (PROGENE) do IPq-HC-FMUSP.

3.2.2 Extração do Material Genético

A extração de DNA (ácido desoxirribonucleico) das amostras foi realizada pela técnica de *Salting-Out*¹⁰¹, conforme o protocolo descrito a seguir:

Na primeira etapa foi transferido o sangue total do tubo de coleta para um tubo falcon de 50mL previamente identificado e foram adicionados 10mL de tampão A (1mM NH₄HCO₃; 144mM NH₄Cl) e homogeneizado e deixado a 4°C por 10 minutos. Concluído este período, as amostras foram centrifugadas a 3.000rpm (rotação por minuto) por 10 minutos a 4°C também. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado em um recipiente contendo cloreto de sódio (NaCl) a 1%, e ao material condensado (*pellet*) foram adicionados 20mL de tampão A que foi ressuspendido através de agitação em vórtex, posteriormente, a solução foi incubada novamente a 4°C por 10 minutos e em seguida, centrifugada nas mesmas condições supracitadas.

O processo de lavagem foi realizado por três vezes seguidas, ao término da última lavagem, o sobrenadante foi descartado. Após esse processo, foi acrescentado ao sedimento leucocitário 3mL de tampão B (10mM Tris-HCl 1M

pH 8,0; 400mM NaCl; 2mM Na₂EDTA 0,5M pH 8,0), 200µL (microlitro) de SDS (*sodium dodecyl sulfate*) e 10µL de proteinase K (20mg/mL). A solução foi homogeneizada em vórtex até ficar com aspecto de clara em neve e incubada a 37°C por 18 horas.

A segunda etapa é iniciada após o período de incubação, 1mL de NaCl (cloreto de sódio) 6M foi adicionado à solução e agitada em vórtex por um minuto. Foi executada outra centrifugação a 4°C por 20 minutos a 3.000rpm. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido para um tubo falcon de 15mL com acréscimo de 9mL de etanol absoluto gelado. Foi realizada a homogeneização da solução por inversão e incubada a 4°C durante 20 minutos.

O DNA precipitado com o auxílio de uma ponteira estéril para um tubo, foi transferido para um tubo *ependorf* de 1,5mL contendo 1mL de etanol 70%. Os tubos contendo o DNA foram centrifugados a 13.000rpm por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante proveniente da centrifugação foi descartado, e o *pellet* formado foi mantido em temperatura ambiente por 12 horas.

Concluído este período, a terceira e última etapa o *pellet* foi eluído com 200µL de água livre de DNAses/RNAses e incubado em banho seco a 56°C por uma hora até que o DNA fosse dissolvido. Após a incubação, as amostras foram conservadas em freezer -20°C até o momento do uso.

- **Tampão A:** Lisar as hemácias na primeira lavagem e retirar a hemoglobina na segunda lavagem;
- **Tampão B:** Proporciona um ambiente favorável ao DNA quando este é liberado, mantendo-o intacto;

- **SDS:** Facilita o rompimento dos leucócitos e, conseqüentemente, a liberação do DNA;
- **Proteínase K:** Destrói as proteínas que não são importantes para o procedimento;
- **NACI 6M:** Precipita as proteínas liberadas na fase de lise e neutraliza as cargas do DNA, facilitando sua precipitação quando acrescenta o etanol a 100%.

3.2.3 Purificação das Amostras de DNA

As amostras de DNA foram purificadas com a utilização do *PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)* de acordo com o protocolo do fabricante. O processo de purificação ocorreu em três fases distintas:

- **Fase de Ligação:** Em um *ependorf* de 1,5mL foram adicionados 200µL da amostra de DNA juntamente com 200µL de *Binding Buffer*. Homogeneizamos a mistura em vórtex e incubamos em banho seco por dez minutos a 55°C. Após concluir a incubação, foram acrescentados 200µL de etanol 100% à solução, em seguida, homogeneizamos novamente no vórtex por cinco segundos. Transferimos o homogeneizado do *ependorf* para uma coluna conectada a um tubo coletor. Centrifugamos o conjunto a 10.000xg (força centrífuga) por um minuto, o transposto foi descartado e a coluna conectada a um novo tubo.
- **Fase de Lavagem:** Foram adicionados 500µL de *Wash Buffer 1* na coluna centrifugados a 10.000xg por minuto. Descartamos o tubo coletor e conectamos a coluna ao novo tubo no qual foi preenchida com 500µL da

solução *Wash Buffer 2*. Foi realizada uma nova centrifugação em velocidade máxima por três minutos. Concluída a centrifugação, o tubo coletor foi descartado.

- **Fase de Eluição:** A coluna foi conectada a um tubo *ependorf* de 1,5mL. Posteriormente, foram adicionados 50µL do tampão de eluição e incubado em temperatura ambiente por um minuto. O processo de purificação é finalizado com uma centrifugação em velocidade máxima por um minuto. O DNA transposto foi avaliado quanto à qualidade e integridade.

3.2.4 Qualidade da amostra de DNA

Após a purificação, as amostras de DNA foram quantificadas em NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), pela absorvância das preparações a 260 nanômetros (nm), sendo utilizado como valor padrão uma unidade de densidade óptica (DO), que equivale a 50µg/mL de DNA ¹⁰².

3.2.5 Integridade da amostra de DNA

A verificação da integridade do DNA foi realizada em gel agarose 2% corado com brometo de etídio. As amostras puras e um marcador de 100pb são aplicados junto com Loading Buffer no gel, e corridos a 100V (tensão), 60mA (corrente elétrica) e 40W (potência) por 25 minutos. O DNA íntegro é visualizado como uma banda na região superior do gel ¹⁰³.

3.2.6 Genotipagem

A análise genotípica foi realizada com 11 genes candidatos para transtornos de depressão e/ou ansiedade. A tabela abaixo (tabela 2) apresenta os genes estudados, os polimorfismos e seus respectivos alelos.

Tabela 2. Onze genes candidatos com os 27 polimorfismos e seus respectivos alelos.

GENES	NOME OFICIAL	POLIMORFISMOS	ALELOS
5HTT	<i>serotonin transporter</i>	5HTTLPR	L/S
		rs4583306	A/G
		rs2020933	A/T
		rs8071667	C/T
		rs4251417	C/T
		rs2020942	C/T
		rs6355	C/G
APOE	<i>apolipoprotein E</i>	rs7412*	C/T
		rs429358*	C/T
		rs405509	G/T
AGTR1	<i>angiotensin II receptor type 1</i>	rs5185	A/C
BDNF	<i>brain derived neurotrophic factor</i>	rs6265	C/T
COMT	<i>catechol-O-methyltransferase</i>	rs4680	A/G
		rs737865	A/G
		rs165599	A/C
CRP	<i>C-reactive protein</i>	rs1205	C/T
		rs3093058	A/T
		rs1417938	A/T
		rs1800947	C/G
		rs3093066	G/T
		rs2808630	C/T
IL6	<i>interleukin 6</i>	rs1800795	C/G
IL10	<i>interleukin 10</i>	rs1800896	T/C
MTHFR	<i>methylenetetrahydrofolate reductase</i>	rs1801133	G/A
		rs1801131	G/T
MTOR	<i>mechanistic target of rapamycin kinase</i>	rs2295080	G/T
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>	rs1800629	A/G

* A combinação dos alelos dos polimorfismos rs7412 e rs429358 do gene da APOE resulta nos alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$.

Cada variante pode apresentar-se em três formas distintas de genótipo sendo o homozigoto (alelos iguais) ou heterozigoto (alelos diferentes), como por exemplo, o polimorfismo rs4680 do gene *COMT* possui os alelos A/G, sendo assim, o indivíduo pode ser homozigoto A/A ou G/G ou heterozigoto A/G.

3.2.7 PCR em Tempo Real

Com exceção da variante polimórfica *5HTTLPR*, os demais polimorfismos foram investigados por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real no *QuantStudio 12K Flex Real Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)* (figura 2). Em todas as reações, as amostras contendo o DNA foram diluídas para uma concentração final de 50ng/μL e transferidas primeiramente para placas de 96 poços. Em seguida, transferimos das placas de 96 poços 2μL das amostras de DNA para placas de 384 poços, sendo que, em cada poço, foram acrescentados 2μL de *2x TaqMan OpenArray Genotyping Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)*.

A mistura preparada anteriormente em cada placa de 384 poços (amostra de DNA e *Master Mix*) foi transferida para as lâminas utilizadas para genotipagem (*TaqMan®OpenArray® Genotyping Plate, Custom Format 32 QuantStudio™ 12K Flex*) juntamente com o auxílio do sistema *QuantStudio OpenArray AccuFill (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)*.

Após esse processo, as lâminas preparadas foram inseridas no equipamento *Plate Press (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)* e seladas com *OpenArray® lid*. Posteriormente a selagem, o espaço

existente entre a lâmina e a *lid* foi preenchido com o fluido de imersão, e o orifício foi tampado com o *plug*.

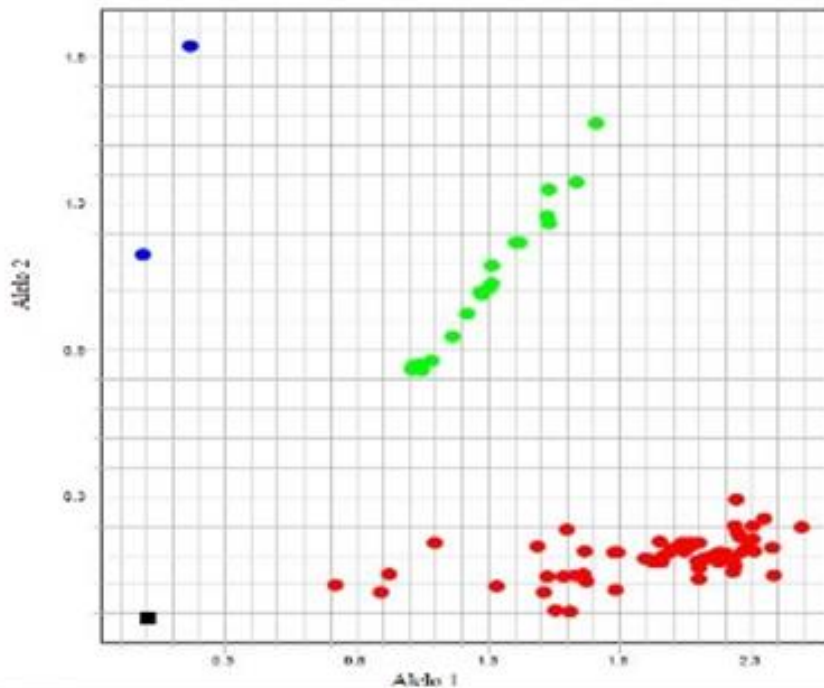


Figura 2. Plot de discriminação alélica do gene *BDNF* para o rs6265. As cores, vermelha, azul e verde representam os genótipos C/C (homozigoto de maior frequência), C/T (heterozigoto) e T/T (homozigoto de menor frequência), respectivamente.

3.2.8 PCR Convencional

O polimorfismo *5HTTLPR* (transportador de serotonina), por ser um polimorfismo do tipo VNTR (*variable number tandem repeats*), foi investigado por PCR convencional a partir de 75ng de DNA. A tabela abaixo descreve os oligonucleotídeos (*primers*) utilizados nas reações de PCR (tabela 3).

Tabela 3. Oligonucleotídeos utilizados na avaliação da variante polimórfica 5HTTLPR.

OLIGONUCLEOTÍDEOS	SEQUÊNCIAS (5' - 3')
<i>Forward</i>	GGCGTTGCCGCTCTGAATGC
<i>Reverse</i>	GAGGGACTGAGCTGGACAACCAC

Os experimentos foram realizados no equipamento *Veriti™ 96-Well Thermal Cycler* (*Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA*) abrangendo uma concentração final de 1,5mM de MgCl₂ (cloreto de magnésio); 1x PCR *buffer*; 36,4μM dos desoxirribonucleotídeos trifosfatados adenina, timina e citosina, e 18,2μM do trifosfatado guanina; 18,2μM de 7-deaza-dGTP; 0,5M de betaína; 10pmol de cada oligonucleotídeo e por fim, 2 unidades de *Platinum Taq DNA polimerase* para um volume final de 50μL de reação.

A ciclagem constituiu de uma desnaturação inicial de 95°C por 2 minutos, e 40 ciclos consecutivos de 95°C por 30 segundos, 60°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto e 30 segundos. Após o último ciclo, foi realizada uma extensão final de 72°C por 10 minutos.

Os produtos resultantes da PCR foram separados em gel agarose 2% durante 50 minutos a 100V, 60mA e 40W contendo brometo de etídio, e os fragmentos do DNA foram visualizadas em transiluminador (Figura 3).

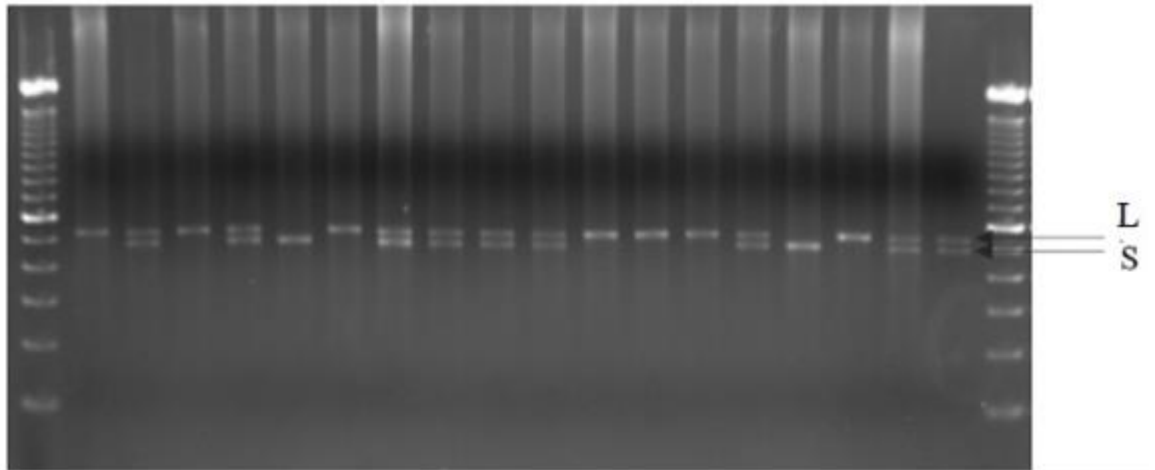


Figura 3. Gel representativo da eletroforese dos produtos da PCR para o polimorfismo 5HTTLPR. Em L e S são representados como alelos *long* e *short*, respectivamente.

3.3 Análises Estatísticas

Para a análise, primeiramente foi realizado o teste de *Hardy-Weinberg* (*Chi square test*: $p \leq 0,05$), para saber se a distribuição dos alelos e seus respectivos genótipos na população estudada estavam em equilíbrio.

3.3.1 Construção dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)

A mediana para cada escala aplicada (CES-D, GAI e MEEM) foi calculada a partir dos resultados dessas avaliações na nossa população estudada. Em seguida, utilizou-se o valor da mediana para estabelecer dois valores categóricos, sendo 0 (zero) e 1 (um) para indicar um valor menor ou maior da mediana. A tabela abaixo (tabela 4) detalha os valores “0” ou “1” para cada uma das medianas relacionadas a cada um dos instrumentos utilizados

no estudo (CES-D, GAI e MEEM). A partir dessas referências a mediana criou-se então os Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA).

Tabela 4. Construção de Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)

INSTRUMENTOS		MEDIANAS
GAI		Mediana
GAI-categórica	Maior que a mediana ("0") e Menor ou igual a mediana ("1")	
MEEM		Mediana
MEEM- categórica	Menor que a mediana ("0") e Maior ou igual a mediana de ("1")	
CES-D		Mediana
CES-D - categórica	Maior que a mediana ("0") e Menor ou igual a mediana de ("1")	

Usando o modelo de configuração binária, obtivemos a seguinte variável resposta: $GAI+2CESD+4MEEM$ para os Grupos de Sintomatologia Depressiva e Ansiosa. Esse modelo de configuração binária possibilita que haja combinações únicas para os valores categóricos para cada escala. A tabela 5 apresenta os valores categóricos para cada escala na construção do GSDA.

Tabela 5. Valores categóricos da construção dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e Ansiosa (GSDA).

GAI - Cat	MEEM-Cat	CESD-Cat
0	0	0
1	0	0
0	0	1
1	0	1
0	1	0
1	1	0
0	1	1
1	1	1

3.3.2 Análise dos polimorfismos individuais

A análise individual dos 27 polimorfismos foi realizada em etapas. Primeiro para cada um dos oito grupos do GSDA em associação a cada polimorfismo a partir das frequências genóticas foram calculadas as frequências alélicas observadas e segundo o equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foram calculadas os genótipos esperados. Foi realizado o teste de qui-quadrado de *Pearson* ao nível de significância de 5%. Quando encontramos alguma associação rejeitando H₀ a 5% foi realizado também teste de qui-quadrado comparando o grupo rejeitado com os demais grupos não rejeitados.

