

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E COMPORTAMENTO**

CRISTIANE JACKSON BORGES

**NÍVEIS SÉRICOS DE BDNF (*BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR*) NA
TENTATIVA DE SUICÍDIO EM AMOSTRA DE BASE POPULACIONAL**

**Pelotas
2016**

CRISTIANE JACKSON BORGES

**NÍVEIS SÉRICOS DE BDNF (*BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR*) NA
TENTATIVA DE SUICÍDIO EM AMOSTRA DE BASE POPULACIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Comportamento da Universidade Católica de Pelotas como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde e Comportamento.

Orientador: Prof. Dr. Jean Pierre Oses

Pelotas
2016

Catalogação da Publicação

Ficha elaborada a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da UCPEL: Cristiane de Freitas Chim CRB 10/1233

Borges, Cristiane Jackson

Níveis séricos de BDNF (Brain derived neurotrophic factors) na tentativa de suicídio em amostra de base populacional / Cristiane Jackson Borges. - Pelotas: UCPEL, 2016.

46 f.

Orientador: Jean Pierre Oses.

Dissertação (mestrado) - Universidade Católica de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em saúde e Comportamento. - Pelotas, BR-RS, 2016.

1. BDNF. 2. tentativa de suicídio. 3. Depressão maior. 4. transtorno bipolar. 5. transtornos mentais. I. Oses, Jean Pierre, orient. II. Título.

**NÍVEIS SÉRICOS DE BDNF (*BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR*) NA
TENTATIVA DE SUICÍDIO EM AMOSTRA DE BASE POPULACIONAL**

Conceito final: _____

Aprovado em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Thaise Mondin

Universidade Católica de Pelotas

Profa. Dra. Carolina David Wiener

Universidade Federal de Pelotas

Orientador – Prof Dr Jean Pierre Oses

IDENTIFICAÇÃO

Título: Níveis Séricos de BDNF (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro) na tentativa de suicídio em amostra de base populacional

Discente: Cristiane Jackson Borges

Orientador: Prof. Dr. Jean Pierre Oses

Instituição: Universidade Católica de Pelotas

Centro: Centro de Ciências da Vida e da Saúde

Curso: Programa de Pós-Graduação: Saúde e Comportamento (PPGSC)

Linha de Pesquisa: Neuroquímica e Injúria Cerebral

Data: Outubro, 2016

RESUMO

A tentativa de suicídio causa sequelas para quem pratica o ato de autoagressão, bem como também para seus familiares e a sociedade em geral. Estima-se que para cada suicídio existam pelo menos dez tentativas com gravidade para requerer atendimento médico, considerando ainda que para cada tentativa documentada existam quatro que não foram registradas. Uma maior habilidade em lidar com as tentativas de suicídio poderá fazer com que haja uma redução no número de suicídios e conseqüentemente o impacto social e familiar. O suicídio é fenômeno multifatorial e importante problema de saúde pública mundial que afeta cerca de um milhão de pessoas por ano no mundo. Estima-se que 90% dos suicídios estejam associados com transtornos mentais como fator de risco. O comportamento suicida em sua patogênese envolve plasticidade neural alterada resultante do sistema nervoso central frente a agentes estressores e fatores ambientais. As neurotrofinas por sua vez desempenham papel importante na regulação sináptica, plasticidade morfológica e na modulação da força e número de ligações sinápticas e neurotransmissão, dentre elas se destaca o BDNF que se apresenta diminuído em pacientes com comportamento suicida, sendo assim, o BDNF pode ser um possível biomarcador de grande importância no diagnóstico e risco de suicídio. O objetivo desse estudo é avaliar os níveis séricos de BDNF entre indivíduos com tentativa de suicídio e um grupo controle sem transtornos mentais oriundos de uma amostra de base populacional. Trata-se de um estudo transversal pareado, aninhado a um estudo transversal de base populacional envolvendo 2348 adultos jovens de 18 a 35 anos, residentes na área urbana. Para avaliação dos transtornos mentais e tentativa de suicídio os sujeitos serão avaliados através de uma entrevista diagnóstica – *Mini International Neuropsychiatric Interview* (M.I.N.I.). Após a entrevista diagnóstica, os indivíduos serão convidados a realizar uma coleta de 10 mL de sangue, e o soro resultante será armazenado à -80°C para posterior dosagem. Para mensurar os níveis séricos de BDNF, serão utilizados kits comerciais (DuoSet ELISA Development, R&D Systems, Inc., USA) pela técnica de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). A hipótese do estudo é que os indivíduos que tenham realizado uma ou mais tentativas de suicídio apresentem uma redução nos níveis séricos de BDNF quando comparados com o grupo controle.

Palavras-chave: BDNF, Tentativa de suicídio, Depressão maior, Transtorno Bipolar, Transtornos mentais, Biomarcador

ABSTRACT

A suicide attempt causes sequels to those who practice self-harm, as well as to their family members and a society in general. It is estimated that for each suicide there are at least ten attempts with seriousness to request medical attention, although for each documented attempt there are four that have not been registered. A great ability to deal with suicide attempts can lead to a reduction in the number of suicides and consequently the social and family impact. Suicide is a multifactorial phenomenon and an important global public health problem that affects about one million people a year in the world. It is estimated that 90% of suicides are associated with mental disorders as a risk factor. The suicidal behavior in its pathogenesis involves altered neural plasticity makes the nervous system central to stressors and environmental results. Neurotrophins in turn play an important role in synaptic regulation, morphological plasticity and modulation of strength and number of synaptic and neurotransmission, among them BDNF can be used. A possible biomarker of great importance is not diagnostic and risk of suicide. The aim of this study is to evaluate the serum levels of BDNF between individuals with attempted suicide and a control group without mental disorders from a population-based sample. This is a cross-sectional, matched, cross-sectional study with a population-based cross-sectional study involving 2,348 young adults aged 18-35 living in the urban area. For the evaluation of mental disorders and suicide attempt the subjects are interviews through a diagnostic interview - Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.). After a diagnostic interview, the assays were performed at a temperature of 10 ml of blood, and the serum was stored at -80 ° C for further dosing. For the measurement of serum levels of BDNF, commercial kits (DuoSet ELISA Development, R & D Systems, Inc., USA) were used by the ELISA technique (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). The hypothesis of the study is that individuals who have undergone one or more suicide attempts show a reduction in serum BDNF levels when compared to the control group.

Keywords: BDNF, Attempted suicide, Major depression, Bipolar Disorder, Mental Disorders, Biomarker

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – BDNF serum levels in healthy controls, MDD and MDD+AS individuals.....	00
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Socio-demographic characteristics of the sample according to the diagnostic.....	00
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
TDM	Transtorno Depressivo Maior
NTRK2	<i>Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 2</i>
TrKB	<i>Tropomyosin receptor kinase B</i>
NGF	<i>Nerve Growth factor</i>
TrKA	<i>Tropomyosin receptor kinase A</i>
mRNA	Ácido Ribonucleico Mensageiro
NT-3	<i>Neurotrophin-3</i>
FP4	Fator Plaquetário 4
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
TNF- α	Fator de necrose Tumoral alfa
NPY	Neuropeptídeo Y
CSF	Líquido cefalorraquidiano
M.I.N.I	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
DSM-IV	Manual Diagnóstico e Estatístico De Transtornos Mentais IV
CID-10	Código Internacional de Doenças

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO,	11
2	ESTRATÉGIA DE BUSCA,	13
3	OBJETIVOS,	13
3.1	OBJETIVO GERAL,	13
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO,	14
4	HIPÓTESES,	14
5	REVISÃO DE LITERATURA,	14
6	MÉTODO,	24
6.1	DELINEAMENTO,	24
6.2	AMOSTRA,	24
6.3	COLETA DE DADOS,	25
6.4	PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS,	25
6.5	ANÁLISE BIOQUÍMICA,	25
6.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS,	26
6.7	ASPECTOS ÉTICOS,	26
7	CRONOGRAMA,	27
8	ORÇAMENTO,	27
9.	REFERÊNCIAS,	28
	REFERÊNCIAS,	28
10.	ARTIGO,	32
11.	CONSIDERAÇÕES FINAIS,	44
12.	ANEXOS,	45

1 INTRODUÇÃO

A tentativa de suicídio é definida como um ato de autoagressão não fatal de ampla variedade, podendo deixar sequelas de diferentes magnitudes.¹ Apesar de aparentemente fácil de definir, o ato suicida ou a tentativa levanta problemas complexos e difíceis, devido à multiplicidade de condições e situações que podem levar a isso. Em todos os casos a definição do suicídio ou a tentativa de suicídio é sempre centrada na intenção de uma pessoa para causar deliberadamente a sua morte ou lesões de maneira ativa.²

As taxas de prevalência de tentativas de suicídio ao longo da vida variam de 0,4% a 4,2%.³ Estima-se que para cada caso de suicídio existam pelo menos dez tentativas de gravidade suficiente para requerer cuidados médicos e que esses comportamentos sejam até 40 vezes mais frequentes do que os suicídios consumados⁴, considerando-se ainda que, para cada tentativa documentada, existam outras quatro que não foram registradas.¹

