EVERTON BARBOSA BERTAGLIA

Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal

São Paulo
2017

EVERTON BARBOSA BERTAGLIA

Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Helenice de Souza Spinosa

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3469
FMVZ

Bertaglia, Everton Barbosa

Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal / Everton Barbosa Bertaglia. -- 2017.
136 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.

Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Profa. Dra. Helenice de Souza Spinosa.

1. Sibutramina. Atenção. 2. Metilfenidato. 3. TDAH. 4. Memória. 5. Atenção. I. Título.

São Paulo, 09 de abril de 2015

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal", protocolado sob o CEUA nº 4844200115, utilizando 120 Camundongos heterogênicos (120 machos), sob a responsabilidade de Helenice De Souza Spinosa, foi aprovado na reunião de 08/04/2015, e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research "Effects of sibutramine and methylphenidate in an animal model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in mice induced by ethanol in the postnatal period", protocol number CEUA 4844200115, utilizing 120 Heterogenics mice (120 males), under the responsibility Helenice De Souza Spinosa, was approved in the meeting of day 04/08/2015, and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BERTAGLIA, Everton Barbosa

Título: Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os camundongos que fizeram parte deste trabalho. Suas vidas foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo por fornecer os instrumentos, o espaço e o corpo docente necessários para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo nº 2015/01928-2) pelo apoio financeiro.

Agradeço a prof.^a Dr.^a Helenice de Souza Spinosa pela orientação, dedicação e exemplo de profissionalismo que foram fundamentais para o desenvolvimento desse projeto.

Agradeço ao prof^o Dr. André Fukushima pela amizade, parceria e confiança. Desde a graduação você se empenhou em me motivar quanto à pesquisa e foi fundamental para que eu seguir nesta trajetória.

Agradeço ao prof^o Dr. Jorge Florio pela atenção e auxílio quanto às análises neuroquímicas.

Agradeço aos estagiários Beatriz e Fabiana pelo apoio e auxílio durante parte do desenvolvimento dessa pesquisa.

Agradeço a todos os meus amigos e colegas pós-graduandos do VPT, especialmente o Atílio, o Daniel, o Fred, a Gabriela, a Jéssica, a Julia, a Luana, a Marianna, a Nicassia, a Natália, a Paula, a Thaisa e o Thiago. Obrigado por todos os momentos descontraídos, pelos papos-cabeça e pelo ombro amigo.

Agradeço todos os funcionários do Departamento de Patologia pelo auxílio com o desenvolvimento desse trabalho. Agradeço em especial a Adriana, a prof.^a Dr.^a Claudia, o Herculano, a Luciana, a Magali, a Milena, o Mauro, o Nelson e o Vagner.

Agradeço a todos os meus amigos que direta ou indiretamente me ajudaram com o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço ao meu namorado William pelo apoio direto com esse trabalho, pelo companheirismo, ajuda e, acima de tudo, paciência durante esta jornada. Obrigado por ser uma pessoa tão ímpar!

Agradeço a minha amiga e irmã Sara por tudo o que já fez por mim. Sou muito grato pela sua existência, responsabilidade e sua inteligência que desde muito cedo me inspiram.

Agradeço imensamente meus pais, Terezinha e Vanderlei. Vocês esbanjam amor, apoio, respeito, força e a determinação que almejo espelhar para sempre. Obrigado pela amizade, parceria infinita, companheirismo e cuidado. Nunca serei capaz de retribuir tudo o que vocês já fizeram por mim.

RESUMO

BERTAGLIA, E. B. Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal. [Effects of sibutramine and methylphenidate in an animal model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) induced in mice by ethanol in the postnatal period] 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

O transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é uma condição que pode ser caracterizada pela falta de atenção, impulsividade e hiperatividade. A fisiopatologia do TDAH está relacionada, principalmente, a alterações no sistema dopaminérgico, noradrenérgico e serotoninérgico do sistema nervoso central. Dentre os tratamentos utilizados destaca-se a farmacoterapia com metilfenidato, potencial droga de abuso, que age como inibidor da recaptação de dopamina, noradrenalina e serotonina; por outro lado, o sal de sibutramina monoidratada, que possui mecanismo de ação farmacológico semelhante nestes sistemas de neurotransmissão central, ainda não teve sua utilização testada em um modelo do TDAH. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da administração prolongada (28 – 32 dias) de sibutramina e de metilfenidato em modelo animal do TDAH induzido pela exposição ao etanol no período pós-natal em camundongos, avaliando-se o ganho de peso semanal, o consumo de água e de ração, bem como o comportamento animal, por meio da avaliação geral no campo aberto e nos testes do labirinto em cruz elevado, da suspensão pela cauda, do reconhecimento de objetos e do labirinto em T. Foram avaliados também os níveis dos neurotransmissores e seus metabólitos em diferentes estruturas cerebrais. Os resultados mostraram que o modelo animal do TDAH induzido pela exposição ao etanol no período pós-natal apresentou hipoatividade no campo aberto seguida de aumento da atividade, não apresentou alterações nos níveis de ansiedade no labirinto em cruz elevado, como também mostrou comportamento tipo-depressivo no teste de suspensão pela cauda e marcante déficit na memória de trabalho e atenção no teste de reconhecimento de objetos e labirinto em T. Em relação ao tratamento prolongado com sibutramina e metilfenidato, não foram observadas alterações no ganho de peso semanal e consumo de água e ração. No campo aberto o metilfenidato normalizou a atividade dos camundongos, enquanto a sibutramina causou hiperatividade. No labirinto em cruz elevado não foram observadas alterações nos níveis de

ansiedade. No teste de suspensão pela cauda o metilfenidato ocasionou comportamento tipo-depressivo nos camundongos salina, enquanto a sibutramina reverteu os efeitos depressivos dos etanol. O metilfenidato melhorou a memória de trabalho e atenção dos camundongos que receberam etanol tanto no teste de reconhecimento de objetos quanto no labirinto em T, já a sibutramina foi capaz de fazê-lo apenas no labirinto em T.

Palavras-chave: Sibutramina. Metilfenidato. TDAH. Memória. Atenção.

