



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU
DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO
EM MEDICINA**

LUÍS PEDRO FALCÃO GONÇALVES

***O GENE DRD3 NA ETIOLOGIA DO SUICÍDIO NA
POPULAÇÃO PORTUGUESA***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE GENÉTICA CLÍNICA E MOLECULAR

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSORA DOUTORA ALDA CARDOSO**

FEVEREIRO 2014



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**O GENE DRD3 NA ETIOLOGIA DO SUÍCIDIO NA
POPULAÇÃO PORTUGUESA**

Luís Falcão^{1,2}, Alda Cardoso^{1,2,3}

¹ Unidade de Genética Clínica e Molecular da Delegação do Centro do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, Portugal

² Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

³ IBILI, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

E-MAIL: falcao_luis@hotmail.com

Fevereiro 2014

Índice

Lista de Abreviaturas	3
Resumo	4
Abstract	6
1. Introdução	8
2. Materiais e Métodos	10
2.1. Seleção e recolha da amostra	10
2.2. Procedimento experimental	10
2.2.1. Extração de DNA genómico	10
2.2.2. Quantificação e avaliação da pureza do DNA	11
2.2.3. Reação em cadeia da polimerase	11
2.2.4. Digestão e eletroforese em gel de agarose	12
2.3. Análise estatística	12
3. Resultados e discussão	12
4. Conclusão	18
Agradecimentos	18
Referências Bibliográficas	20

Lista de Abreviaturas

A	Adenina
d.f.	Número de graus de liberdade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxinucleótidos
DO	Densidade óptica
DRD3	Receptor de dopamina D3
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
G	Guanina
Gly	Glicina
O.M.S.	Organização Mundial de Saúde
pb	Pares de bases
PCR	Reacção de Polimerase em Cadeia
Ser	Serina
Ser9Gly	Polimorfismo Serina-9-Glicina
TBE	Tris-Borato-EDTA
χ^2	Teste Qui-Quadrado

Resumo

O suicídio tem vindo a aumentar a sua incidência tornando-se numa causa *major* de morte em todo o mundo e num grave problema de saúde pública. Trata-se de um fenómeno complexo de etiologia multifatorial, onde os fatores genéticos assumem um papel importante. Dada a elevada incidência deste fenómeno e a problemática que traduz, torna-se crucial e desafiante a identificação dos diversos fatores que contribuem para a sua susceptibilidade e fisiopatologia de forma a futuramente poderem ser desenvolvidas estratégias preventivas e terapêuticas. Várias evidências sugerem que o sistema dopaminérgico, particularmente o gene do recetor de dopamina D3 poderá estar implicado na etiologia do suicídio. No entanto, até ao momento não foi realizado nenhum estudo a nível mundial abordando o gene *DRD3* e o suicídio. No contexto do presente trabalho investigou-se o papel do gene *DRD3* na etiologia do suicídio na população portuguesa e efetuou-se também uma análise de género e de método utilizado.

Os resultados do estudo do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* não revelam diferenças estatisticamente significativas para as distribuições genotípicas e alélicas quer para a amostra total (distribuições genotípicas: $\chi^2=1,371$; d.f.=2; p=0,504; distribuições alélicas: $\chi^2=0,106$; d.f.=1; p=0,745), quer para a amostra fragmentada por método [distribuições genotípicas (suicídio violento: $\chi^2=1,497$; d.f.=2; p=0,473; suicídio não violento: $\chi^2=1,626$; d.f.=2; p=0,444), distribuições alélicas (suicídio violento: $\chi^2=0,055$; d.f.=1; p=0,815; suicídio não violento: $\chi^2=1,294$; d.f.=1; p=0,255)], assim como na análise do género feminino (distribuições genotípicas $\chi^2=1,371$; d.f.=2; p=0,504; distribuições alélicas $\chi^2=0,106$; d.f.=1; p=0,745). Relativamente ao género masculino, os resultados revelam uma tendência de associação entre o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* e o suicídio para o genótipo

($\chi^2=5,713$; d.f.=2; $p=0,057$) não se verificando diferenças estatisticamente significativas na distribuição alélica ($\chi^2=0,395$; d.f.=1; $p=0,530$).