Atualmente, há mais mortes por suicídio que a de todas as guerras juntas. Nem todos os casos de suicídio poderão ser prevenidos, mas a habilidade em lidar com eles pode fazer com que haja uma redução significativa no número de tentativas e suicídios. Além disso, o impacto para a família e sociedade será reduzido, além de disponibilizar um melhor tratamento para o paciente. Lembrando que negligenciar a intenção é subestimar o risco futuro.¹ O suicídio é um importante problema de saúde pública mundial. Cerca de um milhão de pessoas morrem por ano no mundo devido ao suicídio.⁵ O principal fator de risco para o suicídio é a presença de doença mental, estima-se que 90% dos suicídios estejam associados com algum tipo de distúrbio psiquiátrico.^{6,7} Embora a presença de transtornos mentais seja um fator de risco importante, o suicídio é um fenômeno multifatorial complexo, na qual várias anormalidades biológicas, além de fatores psicossociais, genéticos e ambientais podem desempenhar um papel importante.⁸

A etiologia do suicídio é certamente complexa, com diversos fatores contribuindo para a predisposição a este evento, muitas teorias têm sido propostas para tentar explicá-la. Recentemente, pesquisas revelaram que a redução nos níveis das neurotrofinas, tais como o BDNF (do inglês, *Brain Derived Neurotrophic Factor*) que é um dos principais fatores neurotróficos responsáveis pela manutenção e sobrevivência de neurônios e na plasticidade sináptica está sendo associado com o comportamento suicida.⁹

O comportamento suicida envolve em sua patogênese plasticidade neural alterada, resultando numa resposta anormal do SNC (Sistema Nervoso Central) a agentes estressores e fatores ambientais.¹⁰ As neurotrofinas estão envolvidas na regulação sináptica, plasticidade morfológica e na modulação da força e número de ligações sinápticas e neurotransmissão. No SNC, as neurotrofinas são responsáveis pela ativação neuroendócrina e neuronal. Elas regulam o crescimento e a proliferação das células gliais, modulam a atividade dos peptídeos opioides endógenos e ativam o eixo HPA, exercendo efeitos nos neurônios produtores de hormônio liberador de corticotrofina e podem atuar nas células endoteliais da vasculatura cerebral ou nas células gliais nos órgãos circunventriculares, induzindo a síntese e a liberação de mensageiros secundários que, por sua vez, ativam os neurônios do hipotálamo.¹¹ Além disso, as neurotrofinas também podem afetar o metabolismo dos sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e dopaminérgico.¹² O BDNF está diminuído em pacientes com comportamento suicida independente do diagnóstico psiquiátrico.¹³ Sendo assim, o BDNF poderia ser um biomarcador de grande importância no diagnóstico e risco de suicídio.

Portanto, são necessários mais estudos e pesquisas em relação à neurobiologia do suicídio, a fim de ajudar a identificar biomarcadores e agentes farmacológicos apropriados, que poderão ajudar na detecção precoce, bem como tratamentos mais eficientes para reduzir a mortalidade.

2 ESTRATÉGIA DE BUSCA

A pesquisa bibliográfica foi realizada, principalmente, na base de dados *Pubmed*, complementada com referências dos artigos encontrados, de cujo conteúdo utilizou-se 25 estudos. A estratégia de busca está descrita na tabela abaixo.

Tabela 1. Estratégia de Revisão Bibliográfica.

Base de Dados	Descritores	Artigos Encontrados	Incluídos no Estudo
PubMed	BDNF or brain-derived neurotrophic factor	17226	2
PubMed	BDNF and attempted suicide	37	12
PubMed	BDNF and suicide	135	5
Artigos encontrados nas referências de estudos		8	6
Total de Estudos incluídos			25

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

A busca de marcadores bioquímicos periféricos de doenças psiquiátricas é tema de intensa pesquisa nas neurociências básica e contemporânea. Neste contexto, torna-se importante a busca por marcadores neuroquímicos para o suicídio. A utilização de marcadores para o suicídio pode ser uma ferramenta relevante para auxiliar no diagnóstico deste transtorno. Desta maneira, o objetivo deste estudo será avaliar os níveis séricos de BDNF em

indivíduos com e sem tentativa de suicídio em uma amostra de base populacional, comparando com indivíduos saudáveis.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar as concentrações séricas de BDNF entre indivíduos com tentativa de suicídio, comparando com um grupo controle sem transtornos mentais oriundo de uma amostra populacional.

4 HIPÓTESES

Os indivíduos com tentativa de suicídio apresentam uma redução nos níveis séricos de BDNF quando comparados com o grupo controle.

5 REVISÃO DE LITERATURA

O suicídio é um fenômeno complexo e um problema grave de saúde pública que requer a nossa atenção. O número de mortes por suicídio, em termos globais, é aproximadamente de 900 mil pessoas ao ano. Na faixa etária entre 15 e 35 anos, o suicídio está entre as três maiores causas de morte. Nos últimos 45 anos, a mortalidade global por suicídio vem migrando em participação percentual do grupo dos mais idosos para o de indivíduos mais jovens. Em indivíduos entre 15 e 44 anos, o suicídio é a sexta causa de incapacitação. Para cada suicídio há, em média, 5 ou 6 pessoas próximas ao falecido que sofrem consequências emocionais, sociais e econômicas. No ano de 2002, aproximadamente

1,4% do ônus ocasionado por doenças foi relacionado ao suicídio, e estima-se que poderá chegar a 2,4% em 2020.¹⁴

Investigações atuais indicam que a prevenção do suicídio, embora possível, envolva toda uma série de atividades, que vão desde o proporcionar as melhores condições possíveis na infância e adolescência, passando pelo tratamento eficaz de perturbações mentais, até ao controle ambiental de fatores de risco.¹⁴ Estudos da neurobiologia do comportamento suicida se tornaram uma parte importante e integrante da investigação psiquiátrica. Ao longo dos últimos anos, estudos sobre o papel do BDNF na fisiopatologia de suicídio têm atraído um interesse significativo dos investigadores. Várias linhas de evidência incluindo estudos de níveis de BDNF em células sanguíneas e plasma de doentes com tendências suicidas, estudos cerebral *post-mortem* de pacientes suicidas com ou sem depressão, e de estudos de associação genética que ligam BDNF ao suicídio sugerem que o comportamento suicida pode estar associado com uma diminuição no funcionamento do BDNF.¹³

Avanços na neurociência estão revelando possíveis mecanismos celulares e genéticos básicos que atuam no desenvolvimento e na maturação do cérebro. Essas descobertas tornarão possível um melhor e mais profundo entendimento dos fatores biológicos e os genes relacionados com o comportamento suicida.¹ Estudos realizados envolvendo polimorfismo Val66met (um polimorfismo de nucleotídeo único funcional do BDNF) e pacientes deprimidos que tentaram suicídio demonstraram que abusos na infância estão relacionados com modificações estruturais cerebrais através da disfunção do BDNF e assim mostrando um aumento significativo do risco de suicídio. Assim, estes achados sugerem que o BDNF pode desempenhar um papel importante no comportamento suicida.^{15,16}

De Luca¹⁷ que estudou a importância do BDNF na fisiopatologia de distúrbios de humor e seu envolvimento no comportamento suicida, analisou a expressão de alelos Val66Met em pais que tentaram suicídio e vítimas de suicídio. Não houve diferença

significativa entre relações de transmissão materna e paterna. Além disso, não houve diferença significativa na proporção de Val/Met-expressão de RNAm específico entre vítimas de suicídio e indivíduos do grupo controle. Sendo assim, estes dados não sustentam a hipótese que o desequilíbrio de alelos de BDNF tem papel no comportamento suicida em grandes psicoses.

O BDNF está envolvido de maneiras diferentes em vários transtornos psiquiátricos e a hipótese de que o polimorfismo genético pode ser associado ao transtorno bipolar. No que refere exclusivamente ao gene rs4923463 houve uma associação significativa com a tentativa de suicídio violenta. Os resultados obtidos indicam que as variantes de BDNF pode conferir susceptibilidade para diagnóstico psiquiátrico adicional em transtorno bipolar.¹⁸

Em 2010 um estudo foi realizado para determinar se o BDNF e seu gene receptor NTRK2 conferiam risco para a tentativa de suicídio e TDM, investigando variantes genéticas comuns nestes loci. Os resultados demonstram que variações na sequência de DNA independentes dentro do NTRK2 estão associadas com tentativa de suicídio entre pacientes deprimidos na qual foram confirmadas em ambas amostras de replicação do estudo.¹⁹ Já RATA-APHA(2013) estudou 307 suicídios concluídos.²⁰ Que mostrou que o alelo Met tende a estar associado com tentativa de suicídio, mas não com o suicídio concluído. Em um estudo que avaliou a metilação do gene codificador do BDNF em pacientes depressivos demonstrou que o estado de metilação desse gene está significativamente associado com história anterior de tentativa de suicídio. Sendo assim, sugere que a metilação do gene do BDNF poderia ser um biomarcador clínico para tratamentos de ideação suicida na depressão.²¹

Em relação à proteína expressa e seus níveis, diversos estudos têm investigado o papel do BDNF no suicídio. Estudos realizados em 2007 analisaram se havia diferença nos níveis plasmáticos de BDNF em pacientes depressivos e que tentaram suicídio, pacientes

depressivos sem tentativa de suicídio e grupo controle composto por indivíduos saudáveis. Em ambos estudos os níveis de BDNF foram significativamente menores nos pacientes suicidas com transtorno depressivo maior.^{22,23} Além disso, LEE²⁴ avaliou BDNF mRNA em células mononucleares do sangue periférico de pacientes com depressão maior que tinham ou não tentando suicídio recentemente comparado com grupo controle saudável. Todos pacientes não faziam uso de medicação. A expressão de BDNF mRNA foi significativamente reduzida nas células mononucleadas do sangue periférico de pacientes com transtorno depressivo maior com ou sem tentativa de suicídio, quando comparados com o grupo controle.