ABSTRACT

BERTAGLIA, E. B. Effects of sibutramine and methylphenidate in an animal model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) induced in mice by ethanol in the postnatal period. [Efeitos da sibutramina e do metilfenidato em modelo animal do Transtorno do Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) induzido em camundongos por etanol no período pós-natal.] 2017. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

The attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is a condition that can be characterized by the lack of attention, impulsivity and hyperactivity. The pathophysiology of ADHD is related mainly to changes in the dopaminergic system, noradrenergic and serotonergic of central nervous system. Among the treatments used stands out the pharmacotherapy with methylphenidate, potential drug of abuse, which acts as an inhibitor of the reuptake of dopamine, noradrenaline and serotonin; on the other hand, the salt of sibutramine monohydrate, which has a pharmacological mechanism of action similar in these systems of central neurotransmission, have not had their use tested in a model of ADHD. Thus, the objective of this work was to study the effects of prolonged administration (28 - 32 days) of sibutramine and methylphenidate in an animal model of ADHD induced by exposure to ethanol in the postnatal period in mice, evaluating the weight gain weekly, the consumption of water and feed, as well as animal behavior, through the general assessment in open field, and in the elevated plus maze, and in the tests of tail suspension, the recognition of objects and the T maze. We evaluated the levels of neurotransmitters and their metabolites in different brain structures. The results showed that the animal model of ADHD induced by exposure to ethanol in the postnatal period showed hypoactivity in the open field followed by increased activity, showed no changes in the levels of anxiety in the elevated plus maze, as also shown depressive-like behavior in the tail suspension test and striking deficit in working memory and attention in the test of recognition of objects and T maze. In relation to the prolonged treatment with sibutramine and methylphenidate, no alterations were observed in weight gain weekly, and consumption of water and food. In the open field, methylphenidate normalized the activity of mice, while sibutramine caused hyperactivity. In the elevated plus maze no changes were observed in anxiety levels. In the tail suspension test methylphenidate caused depressive-like behavior in mice salina, while sibutramine reversed the effects of depression

of ethanol. Methylphenidate has improved the working memory and attention of mice that received ethanol both in the test of recognition of objects as the maze in T, since sibutramine was able to do it only in the maze in T.

Keywords: Sibutramine. Methylphenidate. ADHD. Memory. Attention.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura bidimensional da molécula do metilfenidato.....	38
Figura 2. Estruturas bidimensionais: A) molécula de sibutramina; B) Metabólito primário da sibutramina, desmethylsibutramina (M1); C) Metabólito secundário da sibutramina, N-di desmethylsibutramina (M2)	43
Figura 3. Administração por via oral (gavagem) em camundongo no início de tratamento, entre os dia pós-natais (DPNs) 35 ao 45.....	47
Figura 4. Arena circular do teste de campo aberto utilizada para avaliação da atividade geral de camundongos. A) visão superior da arena circular do campo aberto; B) representação das zonas da arena circular do campo aberto analisadas pelo <i>Ethovision XT®</i>	49
Figura 5. Aparato do labirinto em cruz elevado empregado para avaliar a ansiedade em camundongos, sendo (BA) braço aberto e (BF) braço fechado.....	50
Figura 6. Aparato utilizado no teste de suspensão pela cauda para camundongos: A) visão lateral e (B) visão frontal.....	51
Figura 7. Representação do protocolo do teste de reconhecimento de objetos (círculos cinzas e círculos superpostos róseos) realizado no campo aberto. As diferentes fases (habituação, familiarização e teste) foram realizadas em intervalos de 24 horas.....	52
Figura 8. Labirinto em T empregado para avaliar a alternância espontânea de roedores. A) vista superior; B) demarcações das áreas e braços do aparato, sendo BD = braço direito, BE = braço esquerdo, BV = braço vertical, AP = área de partida e barras róseas indicam as portinholas removíveis.....	54
Figura 9. Ganho de peso (g) semanal de camundongos tratados, por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 ao 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); b = p < 0,05 ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey, em	

relação ao grupo Et+água.....60

Figura 10. Consumo de água semanal (mL) e consumo de ração semanal (g) de camundongos tratados, por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 ao 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p < 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey: (a) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água.....62

Figura 11. Parâmetros da atividade geral no campo aberto de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. A observação comportamental foi feita após 28 dias de tratamento, durante 30 minutos por seção, sendo analisados três intervalos de cinco minutos. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p < 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey: (a) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água.....64

Figura 12. Parâmetros da atividade geral no campo aberto de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. A observação comportamental foi feita após 28 dias de tratamento, durante 30 minutos por seção, sendo analisados três intervalos de cinco minutos. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p > 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas.....66

Figura 13. Parâmetros do comportamento no labirinto em cruz elevado (% de entradas no braço aberto – BA – e % do tempo gasto no BA) de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam,

por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; b = Análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn, em relação ao grupo Et+água.....68

Figura 14. Parâmetros do comportamento no labirinto em cruz elevado (duração do tempo de permanência no centro, *head dipping* e avaliação de risco) de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73 (DPN 63 ao 73). No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; b = significância estatística em relação ao grupo Et+água.....69

Figura 15. Tempo de imobilidade (segundos) no teste de suspensão pela cauda de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; p < 0,05 ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (a) e (s) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água..... 70

Figura 16. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no estriado de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; p<0,05 ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (a) em relação ao grupo Sal+água. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.....72

Figura 17. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no cerebelo de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p < 0,05$ ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (b) em relação ao grupo Et+água. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.....74

Figura 18. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no córtex pré-frontal de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p > 0,05$ ANOVA de uma via. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.....76

Figura 19. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no hipocampo de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p > 0,05$ ANOVA de uma via. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.....78

Figura 20. Índice de discriminação no teste de reconhecimento de objetos de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn: (s) em relação ao grupo Sal+água ($p < 0,05$) e (b) em

relação ao grupo Et+água ($p < 0,01$).....80

Figura 21. (*Heatmap 1*) Mediana dos escores relativos à alternância espontânea no labirinto em T. Foram relacionadas às medianas atributos condicionais, indicando-se os erros (vermelho) e acertos (amarelo) dos camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento.....81

Figura 22. (*Heatmap 2*) Média normalizada entre os diferentes grupos de acordo com o parâmetro comportamental observado nos testes do campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão da cauda (SC) e reconhecimento de objetos (RO), indicando-se maior ocorrência (vermelho) e menor ocorrência (amarelo) dos respectivos eventos em camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento.....83