3.3.3 Análise conjunta dos polimorfismos

Após a realização da análise individual dos 27 polimorfismos, foi feita uma análise conjunta com o teste de qui-quadrado de *Pearson* dos polimorfismos que obtiveram resultados significativos na análise individual. Para a análise conjunta, também foi considerado o valor de p de $\leq 0,05$ (5%).

RESULTADOS

4. Resultados

4.1 População de estudo

De um total de 2.503 idosos entrevistados, o Laboratório de Genética Molecular recebeu 924 amostras de sangue. Dessas amostras coletadas, verificou-se que 26 coletas eram em duplicata (coleta em dois momentos distintos do mesmo indivíduo); oito idosos apresentavam transtorno de cognição; sete participantes tinham idade inferior a 60 anos; seis extrações de DNA não foram funcionantes; dois idosos estavam sem o valor das escalas aplicadas (CES-D, GAI e MEEM); e um idoso apresentava-se ausente no banco de dados. Portanto, o número final de amostras válidas para este estudo foi de 874 indivíduos.

O fluxograma abaixo (figura 4) está representando o n total de participantes válidos do estudo até atingir o n total de amostras válidas.

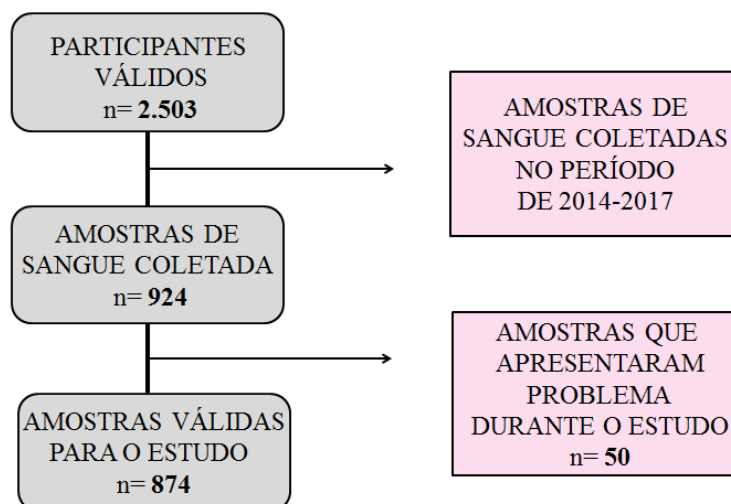


Figura 4. Fluxograma do n total de amostras válidas para o estudo.

A caracterização demográfica dos 874 participantes do estudo está representada na tabela 6.

Tabela 6. Caracterização demográfica dos participantes.

CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA	
ETNIA	n (%)
BRANCO	411 (47,02%)
PARDO	346 (39,59%)
NEGRO	106 (12,13%)
ASIÁTICO	07 (0,80%)
NÃO ESPECÍFICO	04 (0,46%)
IDADE	n (%)
60-70 anos	544 (62,25%)
71-80 anos	271 (31%)
> 81 anos	59 (6,75%)
SEXO	n (%)
MASCULINO	335 (38,33%)
FEMININO	539 (61,67%)
ESTADO CIVIL	n (%)
SOLTEIRO (A)	83 (9,5 %)
CASADO (A)	518 (59,27%)
DIVORCIADO (A)	44 (5,03%)
SEPARADO (A)	22 (2,52 %)
VIÚVO (A)	205 (23,46%)
OUTRO	1 (0,11 %)
NÃO RESPONDEU	1 (,011 %)
RELIGIÃO	n (%)
CATÓLICO	592 (67,74%)
PROTESTANTE / EVANGÉLICA	212 (24,26)
ESPÍRITA	29 (3,32%)
JUDAICA	0 (0%)
MULÇUMANA	0 (0%)
TESTEMUNHA DE JEOVÁ	3 (0,34%)
OUTRA	18 (2,06%)
NENHUMA	16 (1,83%)
NÃO SABE	1 (0,11%)
NÃO RESPONDEU	3 (0,34%)
NÍVEL DE ESCOLARIDADE	n (%)
PRIMÁRIO	457 (52,29%)
GINÁSIO	169 (19,34%)
COLEGIAL	95 (10,87%)
MAGISTÉRIO	1 (0,11%)
TÉCNICO	3 (0,34%)
SUPERIOR	23 (2,64%)
PÓS GRADUAÇÃO	1 (0,11%)
NÃO SABE	5 (0,57%)
NÃO RESPONDEU	120 (13,73%)
ESTÁ TRABALHANDO	n (%)
NÃO, estou aposentado (a)	628 (71,85%)
SIM	178 (20,37%)
NÃO SABE	8 (0,91%)
NÃO RESPONDEU	60 (6,87%)
TOTAL	874 (100%)

4.2 Amostras válidas

Os 27 polimorfismos propostos pelo estudo foram investigados por análise genotípica. O valor do total de participantes (valor de “n”) foi diferente de acordo com a análise de cada variante investigada (tabela 7), pois, algumas poucas amostras demonstram-se indeterminadas, não amplificadas ou inválidas para alguns polimorfismos. Desta maneira, por não apresentarem o genótipo conclusivo para o polimorfismo, foram excluídas.

Tabela 7. Número de amostras válidas para cada polimorfismo após a análise genotípica

GENE	POLIMORFISMOS	N DE AMOSTRA VÁLIDAS
<i>5HTT</i>	5HTTLPR	851
<i>5HTT</i>	rs4583306	863
<i>5HTT</i>	rs2020933	858
<i>5HTT</i>	rs8071667	855
<i>5HTT</i>	rs4251417	865
<i>5HTT</i>	rs2020942	865
<i>5HTT</i>	rs6355	867
<i>APOE</i>	rs7412	865
<i>APOE</i>	rs429358	853
<i>APOE</i>	rs405509	852
<i>AGTR1</i>	rs5186	860
<i>BDNF</i>	rs6265	862
<i>COMT</i>	rs4680	867
<i>COMT</i>	rs737865	843
<i>COMT</i>	rs165599	865
<i>CRP</i>	rs1205	861
<i>CRP</i>	rs3093058	863
<i>CRP</i>	rs1417938	858
<i>CRP</i>	rs1800947	866
<i>CRP</i>	rs3093066	864
<i>CRP</i>	rs2808630	863
<i>IL6</i>	rs1800795	853
<i>IL10</i>	rs1800896	850
<i>MTHFR</i>	rs1801133	865
<i>MTHFR</i>	rs1801131	861
<i>MTOR</i>	rs2295080	858
<i>TNF</i>	rs1800629	863

4.3 Medianas dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)

O valor da mediana foi calculado para cada escala (CES-D, GAI e MEEM) e utilizado para estabelecer valores categóricos distintos, fixados em zero (“0”) e um (“1”). Para CES-D e GAI os valores acima da mediana foram categorizados como zero (“0”), enquanto os valores abaixo da mediana como um (“1”). Para a escala MEEM, os valores abaixo da mediana foram classificados como zero (“0”), e os valores acima da mediana como um (“1”). (Tabela 8).

O estabelecimento dessa categorização está associado à pontuação das escalas, já que, para as escalas CES-D e GAI o aumento na pontuação é indicativo de sintomatologia depressiva e ansiosa, por outro lado, para a escala MEEM, diminuição na pontuação indica menor capacidade cognitiva.

Tabela 8. Categorização das medianas das escalas GAI, MEEM e CES-D.

INSTRUMENTOS	MEDIANAS
GAI	5
GAI-categórica	$> 5 = 0 / \leq 5 = 1$
MEEM	25
MEEM- categórica	$< 25 = 0 / \geq 25 = 1$
CES-D	10
CES-D - categórica	$> 10 = 0 / \leq 10 = 1$

4.4 Grupos de Sintomatologia Depressiva e Ansiosa (GSDA).

A partir do modelo de configuração binária (GAI+2CES-D+4MEEM) (descrito na seção 3.3.1 da Metodologia), obtivemos combinações únicas dos

valores categóricos das medianas das escalas aplicadas, o que, resultou em 8 (oito) categorias distintas e permitiu a construção dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e Ansiosa (GSDA) do estudo, com isso, os 874 idosos do estudo foram distribuídos de acordo com os grupos originados (Tabela 9).

Tabela 9. Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA) e o n total de idosos em cada grupo originado.

GSDA	GAI - Cat	MEEM-Cat	CESD-Cat	N DE IDOSOS
0	0	0	0	150
1	1	0	0	39
2	0	0	1	41
3	1	0	1	134
4	0	1	0	181
5	1	1	0	65
6	0	1	1	63
7	1	1	1	201

Tabela 10. Representação dos Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA)

GRUPOS DE SINTOMATOLOGIA DEPRESSIVA E ANSIOSA (GSDA)	
0	Sintomatologia depressiva; Sintomatologia ansiosa; Cognição abaixo da mediana
1	Sintomatologia depressiva; Sem sintomatologia ansiosa; Cognição abaixo da mediana
2	Sem sintomatologia depressiva; Sintomatologia ansiosa; Cognição abaixo da mediana
3	Sem sintomatologia depressiva; Sem sintomatologia ansiosa; Cognição abaixo da mediana
4	Sintomatologia depressiva; Sintomatologia ansiosa; Cognição acima da mediana
5	Sintomatologia depressiva; Sem sintomatologia ansiosa; Cognição acima da mediana
6	Sem sintomatologia depressiva; Sintomatologia ansiosa; Cognição acima da mediana
7	Sem sintomatologia depressiva e ansiosa; Cognição acima da mediana

4.5 Resultado da análise genotípica dos polimorfismos

4.5.1 Análise dos polimorfismos individuais

Todos os 27 polimorfismos investigados encontravam-se em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*, desta forma, prosseguimos com a análise individual dos polimorfismos. Avaliamos a possível associação entre os genótipos dos polimorfismos e os Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa (GSDA).

Nesta primeira análise, avaliamos a distribuição genotípica dos polimorfismos em associação aos grupos do GSDA, considerando-se estatisticamente significativo ao nível 5%.

As tabelas abaixo (tabelas 11 a 19) representam a análise realizada da distribuição dos genótipos e probabilidade dos alelos em associação aos grupos que apresentaram resultados significativos a 5% para algum dos oito grupos do GSDA.

Tabela 11. Variante rs2020933 do gene *5HTT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - rs2020933															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado			n total	Cálculo Qui- Quadrado			p- value	Resultado	
	AA	AT	TT			AA	AT	TT		AA	AT	TT			Qui ²
0	95	49	5	149	0,802	95,84	47,32	5,84	149	0,007	0,060	0,121	0,188	66,45%	Nrejeita 5%
1	32	5	2	39	0,885	30,52	7,96	0,52	39	0,072	1,102	4,223	5,396	2,02%	Rejeita 5%
2	21	16	2	39	0,744	21,56	14,87	2,56	39	0,015	0,086	0,124	0,224	63,57%	Nrejeita 5%
3	94	34	2	130	0,854	94,78	32,45	2,78	130	0,006	0,074	0,217	0,298	58,50%	Nrejeita 5%
4	129	49	2	180	0,853	130,90	45,20	3,90	180	0,028	0,320	0,927	1,274	25,90%	Nrejeita 5%
5	44	16	4	64	0,813	42,25	19,50	2,25	64	0,072	0,628	1,361	2,062	15,10%	Nrejeita 5%
6	47	15	0	62	0,879	47,91	13,19	0,91	62	0,017	0,250	0,907	1,174	27,86%	Nrejeita 5%
7	149	43	3	195	0,874	149,08	42,84	3,08	195	0,000	0,001	0,002	0,003	95,93%	Nrejeita 5%
n total	611	227	20	858					858						

Tabela 12. Variante rs8071667 do gene *5HTT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

5HTT- rs8071667																	
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo C	Esperado				n total	CC	CT	TT	Cálculo Qui- Quadrado			Resultado
	CC	CT	TT			CC	CT	TT	QUI ²					p- value			
0	93	45	10	148	0,780	90,14	50,73	7,14	148	0,091	0,646	1,149	1,886	16,96%	Nrejeita 5%		
1	22	15	2	39	0,756	22,31	14,37	2,31	39	0,004	0,027	0,043	0,075	78,49%	Nrejeita 5%		
2	29	6	5	40	0,800	25,60	12,80	1,60	40	0,452	3,613	7,225	11,289	0,08%	Rejeita 5%		
3	91	35	5	131	0,828	89,86	37,27	3,86	131	0,014	0,138	0,334	0,486	48,56%	Nrejeita 5%		
4	117	54	6	177	0,814	117,15	53,69	6,15	177	0,000	0,002	0,004	0,006	93,97%	Nrejeita 5%		
5	44	16	4	64	0,813	42,25	19,50	2,25	64	0,072	0,628	1,361	2,062	15,10%	Nrejeita 5%		
6	44	18	0	62	0,855	45,31	15,39	1,31	62	0,038	0,444	1,306	1,788	18,12%	Nrejeita 5%		
7	133	52	9	194	0,820	130,31	57,37	6,31	194	0,055	0,503	1,142	1,700	19,22%	Nrejeita 5%		
n total	573	241	41	855					855								

Tabela 13. Variante rs5186 do gene *AGTR1*: probabilidade do alelo de maior frequência a e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

AGTR1 - rs5186																	
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado				n total	AA	AC	CC	Cálculo Qui- Quadrado			Resultado
	AA	AC	CC			AA	AC	CC	QUI ²					p- value			
0	96	39	12	147	0,786	90,75	49,50	6,75	147	0,304	2,227	4,083	6,614	1,01%	Rejeita 5%		
1	27	11	1	39	0,833	27,08	10,83	1,08	39	0,000	0,003	0,006	0,009	92,35%	Nrejeita 5%		
2	22	17	1	40	0,763	23,26	14,49	2,26	40	0,068	0,436	0,699	1,203	27,27%	Nrejeita 5%		
3	80	43	9	132	0,769	78,05	46,91	7,05	132	0,049	0,325	0,541	0,915	33,88%	Nrejeita 5%		
4	109	58	13	180	0,767	105,80	64,40	9,80	180	0,097	0,636	1,045	1,778	18,24%	Nrejeita 5%		
5	39	23	1	63	0,802	40,48	20,04	2,48	63	0,054	0,437	0,883	1,375	24,10%	Nrejeita 5%		
6	40	21	1	62	0,815	41,13	18,73	2,13	62	0,031	0,274	0,602	0,907	34,09%	Nrejeita 5%		
7	125	64	8	197	0,797	125,12	63,76	8,12	197	0,000	0,001	0,002	0,003	95,72%	Nrejeita 5%		
n total	538	276	46	860					860								

Tabela 14. Variante rs6265 do gene *BDNF*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

BDNF- rs6265																	
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo C	Esperado				n total	CC	CT	TT	Cálculo Qui- Quadrado			Resultado
	CC	CT	TT			CC	CT	TT	QUI ²					p- value			
0	110	34	3	147	0,864	109,72	34,56	2,72	147	0,001	0,009	0,029	0,038	84,48%	Nrejeita 5%		
1	28	9	2	39	0,833	27,08	10,83	1,08	39	0,031	0,310	0,776	1,117	29,06%	Nrejeita 5%		
2	33	8	0	41	0,902	33,39	7,22	0,39	41	0,005	0,084	0,390	0,479	48,88%	Nrejeita 5%		
3	94	36	3	133	0,842	94,32	35,37	3,32	133	0,001	0,011	0,030	0,042	83,68%	Nrejeita 5%		
4	124	43	11	178	0,817	118,93	53,13	5,93	178	0,216	1,932	4,325	6,473	1,10%	Rejeita 5%		
5	51	12	1	64	0,891	50,77	12,47	0,77	64	0,001	0,018	0,072	0,090	76,36%	Nrejeita 5%		
6	47	14	2	63	0,857	46,29	15,43	1,29	63	0,011	0,132	0,397	0,540	46,24%	Nrejeita 5%		
7	142	54	1	197	0,858	144,98	48,04	3,98	197	0,061	0,739	2,231	3,031	8,17%	Nrejeita 5%		
n total	629	210	23	862					862								