Há uma crescente evidência de que o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), bem como o fator de crescimento do nervo (NGF) estão envolvidos na fisiopatologia e tratamento da depressão por meio da ligação e ativação dos seus receptores cognatos TrkB e TrkA respectivamente. Um estudo verificou o papel destas neurotrofinas e receptores citados no hipocampo do cérebro post-mortem dos pacientes que cometeram suicídio e se essas alterações foram associadas com psicopatologias específicas. Os autores observaram uma redução da expressão de BDNF, TrkB, NGF e TrkA nos níveis de ambas proteínas e mRNA do cérebro post-mortem de vítimas de suicídio, sugerindo que estas moléculas desempenham importante papel na fisiopatologia do comportamento suicida.²⁵ Posteriormente em 2003 DWIVEDI²⁸ realizou um estudo para examinar se a expressão de BDNF e a Isoforma trK B estavam alteradas no cérebro pós morte de suicidas e se alterações estavam associadas com condições psicopatológicas específicas. Os níveis de RNA mensageiro de BDNF e trK B estavam significativamente reduzidos, porém estas reduções foram associadas aos níveis de proteína de BDNF e full-length B, mas não com isoforma de trk B. Essas mudanças estavam presentes em todos indivíduos suicidas independente do diagnóstico psiquiátrico e não estavam relacionados com intervalo pós morte, idade, sexo ou pH do cérebro.²⁶

Já GRAH (2014) realizou um estudo com o objetivo de examinar a associação entre níveis séricos de BDNF como um possível indicador periférico de comportamento suicida, independente dos transtornos mentais que os pacientes apresentem em comparação com o grupo controle saudável.²⁷ Neste estudo, 73% dos pacientes tomavam alguma forma de psicofármacos. Sujeitos com transtorno de personalidade e transtorno de ajustamento com tentativa de suicídio apresentaram níveis séricos de BDNF significativamente mais baixos do que aqueles sem tentativa de suicídio. Porém aqueles com transtorno, mas que faziam uso de psicofármacos tinham níveis séricos de BDNF mais elevado. Através da regressão logística indicou que os níveis séricos de BDNF e psicofarmacologia estão estatisticamente correlacionadas com tentativas de suicídio independente dos transtornos mentais.

KAREGE realizou dois estudos em 2005, um dos estudos foi para analisar se existia anomalia no BDNF e a Neurotrofina-3 (NT-3) em vítimas de suicídio.²⁸ Os resultados indicaram uma diminuição significativa nos níveis de BDNF e NT-3 no hipocampo e córtex pré-frontal ventral (apenas o BDNF), mas não no córtex entorrinal dos suicidas que não faziam uso de fármacos em comparação com os controles não-suicidas. A redução foi observada em todas as vítimas independentes do diagnóstico. No outro²⁹ estudo foi avaliado os níveis de BDNF no sangue e o índice de ativação plaquetária em indivíduos depressivos. Os níveis séricos e plasma de BDNF estavam diminuídos nos pacientes deprimidos em comparação com o grupo controle. A relação de BDNF no soro/sangue foi menor nos pacientes com depressão maior, porém os níveis séricos do fator plaquetário (FP4) não foram observadas diferenças em indivíduos deprimidos em comparação com grupo controle, sugerindo que a alteração do BDNF está provavelmente relacionada com os mecanismos de liberação de BDNF, pois sua secreção parece ser independente da reatividade de plaquetas.

Já para LEE & KIM que realizaram um estudo em 2009 com o objetivo de explorar o nível de BDNF plaquetário em pacientes com depressão maior (TDM) suicidas e não-suicidas

em comparação com grupo controle saudável. Participaram do estudo 20 indivíduos TDM não-suicidas, 20 indivíduos TDM que tentaram suicídio recentemente e 20 indivíduos saudáveis.³⁰ Os níveis de plaquetas de BDNF foram significativamente menores nos indivíduos TDM não-suicidas e TDM suicidas do que nos indivíduos saudáveis. O nível de BDNF plaquetário não apresentou diferenças significativas entre pacientes TDM não-suicidas e TDM suicidas no plasma rico em plaquetas, enquanto no plasma pobre de plaquetas não houve diferença significativa entre os três grupos.

Um certo número de estudos demonstra que níveis elevados de citocinas inflamatórias podem promover depressão e pensamentos suicidas e que peptídeos neuroprotetores podem diminuir a resposta ao stress e depressão. MARTINEZ (2012) estudou os níveis de três citocinas inflamatórias (IL-1 β , Il-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e dois neuropeptídeos BDNF e Neuropeptídeos Y (NPY) no fluido cérebro-espinhal (CSF) de pacientes com depressão e controles saudáveis.³¹ Verificou-se que no início do estudo pacientes deprimidos tiveram maior concentração de NPY no FCS em comparação com o grupo controle. Foi encontrado varias correlações estatisticamente significativas entre níveis elevados de citocinas no líquido e gravidade clinica entre os deprimidos. Estes dados são de interesse para confirmar alguns aspectos da hipótese inflamatória na depressão.

Autor, Ano, Revista.	Objetivo	Método (Delineamento, Amostra, Instrumento).	Principais resultados	Comentários e Observações
DWIVEDI, 2003. Arch Gen Psychiatry. 2003; 60(8):804-15.	Examinar se a expressão de BDNF e o trkB foi alterada no cérebro pós-morte em indivíduos suicidas	Caso-controle, 27 suicidas, 21 indivíduos do grupo controle não psiquiátricos, reação competitiva da transcriptase inversa-polimerase em cadeia e técnica Western blot.	Os níveis de RNAm de BDNF e trkB foram significativamente reduzidos.	As reduções foram associadas aos níveis de BDNF e full-length trkB, mas não a Isoforma truncada de B.
KAREGE, 2005. Brain Res Mol Brain Res. 2005 20; 136(1-2):29-37. Epub 2005 Mar 5.	Analisar se existe uma anomalia no BDNF e Neurotrofina-3(NT-3) em vítimas de suicídio.	Caso-controle, 30 suicidas, 24 indivíduos não suicidas e livres de fármacos e desprovidos de doença psiquiátrica ou neurológica. Transferência de Western ou ELISA.	Diminuição significativa no BDNF e NT-3 no hipocampo e córtex pré-frontal apenas do BDNF, mas não no córtex entorrinal.	A redução foi observada em todas as vítimas de suicídio, independentemente do diagnóstico.
KAREGE, 2005. Biol Psychiatry. 2005 1; 57 (9): 1068-72.	Avaliar níveis plasmáticos de BDNF e o índice de ativação plaquetária FP4.	Caso-controle, 43 indivíduos com transtorno depressivo maior (TDM) livre de fármacos, 35 indivíduos controle saudáveis. Foi utilizado ensaio imunossorvente ligado à enzima e a depressão avaliada com a Escala de Avaliação da Depressão de Montgomery-Asberg.	Os níveis séricos e plasma de BDNF foram diminuídos nos pacientes deprimidos em comparação com indivíduos controle.	Em sangue total, os níveis de BDNF foram inalterados nos deprimidos e controle. A relação BDNF no soro / sangue foi menor nos pacientes com TDM. Não foram observadas aumento nos níveis séricos de FP4

Autor, Ano, Revista.	Objetivo	Método (Delineamento, Amostra, Instrumento).	Principais resultados	Comentários e Observações
KIM, 2007. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007 30; 31(1): 78-85.	Analisar os níveis plasmáticos de BDNF em pacientes com TDM suicidas, TDM não suicidas e grupo controle saudáveis.	Caso-controle, 32 TDM suicidas, 32 TDM não suicidas e 30 indivíduos controle saudáveis, foi utilizado ensaio imunoabsorvente ligado à enzima. A letalidade da tentativa de suicídio utilizou duas Escalas RRR/ LSARS. E a gravidade da depressão foi medida pela Escala Hamilton.	Os níveis de BDNF foram significativamente menores nos pacientes suicidas TDM do que pacientes TDM não suicidas ou controles saudáveis.	As escalas LSARS e RRR não revelaram quaisquer correlações significativas com os níveis de BDNF em pacientes suicidas. Os níveis de BDNF não foram diferentes entre tentativas de suicídios fatais e não fatais.
DEVECI, 2007. Neuropsychobiology. 2007; 56 (2-3): 93-7.	Investigar se há diferença nos níveis séricos de BDNF em suicidas e indivíduos com TDM não suicidas e grupo controle saudável.	Caso-controle, 10 indivíduos com tentativa de suicídio sem transtorno psiquiátrico grave, 24 indivíduos TDM não suicidas e 26 indivíduos controle saudáveis. Foi utilizado o kit ELISA, teste de Kruskal-Wallis não paramétrico de análise de variância.	Os níveis de BDNF no soro eram significativamente mais baixos no grupo de suicidas.	
LEE & KIM, 2009. Psychiatry, 2009; 33 (5): 849-53.	Explorar se os níveis de BDNF plaquetário seriam mais baixos em pacientes com TDM em plasma rico em plaquetas (PRP) e plasma pobre em plaquetas (PPP)	Caso-controle, 20 pacientes TDM não suicidas, 20 pacientes TDM suicidas e 20 indivíduos controle saudáveis, DSM-IV e Escala de Hamilton, teor de plaquetas BDNF calculado subtraindo-se o nível de PPP a partir do PRP.	Os níveis de plaquetas BDNF foram significativamente menores nos pacientes não suicidas e nos pacientes TDM suicidas do que nos indivíduos saudáveis.	Os níveis de BDNF no PRP foram significativamente menores nos pacientes TDM suicidas e não suicidas do que no controle, porém no PPP o BDNF não apresentou diferença significativa entre os três grupos.