Os resultados obtidos revelam que o gene *DRD3* não tem um papel direto na etiologia do suicídio na amostra total, no género feminino e na análise por método do suicídio. No entanto, apesar de os resultados obtidos no género masculino carecerem de estudos adicionais, parecem sugerir uma possível associação, sendo necessário prolongar o estudo para esclarecer o papel do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na etiologia do suicídio no sexo masculino.

Palavras-Chave: Suicídio; Genética do Suicídio; Sistema Dopaminérgico; Gene *DRD3*; Estudos de associação

Abstract

Suicide has been increasing its incidence becoming a major cause of death worldwide and a serious public health problem. It is a complex phenomenon of multifactorial aetiology where genetics play an important role. Due to its high incidence and the set of problems this phenomenon carries, it has become crucial and challenging the identification of multiple factors that contribute to its susceptibility and physiopathology in a way that preventive and therapeutical strategies can be developed in the future. Several evidences suggest that dopaminergic system, in particular the D3 dopamine receptor gene, may be implied in suicidal aetiology. However, until now, no study in a global level has been developed approaching *DRD3* gene and suicide. In the context of the present work, the role of *DRD3* gene in the aetiology of suicide in the Portuguese population has been investigated, as well as an analysis by gender and used method.

The results of Ser9Gly polymorphism study have not shown statistically significant differences concerning genotypic and allelic distributions for both total sample (genotypic distributions $\chi^2=1,371$; d.f.=2; p=0,504, allelic distributions $\chi^2=0,106$; d.f.=1; p=0,745) and method fragmented sample [genotypic distribution (violent suicide: $\chi^2=1,497$; d.f.=2; p=0,473, non violent suicide: $\chi^2=1,626$; d.f.=2; p=0,444), allelic distribution (violent suicide: $\chi^2=0,055$; d.f.=1; p=0,815, non violent suicide: $\chi^2=1,294$; d.f.=1; p=0,255)], as well as for female gender analysis (genotypic distributions $\chi^2=1,371$; d.f.=2; p=0,504, allelic distributions $\chi^2=0,106$; d.f.=1; p=0,745). When referring to male gender, results have shown a tendency of association between *DRD3* gene's Ser9Gly polymorphism and suicide concerning genotype ($\chi^2=5,713$; d.f.=2; p=0,057) whereas for allelic distribution there is no statistically significant differences ($\chi^2=0,395$; d.f.=1; p=0,530).

Results have shown that *DRD3* gene has no direct role in the aetiology of suicide concerning total sample, female gender and method analysis. However, despite male gender results require future studies, there seems to be a possible association, needing an extension of the study in order to enlighten the role of *DRD3* gene's Ser9Gly polymorphism in the aetiology of suicide.

Keywords: Suicide; Genetics of suicide; Dopaminergic System; *DRD3* gene; Association study

1 - Introdução

O suicídio tem vindo a aumentar a sua incidência, tornando-se num grave problema de saúde pública, representando um grande desafio para os sistemas de saúde. De acordo com a O.M.S., o suicídio traduz cerca de 50% das mortes violentas, o que corresponde a um milhão de mortes por ano. Nos últimos 50 anos registou-se um aumento de aproximadamente 60% no número de mortes anuais por suicídio. Em Portugal a taxa de suicídio foi de 10,3 por 100 000 habitantes em 2010¹. Para além da elevada taxa de mortalidade acrescenta-se a repercussão que este acontecimento acaba por ter na vida de familiares e amigos destas vítimas.

O suicídio propriamente dito surge como um forte pilar de um fenómeno complexo, o comportamento suicida. Este engloba outros dois pilares: as ideias suicidas e as tentativas de suicídio². A forma como o suicídio é consumado classifica-o em “violento” e “não violento”, de acordo com o método usado, sendo o primeiro mais frequente no género masculino e o segundo no género feminino³. O comportamento suicida caracteriza-se por uma etiologia multifatorial onde a interação de fatores biológicos, inerentes ao indivíduo, com fatores situacionais e psicológicos, proporcionados pelo ambiente que o rodeia, irão modelar o desenvolvimento do comportamento suicida, com eventual desfecho em suicídio⁴. O comportamento suicida está associado a várias doenças psiquiátricas. Estudos mostram que cerca de 90% dos casos de tentativa de suicídio tem uma doença psiquiátrica subjacente⁵. As doenças do humor envolvem a maior percentagem, e entre estas a depressão *major* assume a maior parcela. A esquizofrenia, doença bipolar e alcoolismo também estão associadas a uma grande percentagem de morte por suicídio⁵.