Figura 23. (*Heatmap 3*) Média normalizada entre os diferentes grupos de acordo com o parâmetro neuroquímico analisado, indicando-se maior valor (vermelho) e menor valor (amarelo) dos respectivos parâmetros em camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético; DA = dopamina; 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético; 5HT = serotonina.....86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1. Etiologia do TDAH.....	22
1.1.1. Genética e TDAH.....	23
1.1.2. Fatores ambientais e TDAH.....	25
1.2. Sistemas de neurotransmissão centrais envolvidos no TDAH	27
1.2.1. Sistema dopaminérgico	27
1.2.2. Sistema serotoninérgico	29
1.2.3. Sistema noradrenérgico	29
1.2.4. Sistema glutamatérgico	30
1.3. Neurobiologia do TDAH: aspectos atencionais e hiperatividade.....	31
1.4. Modelos empregados para o estudo do TDAH em roedores	34
1.5. Tratamentos para o TDAH.....	36
1.6. Cloridrato de sibutramina	40
2. OBJETIVOS.....	44
2.1. OBJETIVO GERAL	44
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
3. MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1. Animais	46
3.2. Indução do TDAH em camundongos	46
3.3. Drogas e tratamento	46
3.4. Avaliação clínica.....	47
3.5. Avaliações comportamentais	48
3.5.1. Atividade geral no campo aberto	48
3.5.2. Comportamento no labirinto em cruz elevado	49
3.5.3. Comportamento no teste de suspensão pela cauda.....	50
3.5.4. Comportamento no teste de reconhecimento de objetos	51
3.5.5. Comportamento no teste de alternância espontânea no labirinto em T.....	52
3.5.6. Avaliação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos	54
3.5.7. Análise estatística.....	56
4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS	59
4.1. Experimento 1: Efeitos da exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em modelo do TDAH em camundongos observados no campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão pela cauda e avaliação neuroquímica.....	59

4.1.1. Resultados.....	60
Ganho de peso semanal	60
Consumo de água e ração semanal	61
Atividade geral no campo aberto.....	63
Comportamento no labirinto em cruz elevado	67
Comportamento no teste da suspensão pela cauda.....	70
Avaliação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos.....	70
4.2.1. Resultados.....	79
Comportamento no teste de reconhecimento de objetos	79
Comportamento no teste de alternância espontânea no labirinto em T.....	80
<i>Heatmap</i> dos testes comportamentais realizados após a exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em camundongos induzidos ou não ao TDAH.....	82
<i>Heatmap</i> das análises neuroquímicas realizadas após a exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em camundongos induzidos ou não ao TDAH.....	84
5. DISCUSSÃO.....	88
6. CONCLUSÃO	99
REFERÊNCIAS	101

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é considerado como um transtorno do neurodesenvolvimento caracterizado por níveis prejudiciais de desatenção, desorganização e/ou hiperatividade-impulsividade pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* – (DSM-V: American Psychiatric Association – APA, 2013).

O DSM-V classifica o TDAH em três subtipos: tipo predominantemente hiperativo/impulsivo, tipo predominantemente desatento e tipo combinado. O diagnóstico diferencial para os subtipos é realizado por meio de critérios clínicos e escalas de avaliação. Dentre os mais utilizados e validados cientificamente estão os critérios dispostos no DSM-V, 2013. De acordo com o DSM-V, como critério clínico para diagnóstico deve-se levar em consideração um padrão persistente e presente (nos últimos seis meses) de pelo menos seis de um total de nove sintomas de desatenção, e/ou seis sintomas de hiperatividade/impulsividade, de um total de nove sintomas. No entanto, para adolescentes mais velhos e adultos (17 anos ou mais), pelo menos cinco sintomas são necessários.

Quanto à prevalência global do transtorno, há diversidade entre estudos de diferentes países e isso se deve, provavelmente, aos diferentes critérios e escalas adotados (HORA et al., 2015). Contudo, de acordo com o DSM-V (APA, 2013) a prevalência média mundial estimada é de 5 % das crianças e 2,5 % dos adultos.

No Brasil estudos apontam diferentes prevalências do TDAH. Vasconcelos e colaboradores (2003) e Fontana e colaboradores (2007) avaliaram indivíduos com idade entre seis e doze anos e encontraram prevalência de 17,1 % e 13 %, respectivamente. O estudo realizado por Freire e Pondé (2005), que avaliou indivíduos entre seis e dezessete anos, estimou em 6,7 %.

Considerando a prevalência associadas ao gênero, parece haver predomínio do transtorno no sexo masculino em relação ao feminino (SZATMARI; OFFORD; BOYLE, 1989), sendo estimada uma proporção que varia entre 2:1 a 9:1 dependendo do subtipo encontrado (BAUERMEISTER et al., 2007; RUCKLIDGE, 2010). No sexo feminino, geralmente, observa-se certa predominância do subtipo desatento, enquanto os meninos são

frequentemente hiperativos (RUCKLIDGE, 2010), o que pode facilitar o diagnóstico e referimento destes nos serviços de saúde. Portanto, os correlatos clínicos podem não ser influenciados por gênero, mas sim por vieses relacionados às práticas clínicas (BIEDERMAN et al., 2005).

Como os sintomas neuropsicológicos associados ao TDAH são mais evidentes em crianças no período pré-escolar (DALEY et al., 2009; TARVER; DALEY; SAYAL, 2014) e em alguns indivíduos podem declinar com a idade, cabe ressaltar que os indivíduos com TDAH poderão apresentar persistência dos sintomas até a idade adulta (GEISSLER; LESCH, 2011).

Desta forma, o TDAH torna-se uma preocupação para a saúde pública e para seus gestores, tanto pelas dificuldades associadas ao diagnóstico, quanto pelo impacto econômico para a sociedade. Em comparação com pacientes não-saudáveis, os gastos individuais em hospitais por pacientes com TDAH são maiores que o dobro quando comparados aos de indivíduos sem o transtorno (LEIBSON et al., 2001). Além disso, há custos indiretos relacionados aos comportamentos de alto risco (SHEKIM et al., 1990; BIEDERMAN et al., 1993) que incluem o uso de substâncias psicoativas (BAKHSHANI, 2013) como, por exemplo, o tabaco (MILBERGER et al., 1997; MANNUZZA; KLEIN, 2000), abuso de substâncias alcoólicas na infância, na adolescência (HARSTAD et al., 2014) e na fase adulta (KNOP et al., 2008).