Autor, Ano, Revista.	Objetivo	Método (Delineamento, Amostra, Instrumento).	Principais resultados	Comentários e Observações
LEE, 2010. J Affect Disord. 2010; 125 (1-3):369-73.	Avaliar o BDNF RNAm em células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de pacientes com TDM suicidas e TDM não suicidas.	Caso-controle, 30 pacientes TDM não suicidas, 30 pacientes TDM suicidas e 30 indivíduos controle saudáveis (todos livres de fármacos). A Expressão do BDNF RNAm foi medido utilizando PCR em tempo real quantitativa.	Expressão BDNF RNAm foi significativamente reduzida em PBMC de pacientes com TDM com ou sem história de tentativa de suicídio. Além disso, a expressão do BDNF RNAm foi significativamente reduzida quando comparada com o TDM sem tentativa.	Esta alteração da expressão do RNAm BDNF foi notável em tentativas de suicido recentes (nas primeiras 24 horas).
MARTINEZ, 2012. Depress Anxiety. 2012; 29 (1): 32-8.	Comparar os níveis de três citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6, fator necrose tumoral alfa) e dois neuropeptídeos (BDNF, neuropeptídeo Y no fluido cérebro espinhal (FCE) de pacientes TDM e indivíduos controle saudáveis.	Caso-controle, 18 pacientes com TDM e 25 indivíduos controle saudáveis. Punção lombar +8 semanas de tratamento e nova punção lombar.	Dentro dos pacientes TDM houve correlação estatística significativa entre níveis elevados de citocinas no FCE e gravidade clínica.	Contrariamente a previsão, verificou-se que no início do estudo pacientes TDM tiveram maior concentração de NPY no FCE em comparação com o grupo controle.
BANERJEE, 2013. Clin Med Insights Pathol. 2013; 6:1-11.	Verificar se os níveis de BDNF ou trkB, bem como NGF ou trkA foi alterada no hipocampo do cérebro pós-morte de suicidas e se as alterações estavam associadas com psicopatologias específicas.	Caso-controle, 21 vítimas de suicídio e 19 indivíduos controle saudáveis. Ensaio imunossorvente ligado à enzima-sanduiche Western blot e transcrição reversa PCR.	Houve redução na expressão de BDNF, trkB, NGF e trkA nos níveis de ambas proteínas de RNAm no cérebro pós-morte das vítimas de suicídio.	

Autor, Ano, Revista.	Objetivo	Método (Delineamento, Amostra, Instrumento).	Principais resultados	Comentários e Observações
GRAH, 2014. <u>Acta Neuropsychiatr.</u> 2014; (6):356-63.	Examinar a associação entre níveis séricos de BDNF como um possível indicador periférico de comportamento suicida em indivíduos que sofrem de depressão, transtorno de personalidade (PDS), e transtorno de ajustamento (ADS) com ou sem tentativa de suicídio.	Caso-controle, 172 indivíduos com transtorno depressivo recorrente, emocionalmente instável e transtorno de ajustamento com ou sem tentativa de suicídio e 60 indivíduos controle saudáveis, ensaio imunoabsorvente ligado à enzima,	Sujeitos DP e AD com tentativas de suicídio apresentaram níveis séricos de BDNF significativamente mais baixos do que aqueles se tentativa de suicido.	No grupo dos pacientes, 73% dos indivíduos tomaram alguma forma de psicofarmacoterapia. A análise de regressão logística indicou que os níveis de BDNF e psicofarmacoterapia estão estatisticamente correlacionadas com tentativas de suicídio.

6 MÉTODO

6.1 DELINEAMENTO

Trata-se de um estudo transversal pareado, aninhado a um estudo transversal de base populacional intitulado “Estudo de temperamento e transtornos psiquiátricos na interface entre psiquiatria, psicologia e neurociências”.

6.2 AMOSTRA

O estudo envolverá 2348 adultos jovens de 18 a 35 anos, residentes na zona urbana de Pelotas-RS, iniciado em junho de 2011. A seleção amostral foi realizada por conglomerados em múltiplos estágios, para tal, 86 setores censitários foram sorteados sistematicamente e os domicílios entre os setores foram identificados com um pulo sistemático de cinco casas. Após a identificação dos sujeitos dentre os domicílios sorteados, os mesmos foram convidados a participar do estudo.

A partir da entrevista diagnóstica serão selecionados todos os indivíduos com tentativa de suicídio e respectivo transtorno. A partir destes outros dois grupos serão pareados por sexo e idade. Um grupo com transtorno sem tentativa de suicídio e grupo de controle composto por indivíduos sem história de transtorno psicológico ou tentativa de suicídio.

O cálculo do tamanho amostral realizado com o objetivo de determinar o tamanho mínimo necessário para que seja detectada uma diferença entre os grupos foi realizado pelo programa Epi-info, utilizando um intervalo de confiança de 95% e tomando como base a prevalência da tentativa de suicídio de 4,2, estimando uma amostra de 30 indivíduos em cada grupo. Porém será analisado todos os indivíduos incluídos neste estudo.

6.3 COLETA DE DADOS

A coleta de dados será composta por um questionário autoaplicável com questões sociodemográficas.

Para avaliação dos transtornos mentais e tentativa de suicídio os sujeitos serão avaliados por uma entrevista diagnóstica – *Mini International Neuropsychiatric Interview* (M.I.N.I.) (Sheeham et al., 1998)³³ – estruturada de acordo com os critérios do DSM-IV e CID-10.

6.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

6.5 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Após a entrevista diagnóstica, os indivíduos serão convidados a realizar uma coleta de sangue, a qual será coletada 10 mililitros de sangue, através de uma punção venosa na fossa cubital, em um tubo *vacuntainer* sem anticoagulante. Após a coleta, o sangue total será imediatamente centrifugado a 4.000 x g por 10 minutos, e o soro resultante será armazenado à -80°C para posterior dosagem.

Para mensurar os níveis séricos de BDNF, será utilizado kits comerciais (DuoSet ELISA Development, R&D Systems, Inc., USA) pela técnica de Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Os níveis de BDNF serão expressos em pg/mL. A leitura das absorbâncias com um comprimento de onda de 450 nm será realizada em um leitor de microplacas Spectramax 190 (Molecular Devices, EUA).

6.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas serão realizadas nos programas GraphPad Prism 6.0 e SPSS21.0, ambos para Windows.

Os níveis séricos de BDNF poderão não apresentar uma distribuição gaussiana, sendo assim, antes das análises serão logaritmicamente transformados. Para verificar a consistência entre os grupos, serão utilizados os testes de Qui-quadrado e a análise de variância (ANOVA). A comparação entre os níveis de BDNF com o grupo de indivíduos com tentativa de suicídio e grupo controle será feita por teste ANOVA, com post-hoc através do teste Bonferroni.

Para controlar possíveis fatores de confusão será utilizado um modelo ajustado de análise por regressão linear, para tal, associações com $p < 0,2$ na análise bruta serão incluídas. Os resultados com valores de $p \leq 0,05$ serão considerados estatisticamente significativos.

6.7 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os indivíduos que aceitarem participar desde estudo assinarão a um termo de consentimento livre e esclarecido e quando diagnosticados qualquer transtorno, serão encaminhados para tratamento médico.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Católica de Pelotas sob o protocolo de Número 2010/15.