Tabela 15. Variante rs165599 do gene *COMT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>COMT</i> - rs165599																
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado				n total	Cálculo Qui- Quadrado					Resultado
	AA	AG	GG			AA	AG	GG	AA		AG	GG	QUI ²	p- value		
0	29	75	43	147	0,452	30,08	72,83	44,08	147	0,039	0,064	0,027	0,130	71,83%	Nrejeita 5%	
1	11	22	6	39	0,564	12,41	19,18	7,41	39	0,160	0,415	0,268	0,843	35,84%	Nrejeita 5%	
2	10	24	6	40	0,550	12,10	19,80	8,10	40	0,364	0,891	0,544	1,800	17,97%	Nrejeita 5%	
3	26	78	29	133	0,489	31,77	66,47	34,77	133	1,047	2,001	0,957	4,005	4,54%	Rejeita 5%	
4	49	91	41	181	0,522	49,34	90,32	41,34	181	0,002	0,005	0,003	0,010	91,97%	Nrejeita 5%	
5	22	26	16	64	0,547	19,14	31,72	13,14	64	0,427	1,031	0,622	2,080	14,92%	Nrejeita 5%	
6	21	28	14	63	0,556	19,44	31,11	12,44	63	0,124	0,311	0,194	0,630	42,74%	Nrejeita 5%	
7	52	83	63	198	0,472	44,15	98,69	55,15	198	1,395	2,496	1,117	5,007	2,52%	Rejeita 5%	
n total	220	427	218	865					865							

Tabela 16. Variante rs1417938 do gene *CRP*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>CRP</i> - rs1417938																
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado				n total	Cálculo Qui- Quadrado					Resultado
	AA	AT	TT			AA	AT	TT	AA		AT	TT	QUI ²	p- value		
0	2	59	82	143	0,220	6,94	49,12	86,94	143	3,515	1,986	0,281	5,782	1,62%	Rejeita 5%	
1	2	15	22	39	0,244	2,31	14,37	22,31	39	0,043	0,027	0,004	0,075	78,49%	Nrejeita 5%	
2	4	16	20	40	0,300	3,60	16,80	19,60	40	0,044	0,038	0,008	0,091	76,33%	Nrejeita 5%	
3	7	48	77	132	0,235	7,28	47,44	77,28	132	0,011	0,007	0,001	0,018	89,20%	Nrejeita 5%	
4	11	66	102	179	0,246	10,82	66,37	101,82	179	0,003	0,002	0,000	0,006	94,07%	Nrejeita 5%	
5	6	19	39	64	0,242	3,75	23,49	36,75	64	1,344	0,859	0,137	2,340	12,61%	Nrejeita 5%	
6	4	27	32	63	0,278	4,86	25,28	32,86	63	0,153	0,117	0,023	0,292	58,87%	Nrejeita 5%	
7	16	62	120	198	0,237	11,16	71,69	115,16	198	2,103	1,309	0,204	3,615	5,72%	Nrejeita 5%	
n total	52	312	494	858					858							

Tabela 17. Variante rs1800795 do gene *IL6*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>IL6</i> - rs1800795																
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo C	Esperado				n total	Cálculo Qui- Quadrado					Resultado
	CC	CG	GG			CC	CG	GG	CC		CG	GG	QUI ²	p- value		
0	9	42	92	143	0,210	6,29	47,41	89,29	143	1,164	0,618	0,082	1,864	17,22%	Nrejeita 5%	
1	1	13	24	38	0,197	1,48	12,04	24,48	38	0,156	0,077	0,009	0,242	62,29%	Nrejeita 5%	
2	1	18	21	40	0,250	2,50	15,00	22,50	40	0,900	0,600	0,100	1,600	20,59%	Nrejeita 5%	
3	7	39	87	133	0,199	5,28	42,44	85,28	133	0,560	0,279	0,035	0,874	34,99%	Nrejeita 5%	
4	15	49	116	180	0,219	8,67	61,66	109,67	180	4,625	2,601	0,366	7,592	0,59%	Rejeita 5%	
5	1	20	41	62	0,177	1,95	18,10	41,95	62	0,464	0,200	0,022	0,686	40,76%	Nrejeita 5%	
6	7	22	33	62	0,290	5,23	25,55	31,23	62	0,602	0,493	0,101	1,196	27,41%	Nrejeita 5%	
7	9	65	121	195	0,213	8,83	65,34	120,83	195	0,003	0,002	0,000	0,005	94,28%	Nrejeita 5%	
n total	50	268	535	853					853							

Tabela 18. Variante rs1800896 do gene *IL10*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>IL10</i> - rs1800896																
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo C	Esperado				Probabilidade Alelo C	Cálculo Qui- Quadrado					
	CC	TC	TT	n total		CC	TC	TT	n total		CC	TC	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	22	50	73	145	0,324	15,23	63,53	66,23	145	3,005	2,882	0,691	6,577	1,03%	Rejeita 5%	
1	2	12	25	39	0,205	1,64	12,72	24,64	39	0,079	0,041	0,005	0,124	72,44%	Nrejeita 5%	
2	4	16	19	39	0,308	3,69	16,62	18,69	39	0,026	0,023	0,005	0,053	81,71%	Nrejeita 5%	
3	18	52	61	131	0,336	14,78	58,44	57,78	131	0,702	0,710	0,180	1,592	20,70%	Nrejeita 5%	
4	22	78	77	177	0,345	21,02	79,95	76,02	177	0,045	0,048	0,013	0,106	74,50%	Nrejeita 5%	
5	7	31	26	64	0,352	7,91	29,18	26,91	64	0,105	0,114	0,031	0,249	61,77%	Nrejeita 5%	
6	6	28	27	61	0,328	6,56	26,89	27,56	61	0,047	0,046	0,011	0,105	74,61%	Nrejeita 5%	
7	26	80	88	194	0,340	22,45	87,09	84,45	194	0,560	0,578	0,149	1,287	25,67%	Nrejeita 5%	
n total	107	347	396	850					850							

Tabela 19. Variante rs2295080 do gene *MTOR*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>MTOR</i> - rs2295080																
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo G	Esperado				Probabilidade Alelo G	Cálculo Qui- Quadrado					
	GG	GT	TT	n total		GG	GT	TT	n total		GG	GT	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	44	62	42	148	0,507	38,01	73,99	36,01	148	0,945	1,942	0,998	3,885	4,87%	Rejeita 5%	
1	7	16	16	39	0,385	5,77	18,46	14,77	39	0,263	0,328	0,103	0,693	40,50%	Nrejeita 5%	
2	11	23	6	40	0,563	12,66	19,69	7,66	40	0,217	0,557	0,358	1,132	28,73%	Nrejeita 5%	
3	28	62	41	131	0,450	26,57	64,85	39,57	131	0,077	0,126	0,051	0,254	61,44%	Nrejeita 5%	
4	41	87	51	179	0,472	39,89	89,22	49,89	179	0,031	0,055	0,025	0,111	73,91%	Nrejeita 5%	
5	14	33	17	64	0,477	14,54	31,93	17,54	64	0,020	0,036	0,016	0,072	78,86%	Nrejeita 5%	
6	16	26	19	61	0,475	13,79	30,43	16,79	61	0,355	0,644	0,292	1,291	25,59%	Nrejeita 5%	
7	43	89	64	196	0,446	39,06	96,88	60,06	196	0,397	0,640	0,258	1,295	25,51%	Nrejeita 5%	
n total	204	398	256	858					858							

Como foi apresentado nas tabelas acima (tabelas 10 a 18), alguns polimorfismos foram rejeitados estatisticamente a 5% para alguns grupos do GSDA, sendo eles, rs2020933 (grupo 1) tabela 11; rs8071667 (grupo 2) tabela 12; rs5186 (grupo 0) tabela 13; rs6265 (grupo 4) tabela 14; rs165599 (grupos 3 e 7) tabela 15; rs1417938 (grupo 0) tabela 16; rs1800795 (grupo 4) tabela 17; rs1800896 (grupo 0) tabela 18; rs2295080 (grupo 0) tabela 19.

Como descrito anteriormente, se a distribuição de genótipos de um determinado grupo apresentasse diferente do esperado, seria necessário realizar um novo teste de qui-quadrado, no qual, o grupo significativo seria analisado contra os demais grupos.

Realizamos um novo teste de qui-quadrado para os nove polimorfismos citados acima. As tabelas abaixo (tabelas 20 a 24) apresentam os resultados obtidos quando o grupo significativo do GSDA foi analisado contra os demais grupos não significativos.

Tabela 20. Variante rs8071667 do gene *5HTT*: grupo do GSDA significativo (grupo 2) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>5HTT</i> - rs8071667															
Genótipo	Observado				Esperado				Calculo Qui Quadrado						
	CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 2	29	6	5	40	26,81	11,27	1,92	40	0,107	2,958	3,475	6,54	6,981	0,0305	3,05%
Complemento	544	235	36	815	546,19	229,73	39,08	815	0,013	0,099	0,328	0,4408			
n total	573	241	41	855				855							

Tabela 21. Variante rs6265 do gene *BDNF*: grupo do GSDA significativo (grupo 4) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>BDNF</i> - rs6265															
Genótipo	Observado				Esperado				Calculo Qui Quadrado						
	CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 4	124	43	11	178	129,89	43,36	4,75	178	0,267	0,003	8,226	8,50	10,71	0,0047	0,47%
Complemento	505	167	12	684	499,11	166,64	18,25	684	0,069	0,001	2,141	2,21			
n total	629	210	23	862				862							

Tabela 22. Variante rs165599 do gene *COMT*: comparação entre os dois grupos significativos do GSDA (grupos 3 e 7).

<i>COMT</i> - rs165599															
Genótipo	Observado				Esperado				Calculo Qui Quadrado						
	AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 3	26	78	29	133	31,341	64,69	36,97	133	0,91	2,74	1,94	5,59			
Grupo 7	52	83	63	198	46,659	96,31	55,03	198	0,61	1,84	1,30	3,75	9,34	0,0094	0,94%
n total	78	161	92	331				331							

Tabela 23. Variante rs165599 do gene *COMT*: grupos do GSDA significativos (grupos 3 e 7) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>COMT</i> - rs165599															
Genótipo	Observado				Esperado				Calculo Qui Quadrado						
	AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 3	26	78	29	133	33,83	65,654	33,52	178	1,81	2,32	0,61	4,74	11,308	0,023	2,33%
Grupo 7	52	83	63	198	50,36	97,741	49,9	197	0,05	2,22	3,44	5,72			
Complemento	142	266	126	534	135,8	263,6	134,6	487	0,28	0,02	0,55	0,85			
n total	220	427	218	865				862							

Tabela 24. Variante rs1417938 do gene *CRP*: grupo do GSDA significativo (grupo 0) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>CRP</i> - rs1417938															
Genótipo	Observado				Esperado				Calculo Qui Quadrado						
	AA	AT	TT	n total	AA	AT	TT	n total	AA	AT	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 0	2	59	82	143	8,67	52,00	82,33	143	5,13	0,94	0,00	6,07	7,29	0,0069	0,69%
Complemento	50	253	412	715	43,33	260,00	411,67	715	1,03	0,19	0,00	1,21			
n total	52	312	494	858				858							

Conforme demonstrado nas tabelas acima, dos nove polimorfismos que apresentaram resultado diferente do esperado ($p \leq 5\%$) dos grupos quanto à distribuição de genótipos, apenas quatro dessas variantes apresentaram um valor de p estatisticamente significativo quando o grupo com H0 rejeitada foi comparado aos demais grupos. Sendo, portanto os polimorfismos rs8071667 ($p= 0,03$) do gene *5HTT* associado ao grupo 2 (tabela 20); rs6265 ($p= 0,004$) do gene *BDNF* associado ao grupo 4 (tabela 21); rs165599 ($p= 0,023$) do gene *COMT* associado aos grupos 3 e 7 (tabelas 22 e 23) e por fim, rs1417938 ($p= 0,006$) do gene *CRP* associado ao grupo 0 (tabela 24).

Para o polimorfismo rs165599 do gene *COMT* obtivemos dois grupos significativos (grupo 3 e 7). Desta maneira, fizemos um teste de qui-quadrado onde colamos um grupo contra o outro, ou seja, o grupo 3 contra o grupo 7 para testarmos se deveriam ser agregados ou não na comparação com os

demais grupos. Para ambos os testes, os dois grupos permaneceram associados, conforme foi demonstrado nas tabelas 22 e 23.

4.5.2 Análise conjunta dos polimorfismos

A análise conjunta dos polimorfismos foi baseada nos polimorfismos que apresentaram resultados significativos na análise individual. A análise foi realizada juntando os três genótipos dos polimorfismos e realizando o teste de qui-quadrado geral para todos os oito grupos do GSDA, conforme demonstrando abaixo na tabela 24.

Tabela 25. Associação conjunta dos polimorfismos rs165599 (*COMT*) e rs1417938 (*CRP*).

<i>COMT</i> - rs165599 + <i>CRP</i> - rs1417938														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui-Quadrado			
	AA + AA	AA + AT	AA + TT	AG + AA	AG + AT	AG + TT	GG + AA	GG + AT	GG + TT		QUI ²	QUI ² TOTAL	p- value	%
0	31	88	11	77	134	157	45	102	125	770	91,08			
1	13	26	33	24	37	44	8	21	28	234	4,13			
2	14	26	30	28	40	44	10	22	26	240	4,87			
3	33	74	103	85	126	155	36	77	106	795	8,36			
4	60	115	151	102	157	193	52	107	143	1080	4,60			
5	28	41	61	32	45	65	22	35	55	384	10,96			
6	25	48	53	32	55	60	18	41	46	378	6,70			
7	68	114	172	99	145	203	79	125	183	1188	19,08			
n total	272	532	614	479	739	921	270	530	712	5069		149,79	1,72E-10	0,00%

A partir dos resultados do teste de qui-quadrado de *Pearson* com nível de significância de 5% para a análise conjunta, em nosso estudo, encontramos associação dos genótipos agrupados dos polimorfismos rs165599 (*COMT*) e rs1417938 (*CRP*) (valor de p 1,72E-10) com os grupos do GSDA.

DISCUSSÃO
.....

5. Discussão

A etiologia para o desenvolvimento de sintomas e transtornos depressivos e/ou ansiosos são multifatoriais, envolvendo tanto os fatores de riscos ambientais como também os fatores genéticos. Além disso, depressão e ansiedade são transtornos prevalentes e, portanto, impacta de forma relevante na saúde da população e conseqüentemente na formulação de ações de saúde pública ¹⁰⁴.

A literatura científica evidencia que a manifestação de sintomas de depressão e/ou ansiedade em idosos muitas vezes estão associados aos declínios cognitivos e funcionais, perda de contato social, viuvez, baixa renda, baixa escolaridade, uso de medicamentos, isolamento social, falta de atividade social, doença grave e entre outros ¹⁰⁵.

No presente estudo, procurou-se identificar os fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento desses dois fenótipos complexos: a depressão e a ansiedade. Portanto, foram investigados genes candidatos que em publicações anteriores foram descritas a associação entre marcadores genéticos e quadros de sintomas depressivos e/ou ansiosos, ou seja, potenciais genes de suscetibilidade ou vulnerabilidade para a manifestação desses sintomas. Foi avaliado um total de 27 polimorfismos distribuídos em 11 genes distintos, sendo eles: *5HTT*, *APOE*, *AGTR1*, *BDNF*, *COMT*, *CRP*, *IL6*, *IL10*, *MTHFR*, *MTOR* e *TNF*.

No Brasil, até onde vai o nosso conhecimento, este estudo é pioneiro na investigação conjunta de polimorfismos de genes candidatos em uma amostra

de idosos de base populacional. Além disso, para a análise dos resultados, foi desenvolvida uma abordagem específica com base no valor das medianas das escalas aplicadas (CES-D, GAI e MEEM). Essa abordagem foi denominada de “Grupos de Sintomatologia Depressiva e/ou Ansiosa” (GSDA) e sendo a estratégia principal desse estudo nas análises de associação entre os polimorfismos investigados e os oito grupos originados do GSDA.

O desenvolvimento do GSDA (descrito na seção de método, páginas 34 e 35) se justifica pela dificuldade de praticamente não existir estudos no Brasil nessa área para a população idosa, e dessa forma poder criar referências de ponto de corte para as escalas CES-D e GAI. Por exemplo, para a escala CES-D, a maioria dos estudos internacionais utiliza como ponto de corte o valor igual ou superior a 16, entretanto, outros estudos usaram pontos de corte mais baixos, como por exemplo, o ponto de corte 13 ¹⁰⁶, e outros estudos com pontos de corte mais altos, por exemplo, o ponto de corte 20 ¹⁰⁷. Essas diferenças nos pontos de corte para estudos utilizando a CES-D deve ocorrer devido a diferentes características, como por exemplo, níveis sócio econômico, educacionais e culturais das amostras avaliadas. No Brasil, para a escala MEEM existem diferentes pontos de corte que são utilizados e muitas das versões utilizadas da MEEM adotaram como critério o nível de escolaridade para estabelecer um ponto de corte ¹⁰⁸.