O TDAH pode se apresentar isoladamente ou associado a outros transtornos ou desordens (comorbidades). Dentre as comorbidades com o TDAH, destacam-se o transtorno de humor, em particular, o transtorno bipolar (ARNOLD et al., 2011; BIEDERMAN et al., 2013), as desordens de múltipla ansiedade e transtorno desafiador opositivo (GHANIZADEH et al., 2008; LYCETT et al., 2014), desordem do espectro autista (ROMMELSE et al., 2010), desordens de aprendizagem (DUPAUL; GORMLEY; LARACY, 2012), síndrome de Tourette (ACOSTA et al., 2004), ansiedade e depressão (MILL, 2007; STROHMEIER et al., 2015).

1.1. Etiologia do TDAH

A exata causa do TDAH é ainda desconhecida (THAPAR et al., 2013). Tanto fatores genéticos (THAPAR et al., 2007) como fatores ambientais (BANERJEE; MIDDLETON; FARAONE, 2007) podem contribuir para o desenvolvimento desse transtorno, considerado,

portanto, uma interação entre gene-ambiente (LARSSON; LARSSON; LICHTENSTEIN, 2004) com natureza poligenética (ZHANG et al., 2012).

1.1.1. Genética e TDAH

Com hereditariedade que varia de 75 % a 91 %, o TDAH pode ser considerado uma das condições psiquiátricas mais hereditárias (FARAONE et al., 2005; FARAONE; MICK, 2010). Desta forma, estudos moleculares têm observado polimorfismos genéticos ligados à transmissão dopaminérgica e mostraram a importância da disfunção deste sistema na gênese do TDAH (BARKLEY et al., 2006). Estas alterações envolvem polimorfismos do gene transportador de dopamina – SLC6A3/DAT1 – que codifica a proteína transportadora de dopamina – *dopamine transporter*, DAT – (MADRAS, MILLER e FISCHMAN, 2005; SPENCER et al., 2005; FRANK et al., 2012) e genes ligados aos receptores de dopamina (*dopamine receptor*, DR) – DRD2, DRD3, DRD4 e DRD5 que codificam os receptores de dopamina D2, D3, D4 e D5, respectivamente, e estão acoplados à proteína G – (OLDENHOF et al., 1998; BARKLEY et al., 2006; GIZER; WALDMAN, 2009; VOLKOW et al., 2009; FRANKE et al. 2012; WU et al., 2012;).

No gene SLC6A3/DAT1, 40 pares de base de repetições em tandem (*variable number of tandem repeat*, VNTR; são cópias de sequência de DNA que se posicionam adjacentes uma em relação à outra) na região 3' não traduzida – 3'UTR – (esta região possui o grampo de terminação e forma o RNA mensageiro durante a transcrição do DNA) ou o haplótipo 9-6 (formado pelo alelo de repetição 9 do VNTR e o alelo de repetição 6 do VNTR no intrão 8 do gene) estão associados ao TDAH em adultos, enquanto que em crianças há persistência do haplótipo 10-6 (FRANKE et al., 2008). Essas diferenças podem indicar a modulação desse gene no fenótipo do TDAH ao longo da vida, uma vez que fatores ambientais como hábito de fumar, ingerir etanol ou uso de outras drogas podem influenciar a regulação da proteína transportadora de dopamina (MADRAS et al., 2005; FRANKE et al., 2008; FRANKE et al., 2012). Além disso, a presença do haplótipo 9-6 já tem sido associada ao aumento no volume estriatal em indivíduos com TDAH (ONNINK et al., 2016).

Quanto aos receptores de dopamina, o receptor de dopamina D4 pertence à família de receptores tipo D2 que atuam inibindo a adenilciclase (OLDENHOF et al., 1998) e é codificado pelo gene DRD4. Há fortes evidências que associam os 48 pares de base VNTR no

éxon 3 e os alelos mais comuns deste polimorfismo (repetições de 2, 4 e 7 alelos) com o TDAH (GIZER, FICKS e WALDMAN, 2009).

Os trabalhos relacionados com os genes DRD2, DRD3 e DRD5, os achados relativos ao DRD5 parecem ser mais promissores. O gene DRD5 codifica a proteína receptora de dopamina D5. Esta pertence à classe dos receptores do tipo D1 que atuam na estimulação da atividade da adenilciclase (SUNAHARA et al., 1991). O polimorfismo relacionado ao TDAH mais estudado neste gene é uma repetição dinucleotídica de 18,5 kb na região 5' (kb = kilo (quilo) de pares de bases = 1.000 pb) e consiste de 12 alelos que variam entre 134 a 156 pb (GIZER; FICKS; WALDMAN, 2009).

Além destes, estão relacionados à genética do TDAH os genes SLC6A4/5-HTT/SER que codificam a proteína transportadora de serotonina (QUIST et al., 2003; RETZ et al., 2004; GIZER; FICKS; WALDMAN, 2009), bem como os genes SLC6A2/NET que codificam a proteína transportadora de noradrenalina e ADRA2A e ADRA2C que codificam a proteína receptora de noradrenalina (BARR et al., 2001; PARK et al., 2005; GIZER; FICKS; WALDMAN, 2009), além do glutamato (TURIC et al., 2004).

Quanto à importância genética relacionada à transmissão serotoninérgica, Ribasés e colaboradores (2009) investigaram 19 genes serotoninérgicos em crianças e adultos com TDAH e reportaram a presença de haplótipos nos genes DDC (responsável pela síntese), HTR2A (responsável pela codificação de receptores) e MAOB (responsável pela degradação de serotonina), sendo que foi encontrada forte associação da MAOB em adultos com TDAH, o que sugere a participação desse gene na persistência do transtorno ao longo da vida.

Variações nos genes SLC6A2/NET têm sido hipoteticamente correlacionadas ao TDAH, contudo até pouco tempo não havia evidências sólidas que as relacionassem com esse transtorno (FRANK et al., 2012). Contudo, recentemente um estudo longitudinal associou duas variantes da NET (rs3785157 e rs28386840) com o TDAH (HOHMANN et al., 2015).