7 CRONOGRAMA

Atividade	1º Semestre 2015	2º Semestre 2015	3º Semestre 2016	4º Semestre 2016
Revisão Bibliográfica				
Elaboração do Projeto				
Coleta de dados				
Análise Bioquímica				
Análise dos dados				
Elaboração da dissertação				
Apresentação da dissertação				

8 ORÇAMENTO

Despesas	Quantidade	Valor unitário	Valor Total
Kit para dosagem de BDNF humano	01	4.500,00	4.500,00
Material de coleta de amostras e análises bioquímicas (microtubos, ponteiros e microplacas)	--	1.000,00	1.000,00
Reagentes de grau analítico	--	1.000,00	1.000,00
Total			6.500,00

*Fonte Financiadora: CNPQ

9. REFERÊNCIAS

- 1 Meleiro AMAS. 50 Frequently Asked Questions: Suicídio Ed. São Paulo: EPM – Editora de Projetos Médicos , 2013.
- 2 Carasevici B. Dilemmas in the attitude towards suicide. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2016 Jan-Mar; 120(1):152-7
- 3 Bertolote JM, Fleischmann A, De Leo D, Bolhari J, Botega N, De Silva D, Tran Thi Thanh H, Phillips M, Schlebusch L, Värnik A, Vijayakumar L, Wasserman. Suicide attempts, plans, and ideation in culturally diverse sites: the WHO SUPRE-MISS community survey. *Psychol Med*. 2005 Oct; 35(10):1457-65.
- 4 Mello-Santos Cd, Bertolote JM, Wang YP. Epidemiology of suicide in Brazil (1980-2000): characterization of age and gender rates of suicide. *Reducing Suicide: A National Imperative*. *Rev Bras Psiquiatr*. 2005 Jun;27(2):131-4. Epub 2005 Jun 13.
- 5 Goldsmith SK, Pellmar TC, Kleinman AM, Bunney WE (editors). Institute of Medicine (US) Committee on Pathophysiology and Prevention of Adolescent and Adult Suicide; Washington (DC): National Academies Press (US); 2002.
- 6 Conwell Y, Duberstein PR, Cox C, Herrmann JH, Forbes NT, Caine ED. Relationships of age and axis I diagnoses in victims of completed suicide: a psychological autopsy study. *Am J Psychiatry*. 1996 Aug;153(8):1001-8.
- 7 Harris EC, Barraclough B. Suicide as an outcome for mental disorders. A meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 1997 Mar;170:205-28.
- 8 Chen YY, Lu TH. Suicide prevention is not just about treating depression. *Inj Prev*. 2006 Jun;12(3):208.
- 9 Bersani G, Iannitelli A, Fiore M, Angelucci F, Aloe L. Data and hypotheses on the role of nerve growth factor and other neurotrophins in psychiatric disorders. *Med Hypotheses*. 2000 Sep;55(3):199-207.
- 10 Bersani G, Iannitelli A, Fiore M, Angelucci F, Aloe L. Data and hypotheses on the role of nerve growth factor and other neurotrophins in psychiatric disorders. *Med Hypotheses*. 2000 Sep;55(3):199-207.
- 11 Silverman MN et al. Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol*; 18(1):41-78, 2005.
- 12 Dunn AJ, Swiergiela AH, Beaurepaire R. Cytokines as mediators of depression: What can we learn from animal studies? *Review Neuroscience & Biobehavioral Reviews* Volume 29, Issues 4–5, 2005, Pages 891–909 *Animal Models of Depression and Antidepressant Activity*.

- 13 Sher L. Brain-derived neurotrophic factor and suicidal behavior. *QJM*. 2011 May;104(5):455-8. doi: 10.1093/qjmed/hcq207. Epub 2010 Nov 4.
- 14 OMS. Organização Mundial de Saúde. Prevenção do suicídio. Um recurso para conselheiros. Departamento de Saúde Mental e de Abuso de Substâncias. Gestão de Perturbações Mentais e Doenças do Sistema Nervoso. Genebra, 2006.
- 15 Sarchiapone M, Carli V, Roy A, Iacoviello L, Cuomo C, Latella MC, di Giannantonio M, Janiri L, de Gaetano M, Janal MN. Association of polymorphism (Val66Met) of brain-derived neurotrophic factor with suicide attempts in depressed patients. *Neuropsychobiology*. 2008; 57(3):139-45. doi: 10.1159/000142361. Epub 2008 Jul 7.
- 16 Perroud N, Courtet P, Vincze I, Jausse J, Jollant F, Bellivier F, Leboyer M, Baud P, Buresi C, Malafosse A. Interaction between BDNF Val66Met and childhood trauma on adult's violent suicide attempt. *Genes Brain Behav*. 2008 Apr;7(3):314-22. Epub 2007 Sep 18.
- 17 De Luca V, Souza RP, Zai CC, Panariello F, Javaid N, Strauss J, Kennedy JL, Tallerico T, Wong AH. Parent of origin effect and differential allelic expression of BDNF Val66Met in suicidal behaviour. *World J Biol Psychiatry*. 2011 Feb; 12(1):42-7. doi: 10.3109/15622975.2010.506928. Epub 2010 Aug 23.
- 18 Neves FS, Malloy-Diniz L, Romano-Silva MA, Campos SB, Miranda DM, De Marco L, Figueira PG, Krebs MO, Correa H. The role of BDNF genetic polymorphisms in bipolar disorder with psychiatric comorbidities. *J Affect Disord*. 2011 Jun;131(1-3):307-11. doi: 10.1016/j.jad.2010.11.022. Epub 2010 Dec 16.
- 19 Kohli MA, Salyakina D, Pfennig A, Lucae S, Horstmann S, Menke A, Kloiber S, Hennings J, Bradley BB, Ressler KJ, Uhr M, Müller-Myhsok B, Holsboer F, Binder EB. Association of genetic variants in the neurotrophic receptor-encoding gene NTRK2 and a lifetime history of suicide attempts in depressed patients. *Arch Gen Psychiatry*. 2010 Apr; 67(4):348-59. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.201. Epub 2010 Feb 1.
- 20 Ratta-Apha W, Hishimoto A, Yoshida M, Ueno Y, Asano M, Shirakawa O, Sora I. Association study of BDNF with completed suicide in the Japanese population. *Psychiatry Res*. 2013 Oct 30;209(3):734-6. doi: 10.1016/j.psychres.2013.05.030. Epub 2013 Jul 11.
- 21 Kang HJ, Kim JM, Lee JY, Kim SY, Bae KY, Kim SW, Shin IS, Kim HR, Shin MG, Yoon JS. BDNF promoter methylation and suicidal behavior in depressive patients. *J Affect Disord*. 2013 Nov; 151(2):679-85. doi: 10.1016/j.jad.2013.08.001. Epub 2013 Aug 13.

- 22 Kim YK, Lee HP, Won SD, Park EY, Lee HY, Lee BH, Lee SW, Yoon D, Han C, Kim DJ, Choi SH. Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007 Jan 30;31(1):78-85. Epub 2006 Aug 10.
- 23 Deveci A, Aydemir O, Taskin O, Taneli F, Esen-Danaci A. Serum BDNF levels in suicide attempters related to psychosocial stressors: a comparative study with depression. *Neuropsychobiology*. 2007;56(2-3):93-7. Epub 2007 Nov 23.
- 24 Lee BH, Kim YK. BDNF mRNA expression of peripheral blood mononuclear cells was decreased in depressive patients who had or had not recently attempted suicide. *J Affect Disord*. 2010 Sep;125(1-3):369-73. doi: 10.1016/j.jad.2010.01.074. Epub 2010 Mar 7.
- 25 Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Aug;60(8):804-15.
- 26 Banerjee R, Ghosh AK, Ghosh B, Bhattacharyya S, Mondal AC. Decreased mRNA and Protein Expression of BDNF, NGF, and their Receptors in the Hippocampus from Suicide: An Analysis in Human Postmortem Brain. *Clin Med Insights Pathol*. 2013 Aug 26;6:1-11. doi: 10.4137/CMPath.S12530. eCollection 2013.
- 27 Grah M, Mihanovic M, Ruljancic N, Restek-Petrovic B, Molnar S, Jelavic S. Brain-derived neurotrophic factor as a suicide factor in mental disorders. *Acta Neuropsychiatr*. 2014 Dec; 26(6):356-63. doi: 10.1017/neu.2014.27. Epub 2014 Oct 13.
- 28 Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biol Psychiatry*. 2005 May 1;57(9):1068-72.
- 29 Karege F, Vaudan G, Schwald M, Perroud N, La Harpe R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res Mol Brain Res*. 2005 May 20;136(1-2):29-37. Epub 2005 Mar 5.
- 30 Lee BH, Kim YK. Reduced platelet BDNF level in patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009 Aug 1;33(5):849-53. doi: 10.1016/j.pnpbp.2009.04.002. Epub 2009 Apr 14.
- 31 Martinez JM, Garakani A, Yehuda R, Gorman JM. Proinflammatory and "resiliency" proteins in the CSF of patients with major depression. *Depress Anxiety*. 2012 Jan;29(1):32-8. doi: 10.1002/da.20876. Epub 2011 Sep 2.
- 32 Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, Hergueta T, Baker R, Dunbar GC. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.):

the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatry*. 1998;59 Suppl 20:22-33;quiz 34-57.