Com isso, a construção do GSDA procurou identificar uma possível associação dos polimorfismos e os grupos subdivididos a partir das medianas das escalas estudadas. Essa classificação do GSDA resultou em oito grupos distintos, onde consideramos o grupo zero com a pior classificação das

medianas e o grupo sete com a melhor, já que, para CES-D e GAI, o aumento da pontuação é indicativo de sintomatologia depressiva e ansiosa respectivamente, enquanto que para a escala MEEM, a diminuição é indicativa de déficit cognitivo. Com essa abordagem, conseguimos avaliar melhor os resultados dos polimorfismos investigados, em outras palavras, diminuir as chances de um falso positivo. Importante salientar que os participantes da nossa investigação com MEEM abaixo da mediana, possam apresentar sintomas leves de déficit cognitivo, mas não haveria casos de sintomas graves ou até mesmo quadros de demência, visto que, os entrevistados com MEEM com escore abaixo de 13 (ponto de corte adotado para o rastreio dos participantes) foram excluídos.

Dos 27 polimorfismos estudados dos 11 genes candidatos para sintomatologia depressiva e/ou ansiosa, quatro deles apresentaram resultados estatisticamente significativos na análise individual para cada um dos polimorfismos em associação aos genótipos e os oito grupos do GSDA, sendo as variantes rs8071667 do gene *5HTT* para o grupo 2; rs6265 do gene *BDNF* para o grupo 4; rs165599 do gene *COMT* para os grupos 3 e 7 e rs14179938 do gene *CRP* para o grupo 0.

Diversas evidências associam a via de neurotransmissão serotoninérgica e seus genes relacionados na etiologia de depressão ^{34,109}. Primeiramente, em nossos achados o polimorfismo rs8071667 do gene transportador de serotonina (*5HTT*) apresentou-se estatisticamente significativo em associação ao grupo 2, grupo constituído por 41 idosos que possuem sintomatologia ansiosa e a cognição abaixo da mediana (não possuem

sintomatologia depressiva). Na literatura científica, não encontramos estudos com a variante rs8071667 em associação com apenas sintomas ansiosos e também nenhum estudo associando esse polimorfismo com problemas cognitivos.

Em contrapartida, encontramos apenas um estudo de 2009 semelhante ao nosso, que investigou a variante rs8071667 e níveis plasmáticos de interleucina-6 com sintomas depressivos em 360 homens gêmeos com idade média de 54 anos, no qual foi utilizando o Inventário de Depressão de Beck. Este estudo associou o alelo de menor frequência (T) estatisticamente significativo ($p=0,008$) para apenas sintomas depressivos ¹⁰⁹. De fato, a maioria dos estudos investigam apenas os sintomas de depressão associados à genética, mas sabemos que existem comorbidades entre os dois fenótipos ^{17,20}.

O polimorfismo mais investigado em estudos de associação entre o gene *5HTT* e depressão é o da região promotora 5HTTLPR, onde existem dois alelos: o alelo curto ou mais comumente dito “S” (abreviação do inglês: *short*) e o alelo longo “L” (abreviação do inglês: *long*). Vários estudos envolvendo o polimorfismo 5HTTLPR tem associado o alelo S (de menor frequência) à menor eficiência transcricional do transportador de serotonina e à vulnerabilidade para depressão ^{36,110}. Apesar disso, não foi encontrado associação estatisticamente significativa entre esse polimorfismo da região promotora e os grupos do GSDA.

A variante Val66Met (rs6265) do gene *BDNF* e seus níveis séricos alterados e indivíduos com depressão, podem influenciar a neurobiologia do Sistema Nervoso Central (SNC) ³⁴. A variante rs6265 do gene *BDNF* em nossa

análise também apresentou significância estatística, mas dessa vez foi associado ao grupo 4 do GSDA, grupo composto por 181 indivíduos que apresentaram sintomas para depressão e ansiedade (estão acima da mediana para a escala MEEM).

Em 2018, um estudo envolvendo diferentes marcadores genéticos investigou 95 argentinos deprimidos. Os resultados para o *BDNF* mostraram que o alelo G (Val) da variante rs6265 estava presente na maioria dos indivíduos (78%)⁵³.

Em 2019, um estudo em população malaia investigou o polimorfismo rs6265 em associação com indivíduos deprimidos e relatou que seria necessárias duas cópias do alelo polimórfico recessivo A (Met) para aumentar o risco de depressão⁵⁴. Sendo assim, na literatura podemos encontrar tanto para o genótipo AA (Met/Met) quanto o genótipo GG (Val/Val) associados ao risco para desenvolvimento de depressão. Além disso, esse mesmo polimorfismo também está associado a outros transtornos psiquiátricos como esquizofrenia e transtorno bipolar³⁴.

O gene da *COMT* e seus polimorfismos têm sido bastante estudados em transtornos psiquiátricos, entre eles, esquizofrenia, transtorno bipolar e depressão^{111,112}. Estudamos três polimorfismos desse gene (rs4680, rs737865 e rs165599), e em nossa investigação apenas a variante rs165599 apresentou significância estatística para o grupo 3 composto por 134 idosos com apenas a cognição abaixo da mediana (não apresentam sintomas depressivos e nem ansiosos), e também, foi significativo para o grupo 7, no qual consideramos como melhor grupo do GSDA porque todos os participantes desse grupo não

possuem sintomatologia depressiva e nem ansiosa e nem cognição abaixo da mediana. Na literatura, não encontramos estudos associando o polimorfismo rs165599 com efeitos cognitivos em população idosa.

Funke e colaboradores, partindo da hipótese de que o gene da COMT estaria envolvido em diferentes fenótipos psiquiátricos descreveram um estudo em 2005 onde eles genotiparam quatro variantes, entre elas, a variante rs165599 da COMT, em 394 casos de estadunidenses caucasianos e 467 controles. O alelo G do SNP rs16599 foi significativamente associado a todos os diagnósticos de afetados, incluindo transtornos depressivos e ansiosos ¹¹².

Outro estudo que teve como objetivo de analisar as variações de alguns genes que estão associados aos mecanismos de ação da duloxetina, um antidepressivo que pertence à classe de drogas conhecidas como inibidores seletivos da recaptção de serotonina e noradrenalina (ISRSN), Perlis e colaboradores (2009) demonstraram associação entre o rs165599 e alterações dos sintomas depressivos em pacientes tratados com essa droga, sugerindo uma replicação para descobrir a magnitude do efeito ¹¹³.

Apesar dos poucos achados na literatura envolvendo o polimorfismo rs165599 com depressão e/ou ansiedade os estudos encontrados apoiam a ideia de que este SNP pode possibilitar uma predisposição geral para doenças psiquiátricas, que de certa forma, pode acabar impactando na cognição dos indivíduos ^{111,112,113}.

Embora a variante Val158Met (rs4680) seja a variante mais estudada em transtornos depressivos e/ou ansiosos ⁶⁷, não encontramos nenhuma relação entre esse SNP e as amostras aqui estudada.

Diversos estudos têm tentado elucidar o papel da inflamação em associação à depressão e também a ansiedade ¹¹⁴. As variantes genéticas da CRP são amplamente estudadas em associação a esses dois fenótipos ^{87,115}.

Para o nosso estudo, investigamos os polimorfismos rs1205, rs3093058, rs1417938, rs1800947, rs3093066 e rs2808630. O único SNP que apresentou resultado estatisticamente significativo foi o rs1417938 em associação ao grupo 0 do GSDA. Nesse grupo, os idosos, possuem sintomatologia depressiva, ansiosa e também cognitiva (consideramos como o pior grupo).

Na base de dados da literatura científica, não encontramos resultados similares ao que encontramos, principalmente em população idosa, porém, um estudo em 2015 investigou 990 idosos com idade igual ou superior a 64 anos e realizaram a análise genotípica de cinco polimorfismos do gene *CRP*, dentre esses a variante rs1417938, no qual o genótipo AA desse polimorfismo apontou como um fator de proteção à depressão em mulheres, enquanto o polimorfismo rs1205 (TT) eram mais propensas a desenvolver sintomas depressivos e/ou ansiosos ¹¹⁵.

Outro achado envolvendo o polimorfismo rs1417938 (AT) foi um estudo com crianças deprimidas em 2016 que associou pelo menos um alelo A e níveis plasmáticos mais altos de proteína C-reativa ¹¹⁶. Em outro estudo, também com a variante rs1417938 do gene *CRP* genotipou um total de 200

adultos com sintomas de depressão e identificaram o alelo A desse polimorfismo como um fator para regulação dos níveis séricos de proteína C-reativa (aumentados ou diminuídos), e, portanto, estar associado à ocorrência de depressão ⁸⁹.

Os resultados das análises conjuntas foram obtidos a partir das análises individuais de cada polimorfismo. Como já descrito, os grupos 3 e 7 do GSDA foram associados ao SNP rs165599 e grupo 0 ao SNP rs1417938 e quando realizamos a associação conjunta dos genótipos dos dois SNPs os resultados permaneceram estatisticamente significativo para os três grupos (0, 3 e 7).

Como mencionado anteriormente, o polimorfismo rs165599 do gene da *COMT* tem sido muito investigado e relatado na literatura como uma variante que contribui como um fator de risco para diversos transtornos psiquiátricos, sendo relatados positivos predominantemente para esquizofrenia e transtorno bipolar ¹¹⁰. Já a variante rs1417938 do gene *CRP* já foi descrita como um potencial polimorfismo para depressão e/ou ansiedade ^{89,112}. Não encontramos nenhum outro estudo que associou essas duas variantes com sintomas de depressão e/ou ansiedade e também com cognição.

Além das análises individuais e das análises conjuntas, nosso estudo realizou também separadamente uma análise preliminar para o gene da APOE para os SNPS rs429358 e rs7412 em associação aos épsilons e obtivemos preliminarmente resultados significativos em associação ao genótipo e3/e3 aos grupos 0, 4 e 7 e aos alelos, sendo eles o alelo e3 associado aos grupos 4 e 7; e o alelo e4 aos grupos 0 e 7 do GSDA.

Por fim, a variante 5HTTLPR do gene *5HTT* muito relatado na literatura, assim como os demais genes investigados (*APOE*, *AGTR1*, *IL6*, *IL10*, *MTHFR*, *MTOR* e *TNF*), apresentaram resultados estatisticamente não significativos em nossa amostra estudada, apesar dos relatos na literatura associando esses genes com transtornos depressivos e ansiosos. Por outro lado, há também relatos de estudos negativos para as variantes desses genes.

Como toda investigação científica, nosso estudo apresenta algumas limitações metodológicas. A primeira a ser mencionada seria o tamanho amostral. Apesar da amostra total ser composta por 874 idosos, a subdivisão em oito grupos baseado nas três escalas (CES-D, GAI e MEEM) reduz o poder estatístico para identificar associações verdadeiras, mas não detectadas (falsos negativos), ou seja, dificultando a detecção de associação positiva pela análise estatística para alguns polimorfismos.

Para melhores esclarecimentos, em nosso estudo, não foi possível realizar uma análise em associação ao sexo, dado que, ao separar sexo feminino de masculino e ainda separar na divisão dos subgrupos originados do GSDA, o tamanho amostral seria muito baixo. E se mantivéssemos apenas separados em feminino e masculino perderíamos os grupos do GSDA.

A coleta de informações no estudo foi realizada por diferentes profissionais da área da saúde podendo ser um fator de variabilidade na abordagem e coleta das informações nas questões relativas a cada escala utilizada (CES-D, GAI e MEEM). Outro ponto seria o grau de heterogeneidade genética entre os indivíduos estudados. Sabemos que a população brasileira é

bastante heterogênea e, portanto, podendo também ser um fator de viés nos resultados encontrados.

CONCLUSÃO

6. Conclusão

Com este estudo, buscamos investigar em uma população de idosos brasileiros a relação entre sintomas depressivos e/ou ansiosos e polimorfismos de genes candidatos previamente descritos na literatura. Procuramos também desenvolver uma abordagem inovadora para a análise dos dados através da criação do GSDA para resolver em parte a falta de informação sobre o perfil desses polimorfismos na população brasileira.

Dos 11 genes estudados e seus 27 polimorfismos, os resultados estatisticamente significativos em nossa amostra para a análise individual foram observados em quatro desses polimorfismos, rs8071667 (do gene *5HTT*), rs6265 (do gene *BDNF*), rs165599 (do gene *COMT*) e rs1417938 (do gene *CRP*). Para a análise conjunta, quando agrupados os genótipos dos SNPs rs165599 (*COMT*) e rs1417938 (*CRP*), os resultados permaneceram significativos, ou seja, os dois polimorfismos em conjunto podem potencializar a predisposição para o desenvolvimento de depressão, ansiedade e também a parte cognitiva.

Apesar de não encontrarmos nenhum outro estudo na literatura científica com os resultados positivos aqui relatados, faz-se imperativo que novos

estudos, utilizando metodologia semelhante em amostras maiores e independentes reproduzam esses nossos achados iniciais para confirmar a relevância desses resultados.

Anexos

Anexo A- Escala de Rastreamento Populacional para Depressão (*Center for Epidemiologic Studies Depression Scale- CES-D*)

CENTER FOR EPIDEMIOLOGIC STUDIES – DEPRESSION SCALE

(CES-D)

Instruções: Abaixo há uma lista de sentimentos e comportamentos. Por favor, assinale a frequência com que lhe ocorreram na última semana.

- Raramente ou nunca (menos que 1 dia)
- Poucas vezes (1-2 dias)
- Às vezes (3-4 dias)
- Quase sempre ou sempre (5-7 dias)

Durante a última semana:

1. Eu me chateei por coisas que normalmente não me chateavam.
 2. Não tive vontade de comer; estava sem apetite.
 3. Sinto que não consegui me livrar da tristeza mesmo com a ajuda da minha família ou dos meus amigos.
 4. Eu me senti tão bem quanto as outras pessoas.
 5. Eu tive problemas para manter a concentração (prestar atenção) no que estava fazendo.
 6. Eu me senti deprimido.
 7. Sinto que tudo que eu fiz foi muito custoso.
 8. Eu me senti com esperança em relação ao futuro.
 9. Eu pensei que minha vida tem sido um fracasso.
 10. Eu me senti com medo.
 11. Meu sono esteve agitado.
 12. Eu estive feliz.
 13. Eu conversei menos que o meu normal.
 14. Eu me senti sozinho.
 15. As pessoas não foram amigáveis.
 16. Eu me diverti.
 17. Eu tive crises de choro.
 18. Eu me senti triste.
 19. Eu senti que as pessoas não gostam de mim.
 20. Eu me sinto desanimado.
-

Anexo B- Escala de Rastreamento Populacional para Ansiedade (*Geriatric Anxiety Inventory- GAI*)

INVENTÁRIO DE ANSIEDADE GERIÁTRICA: Por favor, responda aos itens de acordo com como o (a) senhor (a) tem se sentido na última semana. Marque o círculo CONCORDO se você concorda em maior grau que esse item descreve você; marque o círculo DISCORDO se você discorda em maior grau que esse item descreve você.

		CONCORD	DISCORDO
1	Eu me preocupo em grande parte do tempo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2	Eu acho difícil tomar uma decisão.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3	Sinto-me agitado com frequência.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4	Eu acho difícil relaxar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5	Eu frequentemente não consigo aproveitar as coisas por causa de minhas preocupações.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
6	Pequenas coisas me aborrecem muito.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
7	Eu frequentemente sinto como se tivesse um "frio na barriga".	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
8	Eu penso que sou preocupado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
9	Não posso deixar de preocupar-me mesmo com coisas triviais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10	Frequentemente me sinto nervoso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
11	Meus próprios pensamentos com frequência me deixam ansioso.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
12	Tenho dor de estômago por causa das minhas preocupações.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
13	Eu me vejo como uma pessoa nervosa.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
14	Eu sempre espero que o pior irá acontecer.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
15	Frequentemente me sinto tremendo por dentro.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
16	Eu acho que minhas preocupações interferem na minha vida.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
17	Minhas preocupações frequentemente me oprimem.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
18	Às vezes eu sinto como se tivesse um grande nó no estômago.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
19	Eu perco coisas por me preocupar demais.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
20	Frequentemente me sinto chateado.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Anexo C- Escala de Rastreamento Populacional para Cognição (Mini-Exame do Estado Mental)

MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL

(Folstein, Folstein & McHugh, 1975)

Paciente: _____

Data da Avaliação: ____/____/____ Avaliador: _____

ORIENTAÇÃO

- Dia da semana (1 ponto)()
- Dia do mês (1 ponto)()
- Mês (1 ponto)()
- Ano (1 ponto)()
- Hora aproximada (1 ponto)()
- Local específico (apartamento ou setor) (1 ponto)()
- Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto)()
- Bairro ou rua próxima (1 ponto)()
- Cidade (1 ponto)()
- Estado (1 ponto)()

MEMÓRIA IMEDIATA

- Fale 3 palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta()
Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

ATENÇÃO E CÁLCULO

- (100 - 7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (1 ponto para cada cálculo correto)()
(alternativamente, soletrar MUNDO de trás para frente)

EVOCAÇÃO

- Pergunte pelas 3 palavras ditas anteriormente (1 ponto por palavra)()

LINGUAGEM

- Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos)()
- Repetir "nem aqui, nem ali, nem lá" (1 ponto)()
- Comando: "pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão" (3 pts)()
- Ler e obedecer: "feche os olhos" (1 ponto)()
- Escrever uma frase (1 ponto)()
- Copiar um desenho (1 ponto)()

SCORE: (____/30)



Anexo D- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE _____

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: _____ SEXO : M F
DATA NASCIMENTO: ____/____/____
ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____
BAIRRO: _____ CIDADE _____
CEP: _____ TELEFONE: DDD(_____) _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL _____

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) _____
DOCUMENTO DE IDENTIDADE : _____ SEXO: M F
DATA NASCIMENTO: ____/____/____
ENDEREÇO _____ Nº _____ APTO: _____
BAIRRO: _____ CIDADE _____
CEP: _____ TELEFONE: DDD (_____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Estudo do Melloma de Idosos com Sintomas Subindrômicos de Depressão".