Com o intuito de facilitar a compreensão desta complexa genética envolvida no TDAH, Zhang e colaboradores (2012) desenvolveram um banco de dados online. Nesta plataforma, em 2016, pode-se encontrar 359 diferentes genes candidatos a participarem da fisiopatologia deste transtorno. Neste banco de dados online são encontrados 10 diferentes genes relacionados à transmissão glutamatérgica e o TDAH. Cinco deles possuem resultados significantes quanto à participação no transtorno, sendo eles o GRIN2A (TURIC et al., 2004),

SLC1A3 (TURIC et al., 2005), GRM5 e GRM8 (ELIA et al., 2012), bem como o GRIN2B (DORVAL et al., 2007). Outros dois genes possuem apenas resultados que demonstram possível tendência causal com o transtorno, sendo eles o GRIK1 (LASKY-SU et al., 2008) e o GRID2 (STERGIAKOULI et al., 2012). Apenas três genes parecem não ter uma relação significativa quanto à participação no transtorno, sendo eles o QPCTL (ALBAYRAK et al., 2013), o GRIK4 e o GPX6 (HINNEY et al., 2011).

1.1.2. Fatores ambientais e TDAH

Deficiências nutricionais têm sido observadas em crianças com TDAH e incluem deficiências de ácidos graxos (TARVER; DALEY; SAYAL, 2012), zinco (ARNOLD et al., 2005) e ferro (CORTESE et al., 2012). No entanto, não há evidências que associem tais deficiências como fatores para o desenvolvimento do TDAH (THAPAR et al., 2013). Ainda assim, intervenções na dieta parecem promissoras. Joshi e colaboradores (2006) trataram por três meses indivíduos com TDAH por meio de suplementação com vitamina C e notaram eficácia na terapia. Nessa perspectiva, o uso de suplementação com complexos de lipídeos essenciais – *highly unsaturated fatty acids*, HUFA – foi capaz de aliviar os sintomas de dificuldades de aprendizagem em indivíduos com o transtorno (RICHARDSON et al., 2002).

A exposição a alguns metais, como mercúrio e manganês, tem sido também associada à etiologia do transtorno, pois estão relacionadas à distraibilidade, hiperatividade e baixo desempenho intelectual (BANERJEE et al., 2007). A exposição a compostos como os praguicidas organofosforados pode também contribuir com a prevalência deste transtorno (BOUCHARD; BELLINGER; WRIGHT, 2010).

Além destes fatores, o ambiente materno envolvendo complicações perinatais pode ser um fator de predisposição para o TDAH e incluem toxemia, eclampsia (convulsões na gestante), má saúde materna, pós maturidade, duração do trabalho de parto, baixo peso fetal e hemorragias ante parto (SPRICH-BUCKMINSTER et al., 1993; BANERJEE et al., 2007).

Já a exposição fetal ao tabagismo pode aumentar os riscos de mortalidade fetal e apresenta um risco ao desenvolvimento cognitivo e comportamental dos indivíduos (WASSERMAN et al., 1998). De acordo com o estudo de Milberger e colaboradores (2010), em 140 casos relacionados com a exposição materna ao tabaco houve aumento de risco em 2,7 vezes para o desenvolvimento do TDAH. Esses resultados são também confirmados por

outros estudos (WEISSMAN et al., 1999; KOTIMAA et al., 2003; THAPAR et al., 2003).

Já a ingestão de bebidas alcoólicas durante a gravidez pode ocasionar a síndrome do alcoolismo fetal (JONES; SMITH, 1973), uma desordem diferente do TDAH (PEADON; ELLIOTT, 2010). A exposição pré-natal ao álcool é relacionada ao desenvolvimento de hiperatividade, impulsividade, problemas de linguagem e déficits de aprendizado (STREISSGUTH, 1986; MATTSON; RILEY, 1998), bem como aumento de risco para desordens psiquiátricas e déficits psicossociais. Destes, o TDAH é o diagnóstico mais comum (BHATARA; LOUDENBERG; ELLIS, 2006).

A exposição pré-natal ao etanol parece afetar principalmente a transmissão dopaminérgica (GIBSON et al., 2000), com a diminuição significativa de receptores dopaminérgicos D1 e D2 no hipocampo e estriado, bem como aumento de receptores muscarínicos nessas mesmas regiões (CARNEIRO et al., 2005). Contudo, as consequências do etanol no segundo e terceiro trimestre de gestação não estão totalmente elucidadas,

Todavia, nesse sentido, Matsson e colaboradores (2001) demonstraram em animais a vulnerabilidade do cérebro ao etanol durante todo o período de desenvolvimento, com alterações estruturais nos gânglios da base, corpo caloso, cérebro e hipocampo. Além disso, as alterações ocasionadas pelo álcool perduram continuamente e assemelham-se com achados neuroquímicos de crianças expostas ao álcool (RYLEY et al. 2004).

Além dos fatores biológicos relacionados ao ambiente e químicos apresentados anteriormente, fatores psicossociais podem também contribuir com a gênese do TDAH (FROEHLICH et al., 2011). De acordo com Li e colaboradores (2010), filhos do sexo masculino de mães que sofreram estresse, como a morte inesperada de um ente querido, apresentavam risco aumentado de 72 % em desenvolver o TDAH. Há também correlação do desenvolvimento do transtorno em descendentes de mães que durante a gravidez sofreram com a auto-percepção do perigo – *self-perceived distress* – (MARTINI et al., 2010). Portanto, existem indícios de que o estresse materno pré-natal está ligado ao desenvolvimento de sintomas do TDAH das proles ao longo da infância (FROEHLICH et al., 2011).

O estresse pós-natal pode também apresentar riscos de desenvolvimento do TDAH, pois a exposição a eventos traumáticos, como a violência, durante fase do desenvolvimento (idade entre 24 meses a 42 meses) pode aumentar o risco em três vezes de se desenvolver o transtorno (BRIGGS-GOWAN et al., 2010).

Não obstante, crianças que se desenvolvem em instituições de abrigamento podem ser privadas de *inputs* sociais e ambientais necessários para o desenvolvimento saudável (NELSON, 2007). O desenvolvimento nestes mesmos tipos de ambientes, de acordo com McLaughlin e colaboradores (2010), evidenciou o aumento dos sintomas relacionados ao TDAH, bem como atraso na maturação cortical. Nesse sentido, crianças que sofreram grave privação e negligência em tais instituições obtinham altos índices de desatenção (RUTTER et al., 2001), o que chama a atenção para o desenvolvimento adequado destes indivíduos em ambientes saudáveis.