ARTIGO

BDNF SERUM LEVELS IN SUICIDAL ATTEMPT SAMPLE FROM POPULATION BASED SAMPLE

Abstract

Suicide is a complex phenomenon and a serious public health problem, and about 900,000 people in the world deliberately cause it to die and is a third major cause of death between the ages of 15 and 45. The main risk factor for suicide is a condition of mental illness, estimated that 90% of suicides are crimes with some type of psychiatric disorder. Recently, studies have revealed that neuronal levels BDNF which is being associated with suicidal behavior. Thus, the objective of this study is to evaluate the serum levels of BDNF in subjects with no suicide attempt in a population-based sample, comparing with healthy individuals. This is a paired cross-sectional study nested in a population-based study. Individuals were rated for MDD and SA by a diagnostic Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I). The total population of the sample was comprised of 141 subjects distributed in three groups: 47 healthy controls, 47 subjects with current depressive episode without SR (MDD) and 47 subjects with current depressive episode and with SA (MDD + SA). In this study, it was possible to observe a significant decrease in BDNF serum levels in individuals with MDD and MDD+SA when compared with healthy controls. Moreover, it was not possible to observe significant differences between individuals with depression and depression plus suicide attempt. However, the suicide attempt did not interfere with BDNF serum levels, indicating that this neurotrophin may be related to the diagnosis of MDD and not with symptoms severity.

Keywords: BDNF, Suicide attempt, Depression, Biomarker

Introduction

Suicide is a complex phenomenon and a serious public health problem, and about 900,000 people in the world deliberately cause it to die, where the most affected age group is between the ages of 15 and 45, and is a third major cause of death in this age.¹ Suicide attempt is defined as a non-fatal auto aggression act of wide variety and may result in sequelae of varying magnitudes.² Prevalence rates of life-long suicide attempts range from 0.4% to 4.2%, and it is estimated that for each suicide case there are at least ten attempts of sufficient severity to require medical care and that behavioral behaviors up to 40 times more frequent than consumed suicides³, considering that for each documented attempt there are four others that were not recorded.⁴ The main risk factor for suicide is a condition of mental illness, estimated that 90% of suicides are crimes with some type of psychiatric disorder.^{5,6} Despite a presence of mental disorders, a major risk factor, suicide is a multifaceted multifactor complex, as a biological analysis, as well as psychosocial resources, genetic and environmental can play an important role.⁷

The etiology of suicide is certainly complex, with several factors contributing to the predisposition to this event, many theories have been proposed to try to explain the biological basis of suicide. Recently, studies have revealed that neuronal levels of neurotrophins, such as the BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) which is a major neurotrophic maintenance factor in the maintenance and survival of neurons and in synaptic plasticity is being associated with suicidal behavior.⁸ Suicidal behavior involves altered neural plasticity in its pathogenesis, resulting in an abnormal CNS response to stressors and environmental outcomes.⁹ As neurotrophins involved in synaptic regulation, morphological plasticity, and modulation of strength and number synapses and neurotransmission. In the CNS the neurotrophins are responsible for neuroendocrine and neuronal activation, regulate the growth and proliferation of glial cells, modulate the activity of endogenous opioid peptides and activate the HPA axis, exerting effects on corticotrophin releasing hormone-producing neurons and can act on cells endothelial cells of the cerebral vasculature or in the glial cells in the circumventricular organs¹⁰. In addition, neurotrophins can also affect the metabolism of noradrenergic, serotonergic and dopaminergic systems.¹¹ BDNF is decreased in patients with cognitive suicide independent of psychiatric diagnosis.¹² Thus, BDNF could be a biomarker of great importance in suicide diagnosis and risk.

Therefore, further studies and research are needed regarding the neurobiology of suicide in order to help identify biomarkers and appropriate pharmacological agents, which helps in early detection as well as effective and efficient treatments to reduce mortality. In this

context, a search for neurochemical markers for suicide becomes important. The use of markers for suicide may be a relevant tool to assist in the diagnosis of this disorder. Thus, the objective of this study is to evaluate the serum levels of BDNF in subjects with no suicide attempt in a population-based sample, comparing with healthy individuals.

Methods

Subjects

This is a paired cross-sectional study nested in a population-based study of people aged 18- 35 years. The sample consisted of 1380 participants living in the city of Pelotas, (Brazil), in the period from June 2011 to October 2012. After the subjects were identified and invited, the volunteers signed a term of free and informed consent and responded to a questionnaire which collected sociodemographic data, drug misuse and The National Economic Indicator – IEN (Barros and Victora, 2005). This study was approved by the university's Ethics Committee (2010/15).

Current MDD diagnosis and suicide attempt were both measured by the Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I). This is a short structured interview, lasting around 15-30 minutes, designed to be used in clinical practice and research with the goal of diagnosing the interviewee according to DSM-IV criteria. Individuals who were taking a psychoactive substance, or in use of psychopharmacological drugs, or who presented any anxiety/psychotic disorder or those who were unable to understand or answer the questions were excluded from the study. After the diagnostic interview, all individuals with current depressive episode and SA history or other disorders were selected for the MDD+SA group. Additionally, the groups of control subjects matched by gender and age were recruited. The active control group (MDD) included individuals with current depression but no past history of SA. We also included a control group of healthy individuals without history of mental illness.

Blood sample collection and BDNF assessment

For the biochemical analyses, 10mL of blood was withdrawn from each subject by venipuncture, into an anticoagulant-free vacuum tube, after the interview, between the hours of 8:00 AM and 11:00 AM. The blood was immediately centrifuged at 4,000 x g for 10 minutes, and the resulting serum was kept frozen at -80 oC until analysis. BDNF serum levels were measured with a sandwich-ELISA using an available immunoassay kit according to the

manufacturer's instructions (DuoSet ELISA Development, R&D Systems, Inc., USA) and expressed in ng/mL.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed in the Graph Pad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA) and IBM SPSS Statistic 21.0 (IBM Corporation, New York, USA) software for Windows. Sociodemographic and BDNF serum levels are shown by absolute and relative frequencies or by means and standard deviations. To verify consistency between groups, the chi-square test and analysis of variance (ANOVA) were used. The comparison between the levels of BDNF in the group of individuals with MDD, MDD+SA and healthy controls was performed by ANOVA with post-hoc Bonferroni. To control for possible confounding variables, we included in the linear regression adjusted analysis the variables that presented associations with $p \leq 0.20$ in the raw analysis. Results with $p \leq 0.05$ were considered statistically significant.

Results:

The total population sample was comprised of 147 individuals: 49 with MDD, 49 with MDD+AS and 49 healthy controls. Each group was composed of 41 (33.3%) women and 8 (33.3%) men, with a mean age of 27.59 ± 5.14 years. Homogeneous samples showed no differences regarding gender ($p=1.00$), ethnicity ($p=0.382$) and age ($p=0.949$). Regarding socioeconomic index ($p \leq 0.001$), age of scholar ($p=0.001$), tobacco use ($p \leq 0.001$) alcohol abuse ($p=0.050$), and Psychiatric Medication ($p=0.001$) we found difference statistical in relation to different groups. BDNF serum levels were significantly reduced in the MDD (9.81 ± 0.91 ng/mL) and MDD+AS (13.83 ± 2.50 ng/mL) groups, when compared to healthy controls (28.78 ± 3.68 ng/mL; $p < 0.001$) (Table 1).

Figure 1 shows serum levels of BDNF regarding MDD, MDD+AS and healthy control groups. The post-hoc Bonferroni multiple comparison test revealed a significant difference between MDD and healthy control ($p < 0.001$), as well as MDD+AS and healthy control ($p < 0.001$). However, we found no difference between MDD and MDD+AS regarding BDNF serum levels ($p=0.836$).

After all adjustments for demographic variables (ethnicity and age of scholar) and lifestyle habits (abuse/dependence alcohol, abuse/dependence on tobacco and medication), these differences remained statistically significant ($p=0.010$; $B=-0.274$; $CI: -11.70, -1,65$).

Discussion

In this study, it was possible to observe a significant decrease in BDNF serum levels in individuals with MDD and MDD+SA when compared with healthy controls. Moreover, it was not possible to observe significant differences between individuals with depression and depression plus suicide attempt. It is important to highlight that our sample consisted of young and non-medicated subjects experiencing the early stages of these illnesses and also that the sociodemographic variables analysed here were not associated with changes in BDNF levels in our population.

Over the past 45 years, overall suicide mortality has been migrating from the older to the younger. In 2002, approximately 1.4% of the disease burden was related to suicide, and is estimated to reach 2.4% by 2020.¹ Current research indicates that studies of the neurobiology of suicidal behavior have become an important and integral part of psychiatric research. Over the past few years, studies on the role of BDNF in the pathophysiology of suicide have attracted a significant interest from researchers. Several lines of evidence including studies of BDNF levels in blood and plasma cells of patients with suicidal tendencies, postmortem brain studies of suicidal patients with or without depression, and genetic association studies linking BDNF to suicide suggest that suicidal behavior may be associated with a decrease in the functioning of BDNF.¹²

Studies conducted by Deveci and Karege labs analyzed whether there was difference in plasma levels of BDNF in depressive and suicidal patients, depressive patients without attempted suicide and control group composed of healthy individuals. In both studies, BDNF levels were significantly lower in suicide patients with major depressive disorder.^{13, 14} In the other study¹⁵, blood BDNF levels and the platelet activation index in depressive individuals were evaluated. Serum and plasma levels of BDNF were decreased in depressed patients compared to the control group. Serum / blood BDNF ratio was lower in patients with major depression, but serum platelet factor (FP4) levels showed no difference in depressed individuals compared to control group, suggesting that BDNF change is probably related to mechanisms of BDNF release, since its secretion appears to be independent of platelet reactivity. Grah (2014) conducted a study to examine the association between serum BDNF levels as a possible peripheral indicator of suicidal behavior independent of the mental disorders that patients present compared to the healthy control group.¹⁶ In this study, 73% Of patients took some form of psychopharmaceuticals. Subjects with personality disorder and adjustment disorder with attempted suicide had significantly lower serum BDNF levels than those without attempted suicide. However, those with a disorder but using

psychopharmaceuticals had higher serum BDNF levels. Through logistic regression it was indicated that serum levels of BDNF and psychopharmacology are statistically correlated with suicide attempts independent of mental disorders. However, in our study, patients with MDD and MDD+SA had reduced levels of BDNF when compared with healthy controls, demonstrating possible involvement of this neurotrophin in the pathophysiology of depression, but not demonstrating a specific involvement in suicide. More importantly, in our study, individuals are at an early stage of the disease and do not make use of psychotherapeutic medication that could alter the measured BDNF serum levels.