Estudos de epidemiologia genética demonstram que os fatores genéticos desempenham um papel importante na etiologia do suicídio⁶. Identificar os genes relevantes e vias neurológicas alteradas que contribuem para este tipo de comportamento é de extrema

importância, visto que poderá ajudar a projetar e implementar estratégias preventivas e possivelmente terapêuticas. Contudo, apesar do imenso progresso alcançado, os genes e mecanismos neurobiológicos implicados na etiologia do suicídio ainda não estão clarificados. Até ao momento os estudos genéticos realizados focaram-se essencialmente nos sistemas de neurotransmissores cerebrais, implicados diretamente na componente comportamental do indivíduo⁷ e o sistema serotoninérgico tem sido o mais estudado⁸. Dos vários genes relacionados com este sistema, o gene do transportador da serotonina (5-HTT) e o gene que codifica a enzima triptofano hidroxilase (TPH) têm sido associados ao comportamento suicida em várias populações mundiais⁸. Os sistemas noradrenérgico, dopaminérgico e glutamatérgico têm sido também implicados na etiologia do suicídio^{2,9,10}. É neste contexto que surge o interesse pelo sistema dopaminérgico. Este tem sido pouco estudado em relação ao comportamento suicida, sendo no entanto um potencial candidato, face ao seu papel importante no comportamento do indivíduo. Relativamente ao sistema dopaminérgico, o gene que codifica o recetor de dopamina D3 (DRD3) é altamente promissor, uma vez que é expresso exclusivamente na zona límbica a nível cerebral, com funções relacionadas com o controlo de emoções, cognição e motivação¹⁵⁻¹⁶. Além disso, o gene *DRD3* tem sido implicado em várias patologias associadas ao suicídio, como a depressão *major*, a esquizofrenia, a doença bipolar e o alcoolismo¹¹⁻¹⁴. Apesar das evidências mencionadas, não existem estudos genéticos efetuados do gene *DRD3* e o suicídio a nível mundial. Assim, neste estudo investigou-se o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na etiologia do suicídio na população portuguesa.

2 - Materiais e Métodos

2.1 Seleção e recolha da amostra

A amostra de ambos os sexos utilizada neste estudo consistiu em 242 vítimas de suicídio, com idades compreendidas entre 16 e 86 anos e 263 controlos, com idades compreendidas entre 15 e 88 anos. As amostras foram seleccionadas no decorrer de autópsias Médico-Legais, no Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses (INMLCF) após consulta do Registo Nacional de Não Dadores (RENDA). O diagnóstico de suicídio é realizado através de uma análise integrada, incluindo a examinação do local do crime, informação obtida através do historial do indivíduo e resultado da autópsia forense. Para consumar o suicídio existem métodos violentos (enforcamento, arma de fogo, afogamento, precipitação) e não violentos (ingestão excessiva de medicamentos, intoxicações por inseticidas). Somente casos onde não existiram dúvidas acerca do tipo de morte é que foram incluídos no estudo. Relativamente ao grupo controlo, foram escolhidos indivíduos cujo historial clínico não revelou qualquer tipo de doença psiquiátrica, dependência de drogas lícitas ou ilícitas, enquanto vivos e cuja morte não aconteceu por suicídio. Foram recolhidas amostras de 10 ml de sangue para um tubo contendo o anticoagulante EDTA, para a extracção de DNA.

2.2 Procedimento experimental

2.2.1 Extracção de DNA genómico

O DNA usado no presente estudo foi obtido através dos leucócitos presentes no sangue periférico e extraído segundo o método enzimático modificado de Miller *et al.* (1988).

2.2.2 Quantificação e avaliação da pureza do DNA

O DNA obtido foi quantificado e avaliado qualitativamente por espectrofotometria. Através da relação entre a absorvância do DNA e as proteínas na região ultravioleta é possível avaliar o grau de pureza do DNA obtido. O rácio deve estar no intervalo entre 1,5 e 2. As concentrações de DNA também são obtidas através da sua absorvância de acordo com a fórmula:

$$[\text{DNA}] = \text{DO}_{260} \times \text{Factor de diluição} \times \text{Constante da dupla hélice}$$

Para a realização da leitura da densidade óptica das amostras foi utilizado um espectrofotómetro (SmartSpec™ Plus Spectrophotometer, BioRad) e uma cuvette de quartzo.