As diferentes respostas individuais às influências ambientais podem ser explicadas de acordo com a interação gene-ambiente. Alguns indivíduos possuem genótipo que aumentam a suscetibilidade a determinados estressores ambientais (WERMTER et al., 2009; NIGG, NIKOLAS; BURT, 2010). Logo, ainda são necessários estudos para maior compreensão das interações entre os fatores genéticos e ambientais que possam estar ligados à origem do desenvolvimento do TDAH.

1.2. Sistemas de neurotransmissão centrais envolvidos no TDAH

A comunicação eficiente entre os neurônios é necessária para o funcionamento normal do sistema nervoso central, porém indivíduos com TDAH possuem alterações em alguns sistemas de neurotransmissores que incluem o dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico e glutamatérgico (GREENGARD, 2001; GAINETDINOV et al., 2002).

1.2.1. Sistema dopaminérgico

A dopamina é uma amina biogênica sintetizada a partir do aminoácido tirosina. Este processo ocorre por meio da atuação da enzima tirosina hidroxilase que converte a tirosina em L-dopa, seguida da ação enzimática do L-aminoácido aromático descarboxilase que converte, enfim, a L-dopa em dopamina (FREDERICK; STANWOOD, 2009).

A dopamina atua como neurotransmissor nos sistemas dopaminérgicos ligando-se a cinco diferentes tipos de receptores que podem ser divididos em duas subfamílias: a pertencente aos receptores do tipo D1 – composta pelos receptores D1 e D5, responsáveis por catalisar a síntese de monofosfato cíclico de adenosina – e receptores do tipo D2 – composta

pelos receptores D2, D3 e D4, responsáveis pela inibição do monofosfato cíclico de adenosina – (FREDERICK; STANWOOD, 2009; VALENZUELA; PUGLIA; ZUCCA, 2011).

Ambas as famílias de receptores e a dopamina formam quatro diferentes vias dopaminérgicas em mamíferos que incluem a nigroestriatal, que conecta a substância negra com o estriado; a mesolímbica, que projeta-se da área tegmental ventral para o núcleo accumbens; a mesocortical, que projeta-se da área tegmental ventral para o córtex pré-frontal; bem como a tuberoinfundibular, que origina-se no núcleo arqueado do hipotálamo e se projeta para a hipófise, regulando a secreção de prolactina e hormônio luteinizante (WIESEL, 1978).

Nestas vias originam-se dez grandes núcleos dopaminérgicos (PRAKASH, 2006; TURIALT, 2007; MOLNAR, 1994; PRAKASH; WURST, 2006; PHELPS, 2004; BENSKEY et al., 2012; NJORKLUND; DUNNET, 2007; DOUGALIS et al., 2012) com destaque para os grupamentos A8 – presente na via hipotálamo-tuberoinfundibular – A9 – presente na via nigroestriatal – e A10 – presente na via mesolímbica e mesocortical, associação denominada como via mesocorticolímbica –. Estes grupamentos de neurônios dopaminérgicos estão envolvidos em funções como alimentação, afeto, sono, recompensa, depressão, movimento voluntário, memória de trabalho, aprendizagem e atenção (KLIMEK et al., 2002; BEULIEU; GAINETDINOV, 2011).

A via mesocorticolímbica está envolvida na dependência a substâncias e recompensa (CALLAHAN et al., 1997), psicose (WATANABE et al., 1998), depressão (KLIMEK et al., 2002), processamento de informações, atenção seletiva, memória de trabalho, linguagem e planejamento (GOLDMAN-RAKIC; COOLS; SRIVASTAVA, 1996). Contudo, esta via possui grande envolvimento com o TDAH (SULLIVAN; BRAKE, 2003) o que pode explicar, em parte, a redução da atividade dopaminérgica e os déficits comportamentais apresentados pelos portadores (VOLKOW et al., 2009).

Já a via nigroestriatal regula as atividades motoras, bem como a atenção, e está envolvida no comportamento de hiperatividade dos portadores do transtorno (MALER et al., 1973; MADUREIR; CARVALHO; CHENIAUX, 2007; BARKLEY, 2008). Nesta via pode haver um hiperfuncionamento dopaminérgico, o que trás prejuízos na manutenção do foco atencional (MADUREIRA; CARVALHO; CHENIAUX, 2007). Contudo, há o provável hipofuncionamento dopaminérgico que leva à exacerbação do foco atencional e dificulta a reação a novos estímulos (o que gera, portanto, déficits atencionais), corroborando a hipótese de hiperfocalização em portadores do TDAH (LEO et al., 2003; MADUREIRA, CARVALHO e CHENIAUX, 2007).

1.2.2. Sistema serotoninérgico

A serotonina (5-hidroxitriptamina – 5-HT) é uma molécula que pode atuar como neurotransmissor no sistema nervoso central e no sistema nervoso periférico, sendo capaz de modular o sono, afeto, apetite, temperatura, comportamento sexual, motilidade gastrointestinal, contratilidade cardíaca e função renal, dentre outros (MOHAMMAD-ZADEH; MOSES; GWALTNEY-BRANT, 2008).

Além de modular tais funções, a serotonina possui também importante papel no TDAH (RETZ et al., 2004) e está associada com o alelo 5HTR1B 861G (HAWI et al., 2002) e com o alelo longo 5HTT (RETZ et al., 2002).

Algumas vias dopaminérgicas são inervadas por neurônios serotoninérgicos originados nos núcleos da raphe (NEDEGAARD et al., 1988). Na via dopaminérgica estriatal, por exemplo, a serotonina controla a liberação de dopamina e atua como um freio (ROHDE; HALPERN, 2004), sendo agentes serotoninérgicos eficientes em reverter a hiperatividade em ratos sem o gene que codifica o transportador de dopamina (POLLIET et al., 2000). Assim, a serotonina pode regular as funções de neurônios dopaminérgicos e envolve-se com o TDAH (COELHO et al., 2010).

1.2.3. Sistema noradrenérgico

A noradrenalina é um neurotransmissor biossintetizado a partir do aminoácido tirosina que é hidrolizado e origina a dihidroxifenilalanina – DOPA, sendo esta sequencialmente descarboxilada para formar dopamina e hidroxilada para gerar a noradrenalina (AXELROD, 1974).