There is increasing evidence that brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as well as nerve growth factor (NGF) are involved in the pathophysiology and treatment of depression through the binding and activation of its cognate receptors TrkB and TrkA respectively. One study examined the role of these neurotrophins and receptors in the postmortem brain hippocampus of patients who committed suicide and whether these changes were associated with specific psychopathologies. The authors observed a reduction in the expression of BDNF, TrkB, NGF and TrkA in the levels of both postmortem brain proteins and mRNA of suicide victims, suggesting that these molecules play an important role in the pathophysiology of suicidal behavior.¹⁷ Subsequently DWIVEDI¹⁸ conducted a study to examine whether the expression of BDNF and trK B Isoform were altered in the postmortem brain of suicide patients and whether changes were associated with specific psychopathological conditions. BDNF and trK B messenger RNA levels were significantly reduced, but these reductions were associated with BDNF and full-length B protein levels, but not with trk B isoform. These changes were present in all suicidal individuals regardless of diagnosis And were not related to the postmortem interval, age, sex or pH of the brain.¹⁹ Karege conducted two studies in 2005, one of the studies was to examine whether there was anomaly in BDNF and Neurotrophin-3 (NT-3) in suicide victims.¹⁸ The results indicated a significant decrease in BDNF and NT-3 levels in the hippocampus And ventral prefrontal cortex (BDNF only), but not in the entorhinal cortex of non-drug suicides compared to non-suicidal controls. The reduction was observed in all patients independent of the diagnosis.

This study has an advantage that distinguishes it from other studies in this area. Our sample of 147 participants was larger than most of the previous studies, some of which included only 43 participants in total. Our limitation, however, is the inclusion of individuals with attempted suicides in the past. Other studies that included participants with a history of suicide attempts, BDNF measurements may represent BDNF levels near the time of the attempt (within the first 24 hours)²⁰. A better clinical characterization could clarify the

relationship between stressors and peripheral biomarkers in the pathophysiology of MDD. However, the suicide attempt did not interfere with BDNF serum levels, indicating that this neurotrophin may be related to the diagnosis of MDD and not with symptoms severity. Although there is evidence that BDNF levels are related to various psychiatric disorders, it is not yet known whether the relationship between BDNF and suicidal attempt depends on the presence of an underlying psychiatric disorder ^{5, 6}. The understanding of the physiological changes related to mood disorders can provide a better understanding of the genesis and mechanisms involved in the progression of these conditions. The identification of peripheral biomarkers capable of helping in the diagnosis or in monitoring the progression of the condition and treatment remain a goal in the field (Wiener et al., 2013).

References

- 1 OMS. Organização Mundial de Saúde. Prevenção do suicídio. Um recurso para conselheiros. Departamento de Saúde Mental e de Abuso de Substâncias. Gestão de Perturbações Mentais e Doenças do Sistema Nervoso. Genebra, 2006.
- 2 Bertolote JM, Fleischmann A, De Leo D, Bolhari J, Botega N, De Silva D, Tran Thi Thanh H, Phillips M, Schlebusch L, Värnik A, Vijayakumar L, Wasserman. Suicide attempts, plans, and ideation in culturally diverse sites: the WHO SUPRE-MISS community survey. *Psychol Med.* 2005 Oct; 35(10):1457-65.
- 3 Mello-Santos Cd, Bertolote JM, Wang YP. Epidemiology of suicide in Brazil (1980-2000): characterization of age and gender rates of suicide. *Reducing Suicide: A National Imperative. Rev Bras Psiquiatr.* 2005 Jun;27(2):131-4. Epub 2005 Jun 13.
- 4 Meleiro AMAS. 50 Frequently Asked Questions: Suicídio Ed. São Paulo: EPM – Editora de Projetos Médicos , 2013.
- 5 Conwell Y, Duberstein PR, Cox C, Herrmann JH, Forbes NT, Caine ED. Relationships of age and axis I diagnoses in victims of completed suicide: a psychological autopsy study. *Am J Psychiatry.* 1996 Aug;153(8):1001-8.
- 6 Harris EC, Barraclough B. Suicide as an outcome for mental disorders. A meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 1997 Mar;170:205-28.
- 7 Chen YY, Lu TH. Suicide prevention is not just about treating depression. *Inj Prev.* 2006 Jun;12(3):208.
- 8 Bersani G, Iannitelli A, Fiore M, Angelucci F, Aloe L. Data and hypotheses on the role of nerve growth factor and other neurotrophins in psychiatric disorders. *Med Hypotheses.* 2000 Sep;55(3):199-207.
- 9 Bersani G, Iannitelli A, Fiore M, Angelucci F, Aloe L. Data and hypotheses on the role of nerve growth factor and other neurotrophins in psychiatric disorders. *Med Hypotheses.* 2000 Sep;55(3):199-207.
- 10 Silverman MN et al. Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol;* 18(1):41-78, 2005.
- 11 Dunn AJ, Swiergiela AH, Beaupaire R. Cytokines as mediators of depression: What can we learn from animal studies? *Review Neuroscience & Biobehavioral Reviews Volume 29, Issues 4–5, 2005, Pages 891–909 Animal Models of Depression and Antidepressant Activity.*

- 12 Sher L. Brain-derived neurotrophic factor and suicidal behavior. *QJM*. 2011 May;104(5):455-8. doi: 10.1093/qjmed/hcq207. Epub 2010 Nov 4.
- 13 Kim YK, Lee HP, Won SD, Park EY, Lee HY, Lee BH, Lee SW, Yoon D, Han C, Kim DJ, Choi SH. Low plasma BDNF is associated with suicidal behavior in major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007 Jan 30;31(1):78-85. Epub 2006 Aug 10.
- 14 Deveci A, Aydemir O, Taskin O, Taneli F, Esen-Danaci A. Serum BDNF levels in suicide attempters related to psychosocial stressors: a comparative study with depression. *Neuropsychobiology*. 2007;56(2-3):93-7. Epub 2007 Nov 23.
- 15 Karege F, Vaudan G, Schwald M, Perroud N, La Harpe R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res Mol Brain Res*. 2005 May 20;136(1-2):29-37. Epub 2005 Mar 5.
- 16 Grah M, Mihanovic M, Ruljancic N, Restek-Petrovic B, Molnar S, Jelavic S. Brain-derived neurotrophic factor as a suicide factor in mental disorders. *Acta Neuropsychiatr*. 2014 Dec; 26(6):356-63. doi: 10.1017/neu.2014.27. Epub 2014 Oct 13.
- 17 Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry*. 2003 Aug;60(8):804-15.
- 18 Karege F, Bondolfi G, Gervasoni N, Schwald M, Aubry JM, Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity. *Biol Psychiatry*. 2005 May 1;57(9):1068-72.
- 19 Banerjee R, Ghosh AK, Ghosh B, Bhattacharyya S, Mondal AC. Decreased mRNA and Protein Expression of BDNF, NGF, and their Receptors in the Hippocampus from Suicide: An Analysis in Human Postmortem Brain. *Clin Med Insights Pathol*. 2013 Aug 26;6:1-11. doi: 10.4137/CMPath.S12530. eCollection 2013.
- 20 Lee BH, Kim YK. BDNF mRNA expression of peripheral blood mononuclear cells was decreased in depressive patients who had or had not recently attempted suicide. *J Affect Disord*. 2010 Sep;125(1-3):369-73. doi: 10.1016/j.jad.2010.01.074. Epub 2010 Mar 7.

Table and Figures

Table 1: Socio-demographic characteristics of the sample according to the diagnostic.