PESQUISADOR: Prof. Dr. Homero Pinto Vallada Filho

CARGO/FUNÇÃO: Professor Associado 3 INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 54439

UNIDADE DO HC-FMUSP: Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

3. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

HOSPITAL DA CLÍNICA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMU SP

1- Desenho do estudo e objetivos.

O projeto irá investigar os fatores genéticos relacionados com sintomas depressivos e ansiosos em pessoas com mais de 60 anos. As pessoas selecionadas serão submetidas a orientações gerais, terapia ou atividade física por até 12 meses. Nesse período, iremos coletar pequenas amostras de sangue para extrair o material genético e estudar quais os possíveis genes relacionados com depressão e ansiedade. Além disso, verificaremos se atividades físicas ou terapia contribuem para a melhora dos sintomas e quais os mecanismos biológicos envolvidos. Ao final desse estudo, iremos guardar o material genético de cada participante para outros estudos genéticos.

2- Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que foram experimentais e não rotineiros.

Para a execução do projeto, serão realizados os seguintes procedimentos: extração de material genético (DNA e RNA) de sangue e, a partir deste, avaliação das alterações induzidas por fatores ambientais em idosos com sintomas de depressão ou ansiedade submetidos a programas de intervenção distintos: técnicas psicoeducacionais e cognitivo-comportamentais (terapia); atividade física; e cuidados usuais.

3- Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados.

Coleta de sangue de veia do antebraço.

4- Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos do item 2 e 3.

Para a maior parte das pessoas, picadas de agulha para coletas de sangue não causem qualquer problema sério. Entretanto, elas podem causar sangramento, hematoma (manchas roxas), desconforto, infecções, tontura e/ou dor no local da picada.

5- Benefícios para o participante.

Não há benefício direto para o participante da pesquisa. Somente no final do estudo poderemos concluir se foi identificada a presença de algum benefício. Se identificada, será utilizada para ajudar futuros pacientes.

6- Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar.

A participação no estudo pode ser interrompida a qualquer momento, sem penalidade ou perda de benefícios.

7- Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O investigador principal é o Dr. Homero Pinto

Rúbrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____ 2

Rúbrica do pesquisador _____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMU SP

Vallada Filho que pode ser encontrado no endereço Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785 – Cerqueira César, Telefone 2661-7129. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP/FMUSP): Av. Dr. Arnaldo, 261 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 38- CEP: 01248-000 Tel: 3893-4401/4407 E-mail: cep.fm@usp.br

8- É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e você pode deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição. Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Você pode recusar participando do estudo ou pode interromper sua participação a qualquer momento, sem penalidade ou perda de benefícios aos quais você tem direito como paciente.

9- Direito de confidencialidade.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. O médico do estudo e a equipe não tratar as informações que identifiquem você de forma confidencial. Todas as normas brasileiras que protegem os seus direitos em acessar suas informações pessoais serão seguidas.

Você pode cancelar sua autorização a qualquer momento. Se você cancelar sua autorização, o médico do estudo e sua equipe não usarão ou divulgarão mais suas informações médicas. Se você precisar de mais informações sobre esse assunto, converse com seu médico e sua equipe. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você dará permissão para o uso e divulgação das suas informações de saúde para atingir os objetivos desse estudo.

10- Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

É garantido a você, em qualquer etapa do estudo.

11- Despesas e compensações

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será cobrada pelo orçamento da pesquisa.

12- Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Os dados e amostras coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa, porém, ficando armazenados e, caso você autorize, poderão ser incluídos em novos estudos relacionados à depressão e ansiedade. Em relação aos novos estudos, você:

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____ 3

Rubrica do pesquisador _____

HOSPITAL DA CLÍNICA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO – HCFMUSP

- () Não autoriza a utilização dos seus dados e amostras.
() Deseja ser contatado para autorização de utilização de seus dados e amostras antes do início de novos estudos.
() Dispensa novo contato e já autoriza a utilização de seus dados e amostras em futuros estudos.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Estudo do Malloona de Idosos com Sintomas ~~Subsindrômicos~~ de Depressão".

Eu discuti com o Prof. Dr. Homero Pinto ~~Volada~~ Filho sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

_____	____/____/____
Assinatura do paciente	Data
_____	____/____/____
Assinatura do representante legal	Data
_____	____/____/____
Assinatura de testemunha	Data

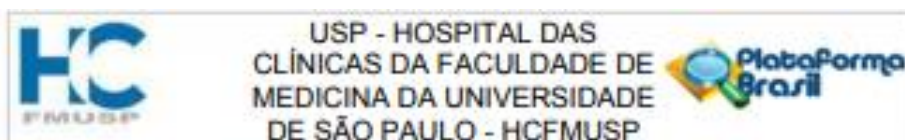
para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, ~~cegos~~ ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____	____/____/____
Assinatura do responsável pelo estudo	Data
	Rúbrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____ 4
	Rúbrica do pesquisador _____

Anexo E- Parecer Consubstanciado do CEP.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Prevenção e tratamento da depressão em idosos: Um estudo de base populacional

Pesquisador: Geraldo Busatto Filho

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 7

CAAE: 14693013.4.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Braço de projeto de mestrado

Justificativa: Envio anexo os documentos relacionados a aprovação do braço de projeto de

Data do Envio: 15/08/2019

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.587.886

Apresentação da Notificação:

Notificação de projeto de mestrado: "Investigação de genes candidatos para transtornos depressivos e/ou ansiosos em idosos", vinculado a projeto temático "Prevenção e tratamento da depressão em idosos: Um estudo de base populacional".

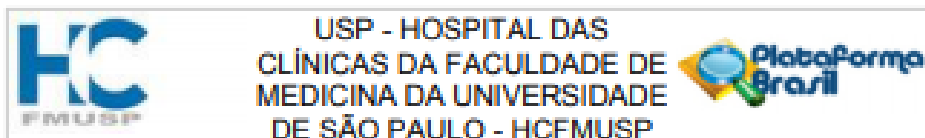
Objetivo da Notificação:

Notificar a vinculação do projeto de mestrado da aluna Isabela Ferreira de Moraes com projeto temático e conferir autorização para execução do mesmo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica.

Endereço: Rua Ovídio Pinheiro Campos, 225º andar
Bairro: Cerqueira César **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SÃO PAULO
Telefone: (11)2061-7585 **Fax:** (11)2061-7585 **E-mail:** cappesqadm@hc.fmu.usp.br



Continuação do Parecer: 3.587.886

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Sem considerações éticas a serem feitas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A notificação não possui considerações de cunho ético a serem feitas e de boa forma sugere-se aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	cartacappesqtsabela.pdf	15/08/2019 16:00:34	Geraldo Busatto Filho	Postado
Outros	projetomestrado.pdf	15/08/2019 16:07:05	Geraldo Busatto Filho	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SÃO PAULO, 20 de Setembro de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira César CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SÃO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo F- Tabelas das análises individuais dos polimorfismos que não foram estatisticamente significativos.

Tabela A.01. Variante 5HTTLPR do gene *5HTT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - 5HTTLPR															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo L	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	LL	LS	SS			LL	LS	SS	n total	LL	LS	SS	QUI ²	p- value	Resultado
0	59	65	21	145	0,631	57,74	67,52	19,74	145	0,028	0,094	0,080	0,202	65,30%	Nrejeita 5%
1	13	14	11	38	0,526	10,53	18,95	8,53	38	0,581	1,292	0,718	2,591	10,75%	Nrejeita 5%
2	21	16	3	40	0,725	21,03	15,95	3,03	40	0,000	0,000	0,000	0,000	98,42%	Nrejeita 5%
3	58	55	18	131	0,653	55,80	59,39	15,80	131	0,086	0,325	0,305	0,717	39,72%	Nrejeita 5%
4	69	79	31	179	0,606	65,77	85,47	27,77	179	0,159	0,489	0,376	1,025	31,14%	Nrejeita 5%
5	20	33	9	62	0,589	21,49	30,02	10,49	62	0,103	0,295	0,211	0,609	43,51%	Nrejeita 5%
6	24	28	10	62	0,613	23,29	29,42	9,29	62	0,022	0,068	0,054	0,144	70,40%	Nrejeita 5%
7	72	96	26	194	0,619	74,23	91,55	28,23	194	0,067	0,217	0,176	0,459	49,80%	Nrejeita 5%
n total	336	386	129	851					851						

Tabela A.02. Variante rs2020942 do gene *5HTT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - rs2020942															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo C	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	CC	CT	TT			CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	68	60	20	148	0,662	64,89	66,22	16,89	148	0,149	0,584	0,572	1,304	25,34%	Nrejeita 5%
1	20	15	4	39	0,705	19,39	16,22	3,39	39	0,019	0,091	0,109	0,220	63,91%	Nrejeita 5%
2	18	16	6	40	0,650	16,90	18,20	4,90	40	0,072	0,266	0,247	0,584	44,46%	Nrejeita 5%
3	64	55	15	134	0,683	62,48	58,04	13,48	134	0,037	0,159	0,172	0,368	54,42%	Nrejeita 5%
4	76	77	27	180	0,636	72,83	83,33	23,83	180	0,138	0,481	0,420	1,039	30,81%	Nrejeita 5%
5	31	27	6	64	0,695	30,94	27,12	5,94	64	0,000	0,001	0,001	0,001	97,24%	Nrejeita 5%
6	24	32	7	63	0,635	25,40	29,21	8,40	63	0,077	0,267	0,232	0,576	44,77%	Nrejeita 5%
7	78	97	22	197	0,642	81,23	90,54	25,23	197	0,128	0,461	0,413	1,003	31,67%	Nrejeita 5%
n total	379	379	107	865					865						

Tabela A.03. Variante rs4583306 do gene *5HTT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - rs4583306															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	AA	AG	GG			AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	p- value	Resultado
0	64	68	17	149	0,658	64,46	67,09	17,46	149	0,003	0,012	0,012	0,028	86,81%	Nrejeita 5%
1	18	14	7	39	0,641	16,03	17,95	5,03	39	0,243	0,869	0,776	1,888	16,95%	Nrejeita 5%
2	20	15	5	40	0,688	18,91	17,19	3,91	40	0,063	0,278	0,306	0,648	42,09%	Nrejeita 5%
3	56	53	25	134	0,616	50,79	63,41	19,79	134	0,534	1,710	1,370	3,614	5,73%	Nrejeita 5%
4	85	74	19	178	0,685	83,62	76,76	17,62	178	0,023	0,100	0,108	0,231	63,09%	Nrejeita 5%
5	22	32	9	63	0,603	22,92	30,16	9,92	63	0,037	0,112	0,085	0,235	62,80%	Nrejeita 5%
6	27	26	9	62	0,645	25,81	28,39	7,81	62	0,055	0,201	0,182	0,438	50,79%	Nrejeita 5%
7	74	98	26	198	0,621	76,41	93,18	28,41	198	0,076	0,249	0,204	0,529	46,69%	Nrejeita 5%
n total	366	380	117	863					863						

Tabela A.04. Variante rs4251417 do gene *5HTT*: distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - rs4251417													
GSDA	Genótipo			Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	CC	CT + TT	n total	CC	CT + TT	n total	CC	CT + TT	QUI^2	p- value	%	Resultado	
0	137	13	150	134,22	15,780	150	0,058	0,490					
1	36	3	39	34,897	4,103	39	0,035	0,089					
2	39	1	40	35,792	4,208	40	0,288	2,446					
3	116	16	132	118,11	13,887	132	0,038	0,322					
4	159	22	181	161,96	19,042	181	0,054	0,460	6,124	0,525	52,53%	Nrejeita 5%	
5	54	10	64	57,267	6,733	64	0,186	1,585					
6	56	6	62	55,477	6,523	62	0,005	0,042					
7	177	20	197	176,28	20,725	197	0,003	0,025					
n total	774	91	865			865							

Tabela A.05. Variante rs6355 do gene *5HTT*: distribuição dos genótipos por grupo do GSDA.

<i>5HTT</i> - rs6355													
GSDA	Genótipo			Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	CC	CG	n total	CC	CG	n total	CC	CG	QUI^2	p- value	%	Resultado	
0	149	0	149	146,59	2,406	149	2,41	1,51					
1	38	1	39	38,37	0,630	39	0,63	0,03					
2	40	0	40	39,354	0,646	40	0,65	0,03					
3	129	4	133	130,85	2,148	133	2,15	0,85					
4	178	3	181	178,08	2,923	181	2,92	0,06	3,487	0,837	83,66%	Nrejeita 5%	
5	63	1	64	62,967	1,033	64	1,03	0,21					
6	63	0	63	61,983	1,017	63	1,02	0,26					
7	193	5	198	194,8	3,197	198	3,20	0,53					
n total	853	14	867			867							

Tabela A.06. Variante rs405509 do gene *APOE*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>APOE</i> - rs405509																
GSDA	Genótipo				n total	Probabilidade Alelo G	Esperado				n total	Cálculo Qui- Quadrado				
	GG	GT	TT	GG			GT	TT	GG	GT		TT	QUI^2	p- value	Resultado	
0	53	67	23	143	0,605	52,32	68,35	22,32	143	0,009	0,027	0,021	0,05604	81,29%	Nrejeita 5%	
1	11	18	10	39	0,513	10,26	19,49	9,26	39	0,054	0,113	0,060	0,22714	63,37%	Nrejeita 5%	
2	11	22	7	40	0,550	12,10	19,80	8,10	40	0,100	0,244	0,149	0,49383	48,22%	Nrejeita 5%	
3	50	61	23	134	0,601	48,36	64,28	21,36	134	0,056	0,167	0,126	0,34887	55,48%	Nrejeita 5%	
4	65	81	33	179	0,589	62,18	86,64	30,18	179	0,128	0,367	0,263	0,75845	38,38%	Nrejeita 5%	
5	19	27	14	60	0,542	17,60	29,79	12,60	60	0,111	0,262	0,155	0,52685	46,79%	Nrejeita 5%	
6	20	32	10	62	0,581	20,90	30,19	10,90	62	0,039	0,108	0,075	0,22193	63,76%	Nrejeita 5%	
7	64	90	41	195	0,559	60,93	96,14	37,93	195	0,155	0,393	0,249	0,79623	37,22%	Nrejeita 5%	
n total	293	398	161	852					852							

Tabela A.07. Variante rs429358 do gene *APOE*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>APOE</i> - rs429358															
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo G	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	GG	GT	TT	n total		GG	GT	TT	n total	GG	GT	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	6	32	106	144	0,153	3,36	37,28	103,36	144	2,072	0,747	0,067	2,886	8,93%	Nrejeita 5%
1	0	12	27	39	0,154	0,92	10,15	27,92	39	0,923	0,336	0,031	1,289	25,62%	Nrejeita 5%
2	2	10	28	40	0,175	1,23	11,55	27,23	40	0,490	0,208	0,022	0,720	39,60%	Nrejeita 5%
3	5	34	94	133	0,165	3,64	36,72	92,64	133	0,509	0,202	0,020	0,731	39,27%	Nrejeita 5%
4	3	44	132	179	0,140	3,49	43,02	132,49	179	0,069	0,022	0,002	0,094	75,98%	Nrejeita 5%
5	3	17	44	64	0,180	2,07	18,87	43,07	64	0,422	0,185	0,020	0,627	42,85%	Nrejeita 5%
6	1	15	47	63	0,135	1,15	14,71	47,15	63	0,019	0,006	0,000	0,025	87,41%	Nrejeita 5%
7	5	43	143	191	0,139	3,68	45,65	141,68	191	0,476	0,153	0,012	0,642	42,30%	Nrejeita 5%
n total	25	207	621	853					853						