O núcleo noradrenérgico presente no locus coeruleus envia projeções para a maioria das regiões cerebrais, que incluem o tronco encefálico, o cerebelo, o diencéfalo, além do paleo e neocórtex (JONES et al., 1977), com exceção dos gânglios da base. Este arranjo anatômico está envolvido em diversos processos como a regulação do humor, sono, estado de alerta e vigília (YOUNG; LANDSBERG, 1998), tendo importante papel nos processos cognitivos (AMARAL; SINNAMON, 1977; VAN DONGEN, 1981).

O papel da noradrenalina no córtex pré-frontal e na cognição ocorre por meio de sua

ação nos receptores adrenérgicos $\alpha 2A$ (ARNSTEN et al., 1996), sendo capaz de processar estímulos relevantes e inibir os irrelevantes, o que restringe o comportamento hiperativo (PASTURA; MATTOS, 2004); portanto, os circuitos noradrenérgicos frontosubcorticais são importantes também na manutenção do foco e da atenção e na mediação da fadiga, disposição, motivação e interesse (RUSSEL; SAGVOLDEN; JOHANSEN, 2005).

Desta forma, o sistema atencional posterior (que inclui a região parietal e o *locus coeruleus*) se relaciona com a atenção seletiva, sendo a região parietal responsável por “desligar” o cérebro de novos estímulos e os colículos superiores com importante papel na mudança do foco atencional (MADUREIRA; CARVALHO; CHENIAUX, 2007).

Uma vez que está envolvido em diversos processos cerebrais que inclui a atenção, o sistema noradrenérgico desempenha importante papel no TDAH, com o envolvimento do gene que codifica enzimas dopamina-beta-hidroxilase – DbH – (COELHO et al., 2010).

Nesse sentido, a modulação farmacológica com atomoxetina e outros medicamentos capazes de inibir a recaptação de noradrenalina, com o aumento dos níveis de noradrenalina no córtex pré-frontal, é capaz de melhorar os sintomas do TDAH, pois o bloqueio dos transportadores de noradrenalina é responsável pela recaptação tanto de noradrenalina quanto dopamina, uma vez que existem baixos níveis do transportador de dopamina nessa região (BYMASTER et al., 2002).

1.2.4. Sistema glutamatérgico

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (MELDRUM, 2000) e atua em receptores glutamatérgicos ionotrópicos de membrana que são divididos em receptores do tipo AMPA, cainato, NMDA e receptores δ ; estes possuem quatro grandes subunidades que formam um poro de canal iônico central (TRAYNELIS et al., 2010). As projeções dos neurônios glutamatérgicos se iniciam no córtex pré-frontal e se estendem até o estriado, núcleo acumbens, área tegmental ventral e substância negra (MILLER et al., 2013).

Alguns estudos indicam a influência do glutamato no TDAH e apontam aumento nos níveis desse neurotransmissor no estriado e no córtex cingulado anterior (CARREY et al., 2002; MOORE et al. 2006; MOORE et al., 2007). Além disso, o glutamato interage com a

dopamina por meio dos receptores NMDA que ativam os neurônios dopaminérgicos na área tegmental ventral e substância negra (MARTÍNEZ-FONG et al., 1992; WARTON; HOWELLS; RUSSELL, 2009), bem como interage com a noradrenalina, aumentando significativamente sua liberação no córtex pré-frontal (RUSSEL, ALLIE e WIGGINS, 2000).

1.3. Neurobiologia do TDAH: aspectos atencionais e hiperatividade

Na década de 1970 o TDAH foi considerado como uma disfunção mínima cerebral por conta da associação de seus sintomas com distúrbios neurológicos (WENDER, 1971). Atualmente, estudos com técnicas de neuroimagem, como as obtidas por meio de imagens com ressonância magnética, uma técnica não invasiva que permite a coleta de dados detalhados da atividade cerebral (CASTELLANOS et al., 2002), evidenciam que os déficits comportamentais e cognitivos estão associados com as anormalidades estruturais e funcionais do cérebro de portadores do transtorno.

Diferentes estudos apontam alterações no volume e espessura cortical em regiões cerebrais de indivíduos com TDAH (VALERA et al., 2007) e incluem a diminuição do volume total cerebral (CASTELANOS et al., 1996), diminuição dos lobos frontal, parietal, occipital e temporal (FILIPEK et al., 1997; CASTELLANOS et al., 2002), bem como do corpo caloso (SEMRUD-CLIKEMAN et al., 1994; CASTELANOS et al., 1996; HILL et al., 2003), cerebelo (BERQUIN et al., 1998), regiões pré-frontais (CASTELANOS et al., 1996; KATES et al., 2002; MOSTOFISKY et al., 2002; HILL et al., 2003), estriado (núcleo caudado) (CASTELANOS et al., 1996; FILIPEK et al., 1997; HILL et al., 2003), núcleos da base (CASTELANOS et al., 1996; FILIPEK et al., 1997), e córtices parietal e temporal (SOWELL et al., 2003; SHAW et al., 2007).

Outras anormalidades incluem a diminuição cortical em crianças que retardou em três anos a maturação de regiões pré-frontais (BATTY et al., 2010). Nesta perspectiva, estudos com imagens de ressonância magnética de regiões pré-frontais apontam ativação reduzida nos córtices cingulado médio e anterior, pré-frontal dorsolateral e pré-frontal ventrolateral (DURSTON; ZEEUW; STAAL, 2009; GEBUREK et al., 2013), importantes para processos cognitivos que incluem a atenção, como também o planejamento motor (SHAW et al., 2007).

O estriado tem participação na hiperatividade (FULTON, 1951; KELLY; MOORE,

1976; YOSHIDA et al., 1991) e pode ser dividido em duas regiões, o núcleo caudado e o putâmen. Apesar de já se ter observado aumento da região pré-frontal e maior volume do núcleo caudado em indivíduos com TDAH (SEMRUD-CLIKEMAN et al., 2014; ONNINK et al., 2016), a maior parte dos estudos apontam diminuição dessa região (CASTELANOS et al., 1996; FILIPEK et al., 1997; HILL et al., 2003), e provavelmente isso se deve às diferentes metodologias empregadas para quantificar os desvios volumétricos (IANNACCONE et al., 2015). Além destas diferenças anatômicas, disfunções no funcionamento do DAT estão envolvidas na hiperatividade (SPENCER et al., 2005; MADRAS et al., 2005).