2.2.3 Reação em cadeia da polimerase

Para o estudo do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* localizado no exão 1, o DNA extraído foi amplificado pela técnica de PCR e os oligonucleótidos iniciadores de amplificação do segmento foram:

5'-GCTCTATCTCCA ACTCTCACA-3' (*Forward*)

5'-AAGTCTACTCACCTCCAGGTA-3' (*Reverse*)

A reação de amplificação do polimorfismo Ser9Gly no gene *DRD3* decorreu num volume final de 25 µl utilizando-se 100 ng de DNA genómico, 1X de solução tampão (Invitrogen®), MgCl₂ 1,5 mM, dNTPs 160 µM (Invitrogen®), 0,4 µM de cada primer (Invitrogen®) e 0,04 U/µl de Taq DNA polimerase (Invitrogen®). As condições utilizadas para a realização da amplificação consistiram num ciclo de desnaturação inicial a 95°C

durante 5 min, seguida de 35 ciclos de 20s de desnaturação a 95°C, 20s de *annealing* a 56°C e 30s de extensão a 72°C. Terminou-se com uma extensão final a 72°C durante 4 minutos.

2.2.4 Digestão e eletroforese em gel de agarose

O fragmento amplificado foi digerido pela enzima de restrição MscI (New England Biolabs®) a 37°C, durante a noite. Os fragmentos resultantes da digestão com a enzima de restrição foram corados com a solução corante (xileno cianol 0,025% (m/V) (Sigma®) azul de bromofenol 0,025% (m/V) (Sigma®) e glicerol 30% (m/V) (Invitrogen®)). O processo eletroforético decorreu num sistema horizontal (Bio-Rad®), em gel de agarose a 3% corado com brometo de etídio (10mg/ml) (Bio-Rad®). Os géis foram submetidos a uma diferença de potencial de 110 V em solução TBE 1X (Tris-base 89 mM; ácido bórico 89 mM e Na₂EDTA.2H₂O 2mM, pH=8). As bandas de DNA foram visualizadas num sistema Gel Doc (BioRad®), sendo os tamanhos determinados por comparação com o marcador de peso molecular Gene Ruler™ 100 pb DNA ladder (MBI Fermentas®).

2.3 Análise estatística

O presente trabalho de investigação baseia-se num estudo caso-controlo. A amostra total de 505 indivíduos foi fragmentada e a comparação da distribuição dos genótipos e alelos nos diferentes grupos foi efectuada recorrendo ao teste Qui-quadrado, usando tabelas de contingência. Os resultados foram analisados com o *Primer of Biostatistics program* versão 3.01 (Glantz, 1992).

3 - Resultados e Discussão

O gene *DRD3* localiza-se no cromossoma 3 (região: 3q13.3) e o polimorfismo Ser9Gly corresponde a uma troca de adenina (A) por uma guanina (G) que resulta em uma substituição

de aminoácidos – serina por glicina – na posição 9 da proteína. Para o estudo do polimorfismo Ser9Gly do *DRD3*, o DNA foi amplificado segundo a metodologia descrita anteriormente e o produto amplificado de 462 pb foi incubado com a endonuclease de restrição Msc I. A eletroforese dos produtos de digestão revelou a existência de bandas de 304pb + 111pb + 47pb que correspondem a indivíduos homocigóticos para o alelo Ser, bandas de 304pb + 111pb + 47pb + 206pb + 98pb que correspondem a indivíduos heterocigóticos SerGly, e bandas com 206pb + 98pb + 111pb + 47pb que correspondem a indivíduos homocigóticos para o alelo Gly. Os resultados foram colocados em tabelas de contingência de acordo com as distribuições genotípicas e alélicas sendo depois comparadas estatisticamente pelo teste Qui-quadrado (χ^2). Na Tabela 1 encontram-se as distribuições genotípicas e alélicas relativas ao polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3*, na amostra global de casos de suicídio (n=242) e na amostra global de controles (n=263).

Tabela 1: Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na amostra global de suicídios e na amostra global de controles.