Tabela A.08. Variante rs7412 do gene *APOE*: distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>APOE</i> - rs7412														
GSDA	Genótipo			n total	Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	CC	CT + TT	n total		CC	CT + TT	n total	CC	CT + TT	QUI ²	p- value	%	Resultado	
0	127	20	147	129,16	17,844	147	0,036	0,261						
1	34	5	39	34,266	4,734	39	0,002	0,012						
2	35	5	40	35,145	4,855	40	0,001	0,026						
3	114	20	134	117,73	16,266	134	0,118	0,857						
4	157	24	181	159,03	21,971	181	0,026	0,187	9,6564	9,656	20,89%	Nrejeita 5%		
5	52	11	63	55,353	7,647	63	0,203	1,064						
6	55	8	63	55,353	7,647	63	0,002	0,003						
7	186	12	198	173,97	24,035	198	0,833	6,026						
n total	760	105	865			865								

Tabela A.09. Variante rs4680 do gene *COMT*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>COMT</i> - rs4680															
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo A	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	AA	AG	GG	n total		AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	p- value	Resultado
0	17	74	58	149	0,362	19,57	68,86	60,57	149	0,338	0,384	0,109	0,831	36,21%	Nrejeita 5%
1	8	18	13	39	0,436	7,41	19,18	12,41	39	0,047	0,073	0,028	0,147	70,09%	Nrejeita 5%
2	10	18	12	40	0,475	9,03	19,95	11,03	40	0,105	0,191	0,086	0,382	53,65%	Nrejeita 5%
3	16	73	45	134	0,392	20,57	63,86	49,57	134	1,015	1,308	0,421	2,744	9,76%	Nrejeita 5%
4	25	96	59	180	0,406	29,61	86,79	63,61	180	0,716	0,978	0,333	2,028	15,45%	Nrejeita 5%
5	10	31	23	64	0,398	10,16	30,68	23,16	64	0,003	0,003	0,001	0,007	93,34%	Nrejeita 5%
6	11	25	27	63	0,373	8,77	29,47	24,77	63	0,569	0,678	0,202	1,448	22,88%	Nrejeita 5%
7	34	87	77	198	0,391	30,33	94,33	73,33	198	0,443	0,570	0,183	1,196	27,42%	Nrejeita 5%
n total	131	422	314	867					867						

Tabela A.10. Variante rs737865 do gene *COMT*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>COMT</i> - rs737865															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo A	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	AA	AG	GG			AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	p- value	Resultado
0	85	50	9	144	0,764	84,03	51,94	8,03	144	0,011	0,073	0,118	0,202	65,33%	Nrejeita10%
1	24	14	1	39	0,795	24,64	12,72	1,64	39	0,017	0,129	0,250	0,396	52,90%	Nrejeita10%
2	23	15	1	39	0,782	23,85	13,29	1,85	39	0,030	0,219	0,392	0,642	42,32%	Nrejeita10%
3	78	45	5	128	0,785	78,91	43,18	5,91	128	0,010	0,076	0,140	0,226	63,42%	Nrejeita10%
4	101	64	9	174	0,764	101,66	62,68	9,66	174	0,004	0,028	0,045	0,077	78,09%	Nrejeita10%
5	32	27	3	62	0,734	33,39	24,22	4,39	62	0,058	0,320	0,441	0,818	36,57%	Nrejeita10%
6	32	24	5	61	0,721	31,74	24,52	4,74	61	0,002	0,011	0,015	0,028	86,73%	Nrejeita10%
7	122	65	9	196	0,788	121,79	65,43	8,79	196	0,000	0,003	0,005	0,008	92,74%	Nrejeita10%
n total	497	304	42	843					843						

Tabela A.11. Variante rs1205 do gene *CRP*: probabilidade do alelo de maior frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>CRP</i> - rs1205															
GSDA	Genótipo			n total	Probabilidade Alelo C	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	CC	CT	TT			CC	CT	TT	n total	CC	CT	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	75	57	15	147	0,704	72,87	61,26	12,87	147	0,062	0,296	0,352	0,709	39,97%	Nrejeita 5%
1	20	16	3	39	0,718	20,10	15,79	3,10	39	0,001	0,003	0,003	0,007	93,54%	Nrejeita 5%
2	26	12	2	40	0,800	25,60	12,80	1,60	40	0,006	0,050	0,100	0,156	69,26%	Nrejeita 5%
3	62	59	13	134	0,683	62,48	58,04	13,48	134	0,004	0,016	0,017	0,037	84,83%	Nrejeita 5%
4	78	80	19	177	0,667	78,67	78,67	19,67	177	0,006	0,023	0,023	0,051	82,16%	Nrejeita 5%
5	33	25	6	64	0,711	32,35	26,30	5,35	64	0,013	0,065	0,080	0,157	69,15%	Nrejeita 5%
6	32	26	4	62	0,726	32,66	24,68	4,66	62	0,013	0,071	0,094	0,178	67,30%	Nrejeita 5%
7	105	75	18	198	0,720	102,56	79,89	15,56	198	0,058	0,299	0,384	0,741	38,94%	Nrejeita 5%
n total	431	350	80	861					861						

Tabela A.12. Variante rs3093058 do gene *CRP*: distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>CRP</i> - rs3093058													
GSDA	Genótipo			TT	Esperado AT + AA	n total	Cálculo Qui- Quadrado				%	Resultado	
	TT	AT + AA	n total				TT	AT + AA	QUI ²	p- value			
0	120	26	146	128,07	17,933	146	0,50817	3,62910					
1	36	2	38	33,333	4,667	38	0,21346	1,00650					
2	32	8	40	35,087	4,913	40	0,27158	1,36209					
3	125	9	134	117,54	16,459	134	0,47332	3,38022					
4	162	17	179	157,01	21,986	179	0,15834	1,13077	13,621	0,0583	5,83%	Nrejeita 5%	
5	57	7	64	56,139	7,861	64	0,01320	0,01657					
6	56	7	63	55,262	7,738	63	0,00986	0,00733					
7	169	30	199	174,56	24,443	199	0,17693	1,26354					
n total	757	106	863			863							

Tabela A.13. Variante rs1800947 do gene *CRP*: distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

CRP- rs1800947													
GSDA	Genótipo			Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	CC	CG + GG	n total	CC	CG + GG	n total	CC	CG + GG	QUI^2	p- value	%	Resultado	
0	136	13	149	138,5	10,495	149	0,045	0,694					
1	37	2	39	36,253	2,747	39	0,015	0,015					
2	36	4	40	37,182	2,818	40	0,038	0,192					
3	125	8	133	123,63	9,368	133	0,015	0,055					
4	165	16	181	168,25	12,749	181	0,063	0,954	3,2779	0,858	85,82%	Nrejeita 5%	
5	62	2	64	59,492	4,508	64	0,106	0,844					
6	60	3	63	58,562	4,438	63	0,035	0,171					
7	184	13	197	183,12	13,876	197	0,004	0,031					
n total	805	61	866			866							

Tabela A.14. Variante rs3093066 do gene *CRP*: distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

CRP- rs3093066													
GSDA	Genótipo			Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	GG	GT + TT	n total	GG	GT + TT	n total	GG	GT + TT	QUI^2	p- value	%	Resultado	
0	122	27	149	126,75	22,247	149	0,157	1,040					
1	34	5	39	33,177	5,823	39	0,024	0,016					
2	32	8	40	34,028	5,972	40	0,112	0,399					
3	109	24	133	113,14	19,858	133	0,133	0,885					
4	159	20	179	152,27	26,726	179	0,188	1,798	10,253	0,175	17,47%	Nrejeita 5%	
5	49	15	64	54,444	9,556	64	0,521	2,587					
6	54	8	62	52,743	9,257	62	0,005	0,083					
7	176	22	198	168,44	29,563	198	0,463	1,839					
n total	735	129	864			864							

Tabela A.15. Variante rs2808630 do gene *CRP*: distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

CRP- rs2808630													
GSDA	Genótipo			Esperado			Cálculo Qui- Quadrado						
	TT	CT + CC	n total	TT	CT + CC	n total	TT	CT + CC	QUI^2	p- value	%	Resultado	
0	83	64	147	88,575	58,425	147	0,351	0,532					
1	24	15	39	23,499	15,501	39	0,011	0,016					
2	26	14	40	24,102	15,898	40	0,149	0,227					
3	82	52	134	80,742	53,258	134	0,020	0,030					
4	105	74	179	107,86	71,144	179	0,076	0,115	3,587	0,825931	82,59%	Nrejeita 5%	
5	44	20	64	38,563	25,437	64	0,767	1,162					
6	39	24	63	37,961	25,039	63	0,028	0,043					
7	117	80	197	118,7	78,298	197	0,024	0,037					
n total	520	343	863			863							

Tabela A.16. Variante rs1801133 do gene *MTHFR*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>MTHFR</i> - rs1801133															
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo A	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	AA	AG	GG	n total		AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	p- value	Resultado
0	13	48	88	149	0,248	9,19	55,62	84,19	149	1,582	1,045	0,173	2,799	9,43%	Nrejeita 5%
1	3	19	17	39	0,321	4,01	16,99	18,01	39	0,253	0,239	0,056	0,548	45,93%	Nrejeita 5%
2	3	17	20	40	0,288	3,31	16,39	20,31	40	0,028	0,023	0,005	0,056	81,31%	Nrejeita 5%
3	9	56	67	132	0,280	10,37	53,26	68,37	132	0,181	0,141	0,028	0,350	55,41%	Nrejeita 5%
4	15	82	82	179	0,313	17,52	76,96	84,52	179	0,362	0,330	0,075	0,767	38,10%	Nrejeita 5%
5	1	24	39	64	0,203	2,64	20,72	40,64	64	1,019	0,520	0,066	1,605	20,52%	Nrejeita 5%
6	7	28	28	63	0,333	7,00	28,00	28,00	63	0,000	0,000	0,000	0,000	100,00%	Nrejeita 5%
7	15	92	92	199	0,307	18,70	84,60	95,70	199	0,732	0,647	0,143	1,521	21,74%	Nrejeita 5%
n total	66	366	433	865					865						

Tabela A.17. Variante rs1801131 do gene *MTHFR*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA.

<i>MTHFR</i> - rs1801131															
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo G	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	GG	GT	TT	n total		GG	GT	TT	n total	GG	GT	TT	QUI ²	p- value	Resultado
0	8	41	96	145	0,197	5,60	45,80	93,60	145	1,027	0,502	0,061	1,591	20,72%	Nrejeita 5%
1	2	13	24	39	0,218	1,85	13,29	23,85	39	0,012	0,007	0,001	0,019	88,98%	Nrejeita 5%
2	0	16	24	40	0,200	1,60	12,80	25,60	40	1,600	0,800	0,100	2,500	11,38%	Nrejeita 5%
3	7	46	78	131	0,229	6,87	46,26	77,87	131	0,002	0,001	0,000	0,004	94,88%	Nrejeita 5%
4	9	66	106	181	0,232	9,75	64,51	106,75	181	0,057	0,034	0,005	0,097	75,57%	Nrejeita 5%
5	4	23	37	64	0,242	3,75	23,49	36,75	64	0,016	0,010	0,002	0,028	86,69%	Nrejeita 5%
6	3	16	44	63	0,175	1,92	18,16	42,92	63	0,607	0,257	0,027	0,890	34,54%	Nrejeita 5%
7	15	61	122	198	0,230	10,46	70,09	117,46	198	1,975	1,178	0,176	3,329	6,81%	Nrejeita 5%
n total	48	282	531	861					861						

Tabela A.18. Variante rs1800629 do gene *TNF*: probabilidade do alelo de menor frequência e distribuição de genótipos por grupo do GSDA..

<i>TNF</i> - rs1800629															
GSDA	Genótipo				Probabilidade Alelo A	Esperado				Cálculo Qui- Quadrado					
	AA	AG	GG	n total		AA	AG	GG	n total	AA	AG	GG	QUI ²	p- value	Resultado
0	3	28	116	147	0,116	1,97	30,07	114,97	147	0,544	0,142	0,009	0,695	40,43%	Nrejeita10%
1	1	7	31	39	0,115	0,52	7,96	30,52	39	0,445	0,116	0,008	0,569	45,07%	Nrejeita10%
2	2	8	29	39	0,154	0,92	10,15	27,92	39	1,256	0,457	0,042	1,755	18,53%	Nrejeita10%
3	1	33	98	132	0,133	2,32	30,36	99,32	132	0,751	0,230	0,018	0,998	31,77%	Nrejeita10%
4	5	37	138	180	0,131	3,07	40,86	136,07	180	1,217	0,365	0,027	1,609	20,46%	Nrejeita10%
5	0	10	54	64	0,078	0,39	9,22	54,39	64	0,391	0,066	0,003	0,460	49,78%	Nrejeita10%
6	1	8	54	63	0,079	0,40	9,21	53,40	63	0,917	0,158	0,007	1,082	29,83%	Nrejeita10%
7	5	40	154	199	0,126	3,14	43,72	152,14	199	1,101	0,316	0,023	1,440	23,02%	Nrejeita10%
n total	18	171	674	863					863						

Tabela A.19. Variante rs2020933 do gene *5HTT*: grupo do GSDA significativo (grupo 1) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>5HTT</i> - rs2020933															
Genótipo	Observado				Esperado				Cálculo Qui Quadrado						
	AA	AT	TT	n total	AA	AT	TT	n total	AA	AT	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 1	32	5	2	39	27,77	10,32	0,91	39	0,643	2,741	0,384	3,769	3,99	0,136	13,59%
Complemento	579	222	18	819	583,23	216,68	19,09	819	0,031	0,131	0,062	0,224			
n total	611	227	20	858				858							

Tabela A.20. Variante rs5186 do gene *AGTR1*: grupo do GSDA significativo (grupo 0) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>AGTR1</i> - rs5186															
Genótipo	Observado				Esperado				Cálculo Qui Quadrado						
	AA	AC	CC	n total	AA	AC	CC	n total	AA	AC	CC	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 0	96	39	12	147	91,96	47,18	7,86	147	0,18	1,42	2,18	3,77	4,55	0,10	10,28%
Complemento	442	237	34	713	446,04	228,82	38,14	713	0,04	0,29	0,45	0,78			
n total	538	276	46	860				860							

Tabela A.21. Variante rs1800795 do gene *IL6*: grupo do GSDA significativo (grupo 4) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>IL6</i> - rs1800795															
Genótipo	Observado				Esperado				Cálculo Qui Quadrado						
	CC	CG	GG	n total	CC	CG	GG	n total	CC	CG	GG	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 4	15	49	116	180	10,551	56,55	112,9	180	1,88	1,01	0,06	2,94	3,74	0,053	5,31%
Complemento	35	219	419	673	39,449	211,45	422,1	673	0,50	0,27	0,02	0,79			
n total	50	268	535	853				853							

Tabela A.22. Variante rs1800896 do gene *IL10*: grupo do GSDA significativo (grupo 0) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>IL10</i> - rs1800896															
Genótipo	Observado				Esperado				Cálculo Qui Quadrado						
	CC	TC	TT	n total	CC	TC	TT	n total	CC	TC	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 0	22	50	73	145	18,2529	59,194	67,55	145	0,769	1,428	0,439	2,636	3,179	0,204	20,41%
Complemento	85	297	323	705	88,7471	287,81	328,4	705	0,158	0,294	0,090	0,542			
n total	107	347	396	850				850							

Tabela A.23. Variante rs2295080 do gene *MTOR*: grupo do GSDA significativo (grupo 0) em comparação aos grupos não significativos (complemento).

<i>MTOR</i> - rs2295080															
Genótipo	Observado				Esperado				Cálculo Qui Quadrado						
	GG	GT	TT	n total	GG	GT	TT	n total	GG	GT	TT	QUI ²	n total	p-value	%
Grupo 0	44	62	42	148	35,1888	68,653	44,16	148	2,21	0,64	0,11	2,96	3,573	0,168	16,76%
Complemento	160	336	214	710	168,811	329,35	211,8	716	0,46	0,13	0,02	0,62			
n total	204	398	256	858				858							

Anexo G- Tabelas das análises conjuntas dos polimorfismos que não apresentaram resultados estatisticamente significativos.

Tabela A.24. Associação conjunta dos polimorfismos rs165599 (COMT) e rs6265 (BDNF).