	Sample distribution	Control	MDD	MDD+AS	<i>p</i> value
Gender					1.000
Female	123 (83.7)	41 (33.3)	41 (33.3)	41 (33.3)	
Male	24 (16.3)	8 (33.3)	8 (33.3)	8 (33.3)	
Ethnicity					0.382
No-caucasian	39 (26.5)	10 (25.0)	14 (35.0)	16 (40.0)	
Caucasian	108 (73.5)	39 (36.4)	35 (32.7)	33 (30.8)	
Age (years)	27.59 ± 5.14	27.45 ± 5.28	27.78 ± 5.11	27.53 ± 5.14	0.949
Age of scholar	10.03 ± 3.89	11.45 ± 3.93	10.04 ± 3.17	8.61 ± 4.05	0.001
Brazilian Economic index					≤ 0.001
1(minor)	49 (33.3)	7 (14.3)	17 (34.7)	25 (51.0)	
2 (middle)	49 (33.3)	15 (30.6)	16 (32.7)	18 (36.7)	
3 (highest)	49 (33.3)	27 (55.1)	16 (32.7)	6 (12.2)	
Tobacco use					≤ 0.001
Yes	47 (32.0)	6 (12.4)	12 (24.5)	31 (63.3)	
No	100 (68.0)	43 (43.9)	37 (37.8)	18 (18.4)	
Alcohol abuse					0.050
CAGE < 2	134 (91.2)	49 (36.1)	43 (32.3)	42 (31.6)	
CAGE ≥ 2	13 (8.8)	0 (0.0)	6 (46.2)	7 (53.8)	
Psychiatric Medication					0.001
Yes	18 (12.2)	0 (0.0)	6 (33.3)	12 (66.7)	
No	129 (87.8)	49 (38.0)	43 (33.3)	37 (28.7)	
BDNF levels (ng/mL)	17.47 ± 19.98	28.78 ± 3.68	9.81 ± 0.91	13.83 ± 2.50	<0.001
Total	147	49	49	49	

Represent by N(%)/ Mean ± Standard deviation. MDD: Major depressive disorder; MDD+AS: Major depressive disorder with attempt suicide.

Figure

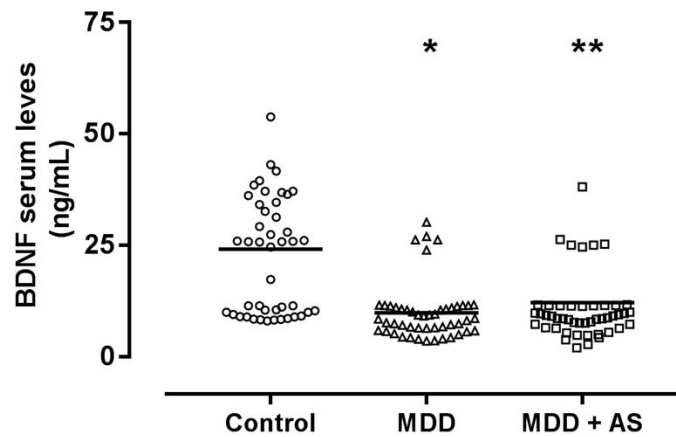


Fig 1. BDNF serum levels in healthy controls, MDD and MDD+AS individuals. BDNF serum levels were decreased in the MDD group (9.81 ± 0.91 ng/mL) and MDD+AS group (13.83 ± 2.50 ng/mL) when compared with healthy control individuals (28.78 ± 3.68 ng/mL; $p < 0.001$). The bar represents the mean. *Healthy controls versus MDD ($p < 0.001$); **Healthy controls versus MDD+AS ($p < 0.001$) (post-hoc Bonferroni test). MDD: major depression disorder; MDD+AS: Major Depressive Disorder with attempt suicide.

Considerações Finais

Neste estudo, foi possível observar uma diminuição significativa nos níveis séricos de BDNF em indivíduos com MDD e MDD + SA quando comparados com controles saudáveis. Além disso, não foi possível observar diferenças significativas entre indivíduos com depressão e depressão mais tentativa de suicídio. É importante ressaltar que nossa amostra consistiu de sujeitos jovens e não medicados que vivenciaram os estágios iniciais dessas doenças e também que as variáveis sociodemográficas analisadas não estavam associadas a alterações nos níveis de BDNF em nossa população. Este estudo tem uma vantagem que o distingue de outros estudos nesta área. Nossa amostra de 147 participantes foi maior do que a maioria dos estudos anteriores, alguns dos quais incluíram apenas 43 participantes no total. Nossa limitação, no entanto, é a inclusão de indivíduos com tentativas de suicídio no passado. As medidas de BDNF podem representar níveis de BDNF próximos ao momento da tentativa (dentro das primeiras 24 horas) 20. Uma melhor caracterização clínica poderia esclarecer a relação entre estressores e biomarcadores periféricos na fisiopatologia da MDD. No entanto, a tentativa de suicídio não interferiu com os níveis séricos de BDNF, indicando que esta neurotrofina pode estar relacionada com o diagnóstico de MDD e não com sintomas de gravidade. Embora os níveis de BDNF estejam relacionados a vários transtornos psiquiátricos, ainda não se sabe se o BDNF ea tentativa de suicídio dependem da presença de um transtorno psiquiátrico subjacente 5, 6. A compreensão das mudanças fisiológicas relacionadas aos transtornos do humor Pode proporcionar uma melhor compreensão de A gênese e os mecanismos envolvidos na progressão dessas condições. A identificação de biomarcadores periféricos capazes de auxiliar no diagnóstico ou no monitoramento da progressão da condição e do tratamento continua sendo uma meta no campo (Wiener et al., 2013).

ANEXOS

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS – UCPEL

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“PESQUISA SOBRE TEMPERAMENTO E TRANSTORNOS PSÍQUICOS DE JOVENS ADULTOS DE 18 A 35 ANOS DA CIDADE DE PELOTAS”

Este estudo está sendo realizado com adultos de 18 a 35 anos, e pretende avaliar as relações do Temperamento/comportamento com as características psicológicas, psiquiátricas, sociais e neurobiológicas.

Iniciaremos as entrevistas em agosto de 2010 e pretendemos finalizá-las em 2012.

Se você aceitar fazer parte deste estudo, irá responder a um questionário que será aplicado por entrevistadores e precisará tirar uma amostra de sangue.

Os dados fornecidos por você durante a aplicação do questionário serão utilizados posteriormente para análise, produção de artigos científicos e relatórios (para a coordenação dos serviços de saúde e CNPq). Entretanto, a equipe envolvida na pesquisa garante que sua identidade permanecerá em sigilo, respeitando a sua privacidade. Esta pesquisa não apresenta risco a sua saúde, o único inconveniente que o participante pode ter é formar um pequeno hematoma (mancha roxa) no braço, em função da coleta do sangue.

Será coletado 15ml de sangue para que possamos dosar hormônios, que podem influenciar a presença de sintomas relacionados com o temperamento/comportamento dos participantes da pesquisa. Além disso, serão coletados 3 ml de saliva, por profissionais treinados. Posteriormente, as amostras de sangue e saliva serão examinadas para determinar variações bioquímicas e hormonais. Ao final desse trabalho, todos os dados que possam vincular seu nome serão inutilizados, para que os resultados possam eventualmente ser utilizados em pesquisas futuras sobre o mesmo assunto.

Este estudo pode trazer vários benefícios, ainda que em longo prazo, poderemos saber diferenciar variantes bioquímicas e hormonais que possam aumentar a predisposição a sintomas relacionados a comportamento e temperamento. Essas descobertas ajudarão o desenvolvimento do conhecimento científico, que poderá eventualmente beneficiar você ou outras famílias.

Os participantes que forem diagnosticados com algum transtorno psicológico/psiquiátrico serão encaminhados para o Ambulatório do Campus da Saúde da UCPel.

Sua participação é voluntária e você é livre para abandonar o estudo em qualquer momento, sem prejuízos ou danos.

Em caso de dúvidas sobre o estudo, maiores informações poderão ser obtidas com os pesquisadores e coordenadores do projeto: através dos números (53) 2128-8328 Laboratório do Mestrado; - (53) 81090937 (Jerônimo Branco); (53) 8122-8378 (Ricardo Silva); – (53) 9156-8075 (Jean Oses).

Declaração do Participante

Eu, _____, declaro que após tomar conhecimento destas informações, aceito participar da presente pesquisa. Além disso, declaro ter recebido uma cópia deste consentimento e que uma cópia assinada por mim será mantida pela equipe da pesquisa.

Participante: _____

Declaração de Entrevistador

Eu, _____, declaro ter explicado sobre a natureza deste estudo, assim como também me coloquei a disposição do(a) entrevistado(a) para esclarecer as suas dúvidas

ANEXOS



UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PELOTAS
PRÓ-REITORIA ACADÊMICA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/UCPel

RESULTADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Católica de Pelotas analisou o projeto:

Número: 2010/15

Título do projeto: *“Estudo do temperamento e transtornos psiquiátricos na interface entre psiquiatria, psicologia e neurociências”*

Investigador(a) principal: Ricardo Azevedo da Silva

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da UCPel, em reunião datada de 29 de julho de 2010, ata n.º 05.

A avaliação foi realizada pelos membros do comitê, baseada na análise minuciosa do projeto, apresentada por um dos membros.

Outrossim, informamos que é **obrigatório** a entrega do relatório de conclusão pela coordenação do referido projeto ao Comitê de Ética – CEP/UCPel, na Secretaria da Pró-Reitoria Acadêmica da Universidade Católica de Pelotas.

Pelotas, 30 de julho de 2010

Prof. Ricardo Tavares Pinheiro
Coordenador CEP/UCPel