	GENÓTIPOS (%)				ALELOS (%)		
	SerSer	SerGly	GlyGly	Total	Ser	Gly	Total
Suicídio	92	120	30	242	304	180	484
	(38)	(49,6)	(12,4)	(100)	(63,8)	(37,2)	(100)
Controles	104	119	40	263	327	199	526
	(39,5)	(45,2)	(15,2)	(100)	(62,2)	(37,8)	(100)
	$(\chi^2=1,371; \text{d.f.}=2; \text{p}=0,504)$				$(\chi^2=0,106; \text{d.f.}=1; \text{p}=0,745)$		

Para o polimorfismo Ser9Gly localizado no gene *DRD3*, na amostra global de controles, a frequência do alelo Ser (62,2%) foi superior à do alelo Gly (37,8%). Verificando-

se o mesmo nas vítimas de suicídio, sendo a frequência do alelo Ser de 62,8% e do alelo Gly de 37,2%.

Relativamente às distribuições genóticas do polimorfismo, no grupo de controlo, a frequência dos homozigóticos SerSer foi 39,5%, a frequência dos heterozigóticos SerGly foi 45,2 % e a frequência de homozigóticos GlyGly foi de 15,2%. Nas vítimas de suicídio a frequência dos homozigóticos SerSer foi 38%, a frequência dos heterozigóticos SerGly foi 49,6% e a frequência dos homozigóticos GlyGly foi de 12,4%.

O polimorfismo em estudo foi previamente associado a doenças psiquiátricas onde os indivíduos afectados mostram maior tendência ao suicídio. Por outro lado, o receptor expresso pelo gene estudado está exclusivamente presente em zonas cerebrais ligadas às sensações de bem estar e recompensa. No entanto, a análise estatística dos resultados do estudo da amostra global não revelou diferenças estatisticamente significativas para a distribuição genotípica ($\chi^2=1,296$; d.f.=2; p=0,523) e alélica ($\chi^2=0,021$; d.f.=1; p=0,884) comparando a amostra de vítimas de suicídio com a amostra controlo.

Vários estudos relativamente ao suicídio demonstraram que existem diferenças de género¹⁷. A título de exemplo, uma investigação efectuada pelo nosso grupo na população portuguesa revelou associação entre o gene *5-HT6* (gene que expressa o recetor 5-HT6 da serotonina) e o suicídio no sexo masculino¹⁸. Assim procedeu-se também a uma análise de género. Os resultados para o género masculino e para o género feminino encontram-se nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 – Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na amostra de vítimas de suicídio do sexo masculino e na amostra de controlos

	GENÓTIPOS (%)				ALELOS (%)		
	SerSer	SerGly	GlyGly	Total	Ser	Gly	Total
Suicídio	69 (40,4)	89 (52)	13 (7,6)	171 (100)	227 (66,4)	115 (33,6)	342 (100)
Controlos	84 (42,2)	85 (42,9)	29 (14,6)	198 (100)	253 (63,9)	143 (36,1)	396 (100)
	$(\chi^2=5,713; d.f.=2; p=0,057)$				$(\chi^2=0,395; d.f.=1; p=0,530)$		

Tabela 3 – Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na amostra de vítimas de suicídio do sexo feminino e na amostra de controlos.

	GENÓTIPOS (%)				ALELOS (%)		
	SerSer	SerGly	GlyGly	Total	Ser	Gly	Total
Suicídio	23 (32,4)	31 (43,6)	17 (24)	71 (100)	77 (51)	74 (49)	151 (100)
Controlos	20 (30,7)	34 (52,3)	11 (17)	65 (100)	65 (54)	56 (46)	121 (100)
	$(\chi^2=1,371; d.f.=2; p=0,504)$				$(\chi^2=0,106; d.f.=1; p=0,745)$		

Na análise relativamente ao género surgem dois resultados distintos. Na análise no género feminino não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de controlos (n=65) e o grupo de suicídios (n=71) quer a nível da distribuição genotípica ($\chi^2=1,371; d.f.=2; p=0,504$) quer a nível da distribuição alélica ($\chi^2=0,106; d.f.=1; p=0,745$) do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3*.

No que diz respeito à análise do género, a análise estatística dos resultados evidenciou uma tendência para associação genotípica entre o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* e o suicídio no género masculino ($\chi^2=5,713$; d.f.=2; $p=0,057$). O valor de p encontra-se no limite que define uma associação estatisticamente significativa ($p<0,05$). Sendo o resultado limítrofe, este exige a continuação do estudo com o aumento da amostra de forma a serem excluídas dúvidas relativamente ao papel do gene *DRD3* na etiologia do suicídio no género masculino. Relativamente às frequências alélicas não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre a amostra de vítimas masculinas de suicídio quando comparadas com o grupo controlo ($\chi^2=0,395$; d.f.=1; $p=0,530$).