<i>COMT- rs165599 + BDNF- rs6265</i>														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui- Quadrado			
	AA + CC	AA + CT	AA + TT	AG + CC	AG + CT	AG + TT	GG + CC	GG + CT	GG + TT		QUI ²	QUI ² TOTAL	p- value	%
0	139	63	32	185	109	78	153	77	46	882	5,60			
1	39	20	13	50	31	24	34	15	8	234	3,67			
2	43	18	10	33	32	24	39	14	6	219	9,15			
3	120	62	29	172	114	81	123	65	32	798	9,75			
4	173	92	60	215	134	102	165	84	52	1077	3,72	53,45	0,5719	57,19%
5	73	34	23	77	38	27	67	28	17	384	6,87			
6	68	35	23	75	42	30	61	28	16	378	3,72			
7	194	106	53	225	137	84	205	117	64	1185	10,97			
n total	849	430	243	1032	637	450	847	428	241	5157				

Tabela A.25. Associação conjunta dos polimorfismos rs165599 (COMT) e rs8077667 (5HTT).

<i>COMT- rs165599 + 5HTT- rs8071667</i>														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui- Quadrado			
	AA + CC	AA + CT	AA + TT	AG + CC	AG + CT	AG + TT	GG + CC	GG + CT	GG + TT		QUI ²	QUI ² TOTAL	p- value	%
0	122	74	39	168	120	85	136	88	53	885	5,87			
1	33	26	13	44	37	24	28	21	8	234	6,41			
2	39	16	15	53	30	29	35	12	11	240	9,79			
3	117	61	31	169	113	83	120	64	34	792	9,39			
4	166	103	55	208	145	97	158	95	47	1074	1,94	53,73	0,5613	56,13%
5	66	38	26	70	42	30	60	32	20	384	5,76			
6	65	39	21	72	46	28	58	32	14	375	4,56			
7	185	104	61	216	135	92	196	115	72	1176	9,99			
n total	793	461	261	1000	668	468	791	459	259	5160				

Tabela A.26. Associação conjunta dos polimorfismos rs8071667 (5HTT) e rs6265 (BDNF).

5HTT- rs8071667 + BDNF- rs6265														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui- Quadrado			
	CC + CC	CC + CT	CC + TT	CT + CC	CT + CT	CT + TT	TT + CC	TT + CT	TT + TT		QUI^2	QUI^2 TOTAL	p- value	%
0	203	127	96	155	79	48	120	44	13	885	1,86			
1	50	31	24	43	24	17	30	11	4	234	4,75			
2	62	37	29	39	14	6	38	13	5	243	9,16			
3	185	127	94	129	71	38	99	41	8	792	1,45			
4	241	160	128	178	97	65	130	49	17	1065	4,35	30,82	0,998	99,75%
5	95	56	45	67	28	17	55	16	5	384	2,72			
6	91	58	46	65	32	20	47	14	2	375	2,99			
7	275	187	134	194	106	53	151	63	10	1173	3,53			
n total	1202	783	596	870	451	264	670	251	64	5151				

Tabela A.27. Associação conjunta dos polimorfismos rs8071667 (5HTT) e rs1417938 (CRP).

5HTT- rs8071667 + CRP- rs1417938														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui- Quadrado			
	CC + AA	CC + AT	CC + TT	CT + AA	CT + AT	CT + TT	TT + AA	TT + AT	TT + TT		QUI^2	QUI^2 TOTAL	p- value	%
0	95	152	175	47	104	127	12	69	92	873	2,22			
1	24	37	44	17	30	36	4	17	24	233	2,88			
2	33	45	49	10	22	26	9	21	25	240	10,57			
3	98	139	168	42	83	112	12	53	82	789	3,07			
4	128	183	219	65	174	156	17	126	108	1176	30,11	70,13	0,0970	9,70%
5	50	63	83	22	35	55	10	23	43	384	6,22			
6	48	71	76	22	45	50	4	27	32	375	3,65			
7	149	195	253	68	114	172	25	71	129	1176	11,42			
n total	625	885	1067	293	607	734	93	407	535	5246				

Tabela A.28. Associação conjunta dos polimorfismos rs6265 (BDNF) e rs1417938 (CRP)

BDNF- rs6265 + CRP- rs1417938														
GSDA	Genótipo									n total	Cálculo Qui- Quadrado			
	CC + AA	CC + AT	CC + TT	CT + AA	CT + AT	CT + TT	TT + AA	TT + AT	TT + TT		QUI^2	QUI^2 TOTAL	p- value	%
0	112	169	192	36	93	116	5	62	85	870	7,85			
1	30	43	50	11	24	31	4	17	24	234	0,48			
2	37	49	53	12	24	28	4	16	20	243	2,92			
3	101	142	171	43	84	113	10	51	80	795	0,97			
4	135	190	226	54	109	145	22	77	113	1071	4,42	29,71	0,9985	99,85%
5	57	70	90	18	31	51	7	20	40	384	4,42			
6	51	74	79	18	41	46	6	29	34	378	2,66			
7	158	204	262	70	116	174	17	63	121	1185	6,00			
n total	681	941	1123	262	522	704	75	335	517	5160				

Anexo G. Análise APOE (rs429358 e rs7412). Realizamos outra abordagem para análise desses SNPs para os alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. Equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foi analisado e prosseguimos com ANOVA teste de *Student*. As características gerais dos genótipos da APOE foram descritas como números observados e comparados entre os grupos do GSDA. Análise foi realizada em SPSS v26 e consideramos um valor estatisticamente significativo de $\leq 0,05$.

Tabela A.29. APOE (rs429358 e rs7412) para os grupos do GSDA.

APOE Genótipo	GSDA							
	0	1	2	3	4	5	6	7
E2/E2	X	X	X	2	X	X	X	1
E2/E3	17	5	3	14	21	10	6	10
E2/E4	2	X	2	4	3	1	2	X
E3/E3	88	22	25	78	111	32	41	132
E3/E4	30	12	8	30	41	16	13	43
E4/E4	6	X	2	5	3	3	1	5

Tabela A.30. APOE (rs429358 e rs7412) genótipos e alelos em associação aos grupos do GSDA.

APOE genotypes	Group								p-value
	0	1	2	3	4	5	6	7	
E2/E2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (1.5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.5%)	0,9852
E2/E3	17 (11.9%)	5 (12.8%)	3 (7.5%)	14 (10.5%)	21 (11.7%)	10 (16.1%)	6 (9.5%)	10 (5.2%)	0,6519
E2/E4	2 (1.4%)	0 (0%)	2 (5%)	4 (3%)	3 (1.7%)	1 (1.6%)	2 (3.2%)	0 (0%)	0,8981
E3/E3	* 88 (61.5%)	22 (56.4%)	25 (62.5%)	78 (58.6%)	* 111 (62%)	32 (51.6%)	41 (65.1%)	* 132 (69.1%)	0,0167
E3/E4	30 (21%)	12 (30.8%)	8 (20%)	30 (22.6%)	* 41 (22.9%)	16 (25.8%)	13 (20.6%)	* 43 (22.5%)	0,0452
E4/E4	6 (4.2%)	0 (0%)	2 (5%)	5 (3.8)	3 (1.7%)	3 (4.8%)	1 (1.6%)	5 (2.6%)	0,559
APOE alleles									
$\epsilon 2$ (T/T)	19 (6.6%)	5 (6.4%)	5 (6.3%)	22 (8.3%)	24 (6.7%)	11 (8.9%)	8 (6.3%)	12 (3.1%)	0,7989
$\epsilon 3$ (T/C)	* 223 (78%)	61 (78.2%)	61 (76.3%)	200 (75.2%)	* 284 (79.3%)	90 (72.6%)	101 (80.2%)	* 317 (83%)	0,0234
$\epsilon 4$ (C/C)	* 44 (15.4%)	12 (15.4%)	14 (17.5%)	44 (16.5%)	50 (14%)	23 (18.5%)	17 (13.5%)	* 53 (13.9%)	0,0491

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas

- 1- Bezerra FC, Almeida I, Nobrega-Therrien M. Estudos sobre Envelhecimento no Brasil: Revisão Bibliográfica. *Rev Bras Geriatr Gerontol.* 2012; 15(1):155-167.
- 2- Gullich I, Duro SMS, Cesar JÁ. Depressão entre idosos: um estudo de base populacional no Sul do Brasil. *Rev Bras epidemiol.* 2016; 19(4): 619-701.
- 3- Andrade SCV, Marcucci RMB, Faria LFC, Paschoal SMP, Rebusini F, Melo RC. Perfil de saúde dos idosos assistidos pelo Programa Acompanhante de Idosos na Rede de Atenção à Saúde do Município de São Paulo. *Einstein Publicação Oficial do Instituto Israelita do Ensino e Pesquisa Albert Einstein,* São Paulo. 2020 novembro 18:1-8.
4. Tavares DMS, Matias TGC, Ferreira PCS, Pegorari MS, Nascimento JS, Paiva MM. Qualidade de vida e autoestima de idosos na comunidade. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2016; 21(11): 3557-3564.
5. Ferreira LK, Meireles JFF, Ferreira MEC. Avaliação do estilo de qualidade de vida em idosos: uma revisão de literatura. *Rev Bras Geriatr Gerontol.* 2018; 21(5): 639-651.
6. Alenxadrino-Silva C, Ribeiz S, Frigeiro M, Bassolli L, Alves T, Busatto G, et al. Prevention of depression and anxiety in community-dwelling older adults: the role of physical activity. *Arch Clin Psychiatry.* 2019;46(1):14-20.
7. Morin R, Nelson C, Bickford D, Insel P, Mackin R. Somatic and anxiety symptoms of depression are associated with disability in late life depression. *Aging & Mental Health.* 2019; 1-4.
8. Kiely K, Brady B, Byles J. Gender, mental health and ageing. *Maturitas.* 2019 Nov;129:76-84.

9. Bottino C, Barcelos-Ferreira R, Ribeiz S. Treatment of depression in older adults. *Curr Psychiatry Rep.* 2012 Aug;14(4):289-97.
10. Davies M, Kalsi G, Armour C, Jones I, McIntosh A, Smith D, et al. The Genetic Links to Anxiety and Depression (GLAD) Study: Online recruitment into the largest recontactable study of depression and anxiety. *Behav Res Ther.*
11. Rombaldi AJ, Silva MC, Gazalle FK, Azevedo MR, Hallal PC. Prevalencia e fatores associados a sintomas depressivos em adultos do sul do Brasil: estudo transversal de base populacional. *Rev Bras Epidemiol.* 2010; 13(4): 620-9.
12. Schuch FB, Vancampfort D, Rosenbaum S, Richards J, Ward PB, Veronese N et al. Exercise for depression in older adults: a meta-analysis of randomized controlled trials adjusting for publication bias. *Rev Bras Psiquiatr.* 2016; 38(3): 247-254.
13. Curran E, Rosato M, Cooper J, Mc Garrigle CA, Leavev G. Symptom profiles of late-life anxiety and depression: The influence of migration, religion and loneliness. *Depress Anxiety.* 2019; 36(9): 824-833.
14. Diniz BS, Butters MA, Albert SM, Dew MA, Reynolds CF. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry.* 2013; 202(5): 329-335.
15. Hall CA, Reynolds CF. Late-life depression in the primary care setting: challenges, collaborative care, and prevention. *Maturitas.* 2014; 79(2): 147-52.
16. Smedo DC, Ventura J, Paula SF, Silva MRS, Pelzer MT. Fatores associados a depressão e os cuidados de enfermagem no idoso. *Rev Enferm.* 2016; 12(12): 101-113.

- 17.** Balsamo M, Cataldi F, Carlucci L, Fairfield B. Assessment of anxiety in older adults: a review of self-report measures. *Clinical Interventions in Aging*. 2018;13:573-593.
- 18.** Saade YM, Nicol G, Lenze EJ, Miller JP, Yingling M, Wetherell JL et al. Comorbid anxiety in late-life depression: Relationship with remission and suicidal ideation on venlafaxine treatment. *Depress Anxiety*. 2019; 1-10.
- 19.** Shimada-Sugimoto M, Otowa T, Hettema JM. Genetics of anxiety disorders: Genetic epidemiological and molecular studies in humans. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2015; 1-14.
- 20.** Tiller J. Depression and anxiety. *Med J Aust*. 2013 Sep;199(S6):S28-31.
- 21.** An MH, Park SS, You SC, Park RW, Park B, Woo HK et al. Depressive Symptom Network Associated With Comorbid Anxiety in Late-Life Depression. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 856.
- 22.** Gutayson DE, Franz CE, Panizzon MS, Reynolds CA, Xian H, Jacobson KC et al. Genetic and Environmental Associations Among Executive Functions, Trait Anxiety, and Depression Symptoms in Middle Age. *Clin Psychol Sci*. 2020; 7(1): 127- 142.
- 23.** Faravelli C, Scarpato A, Castellini G, Lo Sauro C. Gender differences in depression and anxiety: the role of age. *Psychiatry Res*. 2013;210(3):1301-3.
- 24.** Sramek JJ, Murphy MF, Cutler NR. Sex differences in the psychopharmacological treatment of depression. *Dialogues Clin Neurosci*. 2016 Dec;18(4):447-457.
- 25.** Girgus J, Yang K, Ferri C. The Gender Difference in Depression: Are Elderly Women at Greater Risk for Depression Than Elderly Men? *Geriatrics*. 2017; 2(4): 35.

- 26.** Gonda X, Petschner P, Eszlari N, Baksa D, Edes A, Antal P et al. Genetic variants in major depressive disorder: from pathophysiology to therapy. *Pharmacology & Therapy*. 2019; 194: 22-43.
- 27.** Uchida S, Yamagata H, Seki T, Watanabe Y. Epigenetic mechanisms of major depression: Targeting neuronal plasticity. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2018; 72(4): 212-227.
- 28.** Anderson JS, Shade J, DiBlasi E, Shabalin AA, Docherty AR. Polygenic Risk Scoring and Prediction of Mental Health Outcomes. *Curr Opin Psychol*. 2019;27: 77-81.
- 29.** Mistry S, Harrison JR, Smith DJ, Escott-Price V, Zammit S. The Use of Polygenic Risk Scores to Identify Phenotypes Associated With Genetic Risk of Bipolar Disorder and Depression: A Systematic Review. *J Affect Disord*. 2018; 234:148-155.
- 30.** Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry*. 2000; 157(10): 1552-62.
- 31.** Lohoff FW. Overview of the genetics of major depressive disorder. *Curr Psychiatry Rep*. 2010; 12(6): 539-546.
- 32.** Cohen-Woods S, Craig IW, McGuffin P. The current state of play on the molecular genetics of depression. *Psychol Med*. 2013; 43: 673-687.
- 33.** Luddington NS, Mandadapu A, Husk M, El-Mallakh RS. Clinical Implications of Genetic Variation in the Serotonin Transporter Promoter Region: A Review. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* .2009; 11 (3): 93-102.

- 34.** Fratelli C, Siqueira J, Silva C, Ferreira E, Silva I. 5HTTLPR Genetic Variant and Major Depressive Disorder: A Review. *Genes (Basel)*. 2020; 11(11): 1260.
- 35.** Nordquist N, Orelund L. Serotonin, genetic variability, behaviour, and psychiatric disorders - a review. *Uppsala J Med Sci*. 2010; 115: 2-10.
- 36.** Lam D, Ancelin ML, Ritchie K, Freak-Poli R, Saffery R, Ryan J. Genotype-dependent associations between serotonin transporter gene (SLC6A4) DNA methylation and late-life depression. *BMC Psychiatry*. 2018;18(1):282.
- 37.** Booij L, Tremblay RE, Szyf M, Benkelfat C. Genetic and early environmental influences on the serotonin system: consequences for brain development and risk for psychopathology. *J Psychiatry Neurosci*. 2015; 40(1):5–18.
- 38.** Feng F, Lu SS, Hu CY, Cong FF, Qian ZZ, Yang HY, et al. Association between apolipoprotein E gene polymorphism and depression. *J Clin Neurosci*. 2015; 22: 1232-8.
- 39.** Hatters DM, Peters-Libeu CA, Weisgraber KH. Apolipoprotein E structure: insights into function. *Trends in Biochem Sci*. 2006. 31(8): 445- 454.
- 40.** Yuan B, Sun X, Xu Z, Pu M, Yuan Y, Zhang Z. Influence of genetic polymorphisms in homocysteine and lipid metabolism system on antidepressant drug response. *BMC Psychiatry*. 2020. 20: 408.
- 41.** Kitzlerová E, Fisar Z, Lelková P, Jirák R, Zverová M, Hroudová J et al. Interactions Among Polymorphisms of Susceptibility Loci for Alzheimer's Disease or Depressive Disorder. *Med Sci Monit*. 2018; 24: 2599-2619.
- 42.** Muñoz SS, Garner B, Ooi L. Understanding the Role of ApoE Fragments in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res*. 2019; 44: 1297-1305.