No presente trabalho a amostra de vítimas de suicídio também foi estratificada em dois grupos de acordo com o método usado: suicídio violento ($n=188$) e suicídio não violento ($n=55$), no sentido de se identificar diferenças quanto ao método de consumir o suicídio. A distribuição genotípica e alélica para o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* para o grupo de suicídios por método “violento” e “não violento” está representada nas Tabelas 4 e 5, respetivamente.

Tabela 4: Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na amostra de suicídios e controlos de acordo com o método de concretização: “violento”.

	GENÓTIPOS (%)				ALELOS (%)		
	SerSer	SerGly	GlyGly	Total	Ser	Gly	Total
Suicídio	67 (35,6)	96 (51,1)	25 (13,3)	188 (100)	230 (61,2)	146 (38,8)	376 (100)
Controlos	104 (39,5)	119 (45,2)	40 (15,2)	263 (100)	327 (62,1)	199 (37,9)	526 (100)
	$(\chi^2=1,497$; d.f.=2; $p=0,473$)				$(\chi^2=0,055$; d.f.=1; $p=0,815$)		

Tabela 5: Distribuição dos genótipos e alelos do polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* na amostra de suicídios e controlos de acordo com o método de concretização: “não violento”.

	GENÓTIPOS (%)				ALELOS (%)		
	SerSer	SerGly	GlyGly	Total	Ser	Gly	Total
Suicídio	25 (45,4)	24 (43,6)	5 (1)	55 (100)	74 (68,5)	34 (31,5)	108 (100)
Controlos	104 (39,5)	119 (45,2)	40 (15,2)	263 (100)	327 (62,1)	199 (37,9)	526 (100)
	$(\chi^2=1,626; d.f.=2; p=0,444)$				$(\chi^2=1,294; d.f.=1; p=0,255)$		

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para qualquer dos dois grupos, tanto para as distribuições genótípicas (suicídio violento: $\chi^2=1,497$; d.f.=2; $p=0,473$; suicídio não violento: $\chi^2=0,055$; d.f.=2; $p=0,444$) como para as distribuições alélicas (violento: $\chi^2=1,626$; d.f.=1; $p=0,815$; suicídio não violento: $\chi^2=1,294$; d.f.=1; $p=0,255$). Dentro do nosso conhecimento, este é o primeiro estudo genético a nível mundial que investigou o gene *DRD3* na etiologia do suicídio e os resultados relativamente à amostra total e estratificado por método de consumar o suicídio, parecem sugerir que o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* não desempenha um papel direto na etiologia do suicídio na amostra estudada. Por outro lado, relativamente à análise do género, apesar dos resultados obtidos carecerem de estudos adicionais utilizando uma amostra maior, parece sugerir que o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* está implicado na etiologia do suicídio, no sexo masculino. De facto, o gene *DRD3* é altamente promissor para a etiologia do suicídio, uma vez que é expresso exclusivamente na zona límbica, com funções relacionadas com o controlo de emoções, cognição e motivação. Salienta-se ainda que o gene *DRD3* tem sido implicado em várias patologias associadas ao suicídio, como a depressão major, a esquizofrenia, a

doença bipolar e o alcoolismo. No seu conjunto estas evidências reforçam a necessidade de se explorar mais amplamente o sistema dopaminérgico na etiologia do suicídio, quer seja através de outros genes ou através de diferentes polimorfismos para o gene *DRD3*, principalmente na população portuguesa.

4 – Conclusão

De acordo com os resultados obtidos neste estudo não se encontrou associação entre o polimorfismo Ser9Gly do gene *DRD3* e o suicídio na sua amostra global, no género feminino e nos diferentes métodos de consumação do suicídio. No entanto verificou-se uma tendência para associação entre o género masculino e o suicídio para o polimorfismo investigado.

Dentro do nosso conhecimento este é um estudo pioneiro a nível mundial, visto que não existe nenhum trabalho semelhante que tenha explorado uma eventual associação entre o gene *DRD3* e o suicídio. Nesta complexa tarefa de mapeamento da componente genética do comportamento suicida seria não só importante estudar outras variantes genéticas do gene *DRD3* como colocar a hipótese de estudo de genes relacionados com o sistema dopaminérgico.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar à Professora Alda, pelo conhecimento e carinho transmitidos durante os 5 anos que me recebeu para poder crescer como aluno e como pessoa. Agradeço também a todos aqueles com que me cruzei nos trabalhos de laboratório, especialmente à Márcia Barros e a todos os patologistas e técnicos do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses que procederam à recolha das amostras.

Agradeço à minha Mãe e à minha Avó pela presença constante durante toda a minha vida.

Agradeço à Rita, pela ajuda incondicional nas diversas etapas destes últimos anos e pelo amor sempre presente.

Por fim, fica um agradecimento sincero ao David, pela companhia nas várias etapas deste trabalho e pelo exemplo de pessoa e amigo que para sempre guardarei.

Referências Bibliográficas

- [1] http://epp.eurostat.ec.europa.eu/statistics_explained/index.php/Causes_of_death_statistic/pt
- [2] Bondy B, Buettner A, Zill P. Genetics of suicide. *Mol Psychiatry*. 2006; 11:336-51.
- [3] Leboyer M, Slama F, Siver L, Belliver F. Suicidal disorders: a nosological entity per se? *Am J Med Genet C Semin*. 2005; 15:133C(1): 3-7.
- [4] Wasserman D, Geijer T, Sokolowski M, Rozanov V, Wasserman J. Nature and nurture in suicidal behavior, the role of genetics: some novel findings concerning personality traits and neural conduction. *Physiol Behavior*. 2007; 92: 245-49.
- [5] Mann JJ. Neurobiology of suicidal behavior. *Nat Rev Neurosci*. 2003; 4: 819-18
- [6] Brent DA, Melhem N. Familial Transmission of Suicidal Behavior. *Psychiatr Clin North Am*. 2008; 31: 157-77
- [7] Currier D, Mann JJ. Stress, Genes and the Biology of Suicidal Behavior. *Psychiatry Clin N Am*. 2008; 31: 247-69
- [8] Bortolato M, Pivac N, Muck Seler D, Nicolac Perkovic M, Pessia M, Di Giovanni G. The role of serotonergic system at the interface of aggression and suicide. *Neuroscience*. 2013; 236: 160.85.
- [9] Mandelli L, Serretti A. Gene environment interaction studies in depression and suicidal behavior: An update. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013; 37: 2375-97.
- [10] Ernst C, Mechawat N, Turecki G. Suicide neurobiology. *Prog Neurobiol*. 2009; 89:315-

- [11] Chang Y-H, Lee S-Y, Chen S-L, Tzeng N-S, Wang T-Y, Lee I, et al. Genetic variants of the BDNF and DRD3 genes in bipolar disorder comorbid with anxiety disorder. *J Affective Disorders*. 2013. 151: 967-72.
- [12] Opmeer E, Kortekaas R, Aleman A. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signaling. *Prog Neurobiol*. 2010; 92: 112-33
- [13] Nunokawa A, Watanabe Y, Kaneko N, Sugai T, Yazaki S, Arinami T. The dopamine D3 receptor (DRD3) gene and risk of schizophrenia: case control studies and an updated meta-analysis. *Schizophrenia Res*. 2010; 116: 61-67
- [14] Tupala E, Tiihonen J. Dopamine and alcoholism: Neurobiological basis of ethanol abuse. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2004. 28: 1221-47.
- [15] Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiol Rev*. 1998; vol. 78
- [16] Suzuki M, Yasmin LH, Sokoloff P, Schwartz JC, Sedvall G. D3 dopamine receptor mRNA is widely expressed in the human brain. *Brain Research*; 1998; 799: 58-74
- [17] Baca-Garcia E, Vaquero C, Diaz-Sastre C, Saiz-Ruiz J, Fernández-Piqueras J. A Gender-Specific Association between the Serotonin Transporter Gene and Suicide Attempts. *Neuropsychopharmacology*; 2002; 26:692-95.
- [18] Azenha D, Alvessa M, Matos R, Santa SF, Silva B, Cordeiro C, et al. Male specific association between the 5-HTR6 gene 267C/T SNP and suicide in the Portuguese population. *Neurosci Lett* 2009; 466: 128-30.

[19] Miller SA, Dikes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16: 1215.