- 43.** Burke SL, Maramaldi P, Cadete T, Kukull W. Decreasing hazards of Alzheimer's disease with the use of antidepressants: mitigating the risk of depression and apolipoprotein E. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2018; 33(1): 200-211.
- 44.** Lavretsky H, Ercoli L, Siddarth P, Bookheimer S, Miller K, Small G. Apolipoprotein epsilon4 allele status, depressive symptoms, and cognitive decline in middle-aged and elderly persons without dementia. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2003; 11(6): 667-73.
- 45.** Robinson AC, Roncaroli F, Davidson YS, Minshull J, Heal C, Montaldi D et al. Mid to late-life scores of depression in the cognitively healthy are associated with cognitive status and Alzheimer's disease pathology at death. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2020.36(5):713-721.
- 46.** Saab YB, Gard PR, Yeoman MS, Mfarrej B, El-Moalem H, Ingram MJ. Renin-angiotensin-system gene polymorphisms and depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007; 31:1113–1118.
- 47.** Gebril OH, Kirby J, Savva G, Brayne C, Ince PG. HFE H63D, C282Y and AGTR1 A1166C polymorphisms and brain white matter lesions in the aging brain. *J Neurogenet*. 2011; 25(1-2): 7-14.
- 48.** Zettergren A, Kern S, Gustafson D, Gudmundsson P, Sigstrom R, Ostling S, et al. The ACE Gene Is Associated with late-life major depression and age at dementia onset in a population-based cohort. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2017; 25(2):170-177.
- 49.** Bondy B. Common genetic factors for depression and cardiovascular disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2007; 9(1): 19-28.
- 50.** Popova NK, Ilchibaeva TV, Naumenko VS. Neurotrophic Factors (BDNF and GDNF) and the Serotonergic System of the Brain. *Biochemistry (Mosc)*. 2017; 82(3): 308-317.

- 51.** Caldieraro MA, McKee S, Leistner-Segal S, Vares EA, Kubaski F, Spanemberg L et al. Val66Met polymorphism association with serum BDNF and inflammatory biomarkers in major depression. *World J Biol Psychiatry*. 2018;19(5); 402–409.
- 52.** MM Youssef, MD Underwood, Y.-Y. Huang et al. Association of BDNF Val66Met polymorphism and brain BDNF levels with major depression and suicide. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2018. 21(6); 528-538.
- 53.** S Bassi, L Costa, L Lesik, JL Faccioli, C Finkelssztein , A Cajal et al. Interaction between polymorphisms in SLC6A4 and BDNF on major depressive disorder in a sample of the Argentinean population. *Rev Hosp Ital B Aires*. 2018;38(1):5-10.
- 54.** AF Aldoghachi, YS Tor, SZ Redzun, Lokman KAB, Razaq NAA, Shahbudin AF et al. Screening of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) single nucleotide polymorphisms and plasma BDNF levels among Malaysian major depressive disorder patients. *PLoS One*. 2019; 14(1):e0211241.
- 55.** Miyajima F, Ollier W, Mayes A, et al. Brain-derived neurotrophic factor polymorphism Val66Met influences cognitive abilities in the elderly. *Genes Brain Behav*. 2008;7(4):411-7.
- 56.** Di Benedetto MG, Scassellati C, Cattane N, Riva MA, Cattaneo A. Neurotrophic factors, childhood trauma and psychiatric disorders: A systematic review of genetic, biochemical, cognitive and imaging studies to identify potential biomarkers. *J. affect. disord*. 2022; 76-88.
- 57.** Nagata T, Shinagawa S, Nukariya K, et al. Association between BDNF polymorphism (Val66Met) and executive function in patients with amnesic mild cognitive impairment or mild Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2012; 33(4):266-272.
- 58.** Kurita M, Nishino S, Kato M, Numata Y, Sato T. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels predict the clinical outcome of depression treatment in a naturalistic study. *PloS One*. 2012; 7: e39212.

- 59.** Kang HJ, Kim JM, Bae KY, Kim SW, Shin IS, Kim HR et al. Longitudinal associations between BDNF promoter methylation and late-life depression. *Neurobiol Aging*. 2015; 36(4): 1-7.
- 60.** Dimitriadis M, Van den Brink RHS, Comijs HC, Oude Voshaar RC. Prognostic effect of serum BDNF level in late-life depression: Moderated by childhood trauma and SSRI usage? *Psychoneuroendocrinol*. 2019; 103: 276-283.
- 61.** Bocchio-Chiavetto L, Bagnardi V, Zanardini R, Molteni R, Nielsen MG, Placentino A, et al. Serum and plasma BDNF levels in major depression: a replication study and meta-analyses. *World J Biol Psychiatry*. 2010; 11(6):763-73.
- 62.** Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, Bus BAA, Penninx BWJH, Elzinga BM. Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Mol Psychiatry*. 2014; 19(7):791-800.
- 63.** Knorr U, Sondergaard MHG, Koefoed P, Jorgensen A, Faurholt-Jepsen M, Vinberg M et al. Increased blood BDNF in healthy individuals with a family history of depression. *Psychiatry Research*. 2017; 256: 176- 179.
- 64.** Pignoni A, Lazzaretti M, Mandolini GM, Delvecchio G, Altamura AC, Soares JC et al. The impact of COMT polymorphisms on cognition in Bipolar Disorder: A review Special Section on “Translational and Neuroscience Studies in Affective Disorders” Section Editor, Maria Nobile MD, PhD. This Section of JAD focuses on the relevance of translational and neuroscience studies in providing a better understanding of the neural basis of affective disorders. The main aim is to briefly summaries relevant research findings in clinical neuroscience with particular regards to specific innovative topics in mood and anxiety disorders. *J Affective Disorders*. 2019; 243: 545-551.

- 65.** Cao Y, Lin X, Chen L, Ji L, Zhang W. The Catechol-O-Methyltransferase and Dopamine Transporter Genes Moderated the Impact of Peer Relationships on Adolescent Depressive Symptoms: A Gene-Gene-Environment Study. *J Youth Adolesc.* 2018; 47(11):2468-2480.
- 66.** Wang M, Ma Y, Yuan W, Su K, Li MD. Meta-Analysis of the COMT Val158Met Polymorphism in Major Depressive Disorder: Effect of Ethnicity. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2016; 11(3):434-45.
- 67.** Massat I, Kocabas NA, Crisafulli C, Chiesa A, Calati R, Linotte S, et al. COMT and age at onset in mood disorders: a replication and extension study. *Neurosci Lett.* 2011; 493(3):218-21.
- 68.** Ohara K, Nagai M, Suzuki Y, Ohara K. Low activity allele of catechol-o-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport.* 1998; 9(7):1305-8.
- 69.** López-León S, Janssens AC, González-Zuloeta AML, Del-Favero J, Claes SJ, Oostra BA, et al. Metaanalyses of genetic studies on major depressive disorder. *Mol Psychiatry.* 2008;13(8):772-85.
- 70.** Wan L, Yuhong L, Zhang Z, Sun Z, He Y, Li R. Methylenetetrahydrofolate reductase and psychiatric diseases. *Transl Psychiatry.* 2018; 8(1): 242.
- 71.** Sayadi MA, Ons A, Ezzaher A, Hellara I, Omezzine A, Douki W, et al. CT genotype of 5,10- methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism is protector factor of major depressive disorder in the tunisian population: a case control study. *Ann Gen Psychiatry.* 2016;15: 18.
- 72.** Wu YL, Ding XX, Sun YH, Yang HY, Chen J, Zhao X et al. Association between MTHFR C677T polymorphism and depression: An updated meta-analysis of 26 studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013; 46:78-85.

- 73.** Bonderenko EA, Shandrina MI, Grishkina MN, Druzhkova TA, Akzhigitov RG, Gulyaeva NV et al. Genetic Analysis of *BDNF*, *GNB3*, *MTHFR*, *ACE* and *APOE* Variants in Major and Recurrent Depressive Disorders in Russia. *Int J Med Sci.* 2016; 13(12): 977-983.
- 74.** Delpor D, Schoeman R, van der Merwe N, van der Merwe L, Fisher LR, Geiger D et al. Significance of dietary folate intake, homocysteine levels and *MTHFR* 677 C>T genotyping in South African patients diagnosed with depression: test development for clinical application. *Metab Brain Dis.* 2014; 29(2): 377-384.
- 75.** Ignácio ZM, Réus GZ, Arent CO, Abelaira HM, Pitcher MR, Quevedo J. New perspectives on the involvement of mTOR in depression as well as in the action of antidepressant drugs. *Br J Clin Pharmacol.* 2016;82(5):1280-1290.
- 76.** Réus GZ, Quevedo J, Rodrigues ALS. mTOR signaling in the neuropathophysiology of depression: current evidence. *J Recept.* 2015; 8: 65-74.
- 77.** Frias MA, Thoreen CC, Jaffe JD, Schroder W, Sculley T, Carr SA, Sabatini DM. mSin1 is necessary for Akt/PKB phosphorylation, and its isoforms define three distinct mTORC2s. *Curr Biol.* 2006; 16:1865-1870.
- 78.** Paolucci E, Loukov D, Bowdish DME, Heisz J. Exercise reduces depression and inflammation but intensity matters. *Biol Psychol.* 2018; 133: 79-84.
- 79.** Chandran A, Iyo AH, Jernigan CS, Legutko B, Austin MC, Karolewicz B. Reduced phosphorylation of the mTOR signaling pathway components in the amygdala of rats exposed to chronic stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013; 40:240-245.
- 80.** Hoeffler CA, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci.* 2010; 33:67- 75.

- 81.** Michopoulos V, Powers A, Gillespie CF, Ressler KJ, Jovanovic T. Inflammation in fear- and anxiety-based disorders: PTSD, GAD, and beyond. *Neuropsychopharmacol.* 2017;42(1): 254-270.
- 82.** Felger JC. Imaging the role of inflammation in mood and anxiety-related disorders. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(5):533-558.
- 83.** Marques AH, Cizza G, Sternberg E. Interações imunocerebrais e implicações nos transtornos psiquiátricos. *Braz J Psychiatry.* 2007; 29 (1):S27-32.
- 84.** Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med.* 2009; 71(2) 171-86.
- 85.** Charlton RA, Lamar M, Zhang A, Ren X, Ajilore O, Pandev GN et al. Associations between pro-inflammatory cytokines, learning, and memory in late-life depression and healthy aging. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2018; 33(1): 104-112.
- 86.** Almeida DB, Mota SCB, Mesquita DS, Honório Junior J. The relation between inflammatory markers and depression: a literature review. *Scire Salutis.* 2020; 11 (1).
- 87.** Tayefi M, Shafiee M, Kazemi-Bajestani SMR, Esmaeli H, Darroudi S, Khakpouri S, et al. Depression and anxiety are associated with the serum level of CRP-us: gender-stratified analysis in a population-based study. *Psychoneuroendocrinol.* 2017.81:63-69.
- 88.** Naudé PJW, Roest AM, Stein DJ, de Jonge P, Doornbos B. Anxiety disorders and CRP in a population cohort study with 54,326 participants: The LifeLines study. *World J Biol Psychiatry.* 2018;19(6):461-470.
- 89.** Yibulaiyin H, Sun H, Yang Y. Depression is Associated with CRP SNPs in Patients with Family History. *Transl Neurosci.* 2017; 8:201-206.

- 90.** Su S, Miller AH, Snieder H, Bremner JD, Ritchie J, Maisano C, et al. Common genetic contributions to depressive symptoms and inflammatory markers in middle-aged men: the twins heart study. *Psychosom. Med.* 2009; 71: 152-158.
- 91.** Udina M, Moreno-España J, Navinés R, Giménez D, Langohr K, Gratacòs M, et al. Serotonin and interleukin-6: the role of genetic polymorphisms in IFN-induced neuropsychiatric symptoms. *Psychoneuroendocrinolog.* 2013; 38(9): 1803-13.
- 92.** Kim JM, Steart R, Kim SW, Shin IS, Sato T, Park MS, ET AL. Associations of cytokine gene polymorphisms with post-stroke depression. *World J Biol Psychiatry.* 2012; 13(8): 579-87.
- 93.** Breslau N. Depressive symptoms, major depression, and generalized anxiety: a comparison of self-reports on CES-D and results from diagnostic interviews. *Psychiatr Res.* 1985; 15(3): 219-29.
- 94.** Beekman A, Deeg D, Limbeek J, Braam A, De Vries M, Tilburg W. Criterion Validity of the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D): Results From a Community-Based Sample of Older Subjects in The Netherlands. *Psychol Med.* 1997 Jan;27(1):231-5.
- 95.** Bastitoni SST, Néri AL, Cupertino AP. Validade e confiabilidade da versão Brasileira da Center for Epidemiologic Scale- Depression (CES-D) em idosos Brasileiros. *Psico-USF.* 2010; 15(1).
- 96.** Martiny C, Silva ACO, Nardi AE, Pachana NA. Tradução e adaptação transcultural da versão brasileira do Inventário de Ansiedade Geriátrica (GAI). *Rev Psiquiatr.* 2011; 38(1): 8-12
- 97.** Pachana NA, Byrne GJ, Siddle H, Koloski N, Harley E, Arnold E. Development and validation of the Geriatric Anxiety Inventory. *Int Psychogeriatr.* 2007;19(1):103-14.

- 98.** Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975; 13(3):189-98.
- 99.** Brucki SMD, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PHF, Okamoto IH. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. *Arq. Neuro-Psiquiatr.* 2003; 61(3-B): 777-781.
- 100.** Bottino C, Zevallos-Bustamante S, Lopes M, Azevedo D, Hototian S, Jacob-Filho W, et al. Combined instruments for the screening of dementia in older people with low Education. *Arq Neuropsiquiatr.* 2009;67(2-A):185-190.
- 101.** Lahiri DK, Nurnberg JL. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19(19) 5444.
- 102.** Melo MR, Martins AR, Barbosa IVM, Romano P, Shcolnik W. Coleta, transporte e armazenamento de amostras para diagnóstico molecular. *J Bras Patol Med Lab.* 2010; 46(5): 375-381.
- 103.** Carvalho CV, Ricci G, Affonso R. Guia de Práticas em Biologia Molecular. São Paulo: *Yendis*, 2010.
- 104.** Marcelino EM, Silva PMC, Medeiros FAL, Silva JRL, Olinda RA, Medeiros ACT. Prevalence of depressive symptoms and health conditions in the elderly treated in primary health care. *Rev Baiana Enferm.* 2022; 36:e45832.
- 105.** Alvarenga MRM, Oliveira MAC, Faccenda O. Depressive symptoms in the elderly: analysis of the items of the Geriatric Depression Scale. *Acta Paul Enferm.* 2012; 25(4):497-503.
- 106.** Lewinsohn PM, Seeley JR, Roberts RE, Allen NB. Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) as a screening instrument for

depression among community-residing older adults. *Psychol Aging*.1997;12(2):277-87.

107. Vilagut G, Forero CG, Barbaglia G, Alonso J. Screening for Depression in the General Population with the Center for Epidemiologic Studies Depression (CES-D): A Systematic Review with Meta-Analysis. *Plos One*. 2016; 11(5): e0155431.

108. Melo DM, Barbosa AJG. O uso do Mini-Exame do Estado Mental em pesquisas com idosos no Brasil: uma revisão sistemática. *Ciêñ. Saúde colet*. 2015; 20(15).

109. Su S, Miller AH, Snieder H, Bremner JD, Ritchie J, Maisano C, et al. Common genetic contributions to depressive symptoms and inflammatory markers in middle-aged men: the twins heart study. *Psychosom. Med*. 2009; 71: 152-158.

110. Gerretsen P, Pollock BG. Pharmacogenetics and the serotonin transporter in late-life depression. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008; 4(12):1465-78.

111. Behbahani P, Kazemi-Nezhad SR, Foroughmand AM, Ahmadi L, et al. Association study of single nucleotide polymorphism rs165599 of COMT gene, with schizophrenia and bipolar mood disorder in the south-west of Iran. *Mol Biol Res Commun*. 2015;4(2):67-72.

112. Funke B, Malhotra AK, Finn CT, Plocik AM, Lake AL, Lencz T, et al. COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Behav Brain Funct*. 2005; 18; 1-19.

113. Perlis RH, Fijal B, Adams DH, Sutton VK, Trivedi MH, Houston JP. Variation in Catechol-O-Methyltransferase is associated with Duloxetine Response in clinical trial for major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 2009; 65: 785- 791.

114. Ancelin ML, Farré A, Carrière I, Ritchie K, Chaudieu I, Ryan J. C-reactive protein gene variants: independent association with late-life depression and circulating protein levels. *Transl Psychiatry*. 2015; 5(1):499.

115. Barnes J, Mondelli V, Pariante Cm. Genetic Contributions of inflammation to depression. *Neuropsychopharmacol*. 2017; 42(1):81-98.

116. Cicchetti D, Handley ED, Rogosch FA. Child Maltreatment, Inflammation, and Internalizing Symptoms: Investigating the Roles of C-reactive Protein, Gene Variation and Neuroendocrine Regulation. *Dev Psychopathol*. 2016; 27(2):553-566.