As regiões frontoestriatais possuem ricas interconexões que conectam o núcleo caudado com o córtex orbitofrontal e dorsolateral – ambos localizados no córtex pré-frontal (ALEXANDER; DELONG; STRICK, 1986; GOLDMAN-RAKIC, 1987). Os circuitos presentes nessas regiões, como também os presentes nas regiões parietais posteriores, dentre outros, estão ligados às teorias envolvendo a atenção (MESULAM, 1990; POSNER, 1990; MORECRAFT; GEULA; MESULAM, 1993; PETERSEN; POSNER, 2012), que incluem a atenção seletiva, controle executivo e atenção relacionada à vigilância (ou alerta).

A atenção seletiva (responsável pelo engajamento atencional a novos estímulos) está relacionada às áreas posteriores do córtex frontal, bem como o núcleo pulvinar do tálamo e colículo superior, ambos localizados na área 8 de Brodmann e são também responsáveis pelos processos que incluem a atenção visual (PAUS, 1995; CORBETTA et al., 1998; THOMPSON et al., 2005). Nesse sentido, a atenção seletiva pode ser formada por dois sistemas: um é responsável pela preparação e aplicação da seleção atencional direcionada a estímulos e respostas (formado pelo córtex intraparietal e o córtex frontal superior), enquanto o outro sistema é especializado no direcionamento da atenção a estímulos relevantes e inesperados (composto pelo córtex temporoparietal e o frontal inferior), ambos com funcionamento concomitante (CORBETTA; SHULMAN et al., 2002).

Em imagens de ressonância magnética, crianças com TDAH apresentaram hipoativação no sulco intraparietal direito e no cerebelo lateral esquerdo (TAMM e JURANEK, 2012), enquanto déficits atencionais também foram relacionados a ativações reduzidas na junção temporoparietal direita e giro frontal inferior direito (JANSSES et al., 2015), o que caracteriza os déficits na atenção seletiva em indivíduos com TDAH, corroborado por outros trabalhos (SATTERFIELD et al., 1990; JONKMAN et al., 1997; GOMES et al., 2012).

Já o controle executivo é responsável pela seleção intencional de metas para

processamento, sendo que o momento de detecção de um alvo produz interferência e retarda a detecção de outro, o que limita o nosso sistema de atenção. Este processo comumente é denominado de atenção focal – (DUNCAN, 1980) e está envolvido em diferentes demandas atencionais. Assim, em conjunção com a ínsula anterior opera focalmente diversos processos como a percepção física (RAINVILLE et al., 1997), social (EINSENBARGER et al., 2003), dor e processo de recompensa (HAMPTON e O'DOHERTY, 2007), monitoramento e resoluções de conflito (BOTVINICK et al., 2001), detecção de erros (DEHAENE et al., 1994) e teoria da mente – capacidade de atribuir estados mentais para si mesmo e para os outros – (KAMPE et al., 2003). O controle das funções executivas, que produzem o espaço de trabalho global frequentemente associado com a consciência, estão relacionadas a diversas conexões distribuídas pelos córtices pré-frontal, temporoparietal e cíngulo anterior (DEHAENE e CHANGEUX, 2011).

Indivíduos com TDAH possuem reduções no volume do córtex pré-frontal (VALERA et al., 2007) e menor volume na ínsula anterior (LOPEZ-LARSON et al., 2012), com retardo na maturação da arquitetura funcional de interconexões das redes de atenção ventral (especialmente na ínsula anterior) e redes frontoparietais (STRIPADA; KESSLER; ANGSTADT, 2014), o que, em parte, pode explicar os déficits no controle executivo destes indivíduos (GONG et al., 2015).

A atenção relacionada ao estado de alerta (ou vigilância) impacta a habilidade de processar informações, porém esta ativação em si não contém informação específica, mas gera, contudo, um estado de atenção para potenciais ameaças ou perigos (OKEN, SALINSKY; ELSAS, 2006). Esta atenção pode ser dividida em dois diferentes processamentos: o fásico – de adaptação rápida e orienta a resposta do indivíduo – e o tônico – de adaptação lenta e é envolvido na atenção sustentada – (OKEN; SALINSKY; ELSAS, 2006; PETERSEN; POSNER, 2012), ambos estão correlacionados com partes do hemisfério direito cerebral e conjuntos de áreas talâmicas (STURM; WILLMES, 2001). Outro aspecto interessante é a variação contingente negativa – que caracteriza um estado de prontidão ou expectativa – por meio da variação dos potenciais elétricos corticais, associada a uma antecipação de resposta a um estímulo esperado (WALTER, 1964), que é mediado pelo cíngulo anterior e estruturas adjacentes (NAGAI et al., 2004). Esta variação pode permanecer como uma onda estacionária em áreas parietais do hemisfério contralateral (HARTER e GUIDO, 1980). Além destas regiões, estão envolvidas no sistema de alerta o locus coeruleus e regiões dos córtices parietais e pré-frontal (PETERSEN e POSNER, 2012).

Indivíduos com TDAH possuem notáveis déficits atencionais relacionados à vigilância (HUANG-POLLOCK et al., 2012). Quando avaliados por meio do teste de desempenho contínuo, que avalia a capacidade de focar e sustentar a atenção durante a tarefa (TROMMER, HOEPPNER e ARMSTRONG, 1988; EPSTEIN et al., 2003), foram observados déficits na atenção sustentada (TUCHA et al., 2009).

Desta forma, a diminuição assimétrica relacionada à lateralização direita do núcleo caudado (SCHRIMSHER et al., 2002), associada a diminuição desta mesma região quando comparado ao lado esquerdo de pessoas com o transtorno (CASTELLANOS et al., 1996b), podem responder em parte os déficits atencionais, hiperatividade e também os prejuízos na compreensão social de portadores do TDAH (SCHRIMSHER et al., 2002; MILLER et al., 2006).

1.4. Modelos empregados para o estudo do TDAH em roedores

Apesar de modelos animais não refletirem com totalidade as desordens psiquiátricas humanas, podem servir para a obtenção de informações que não seriam possíveis a partir de estudos com humanos dadas as limitações das técnicas atualmente disponíveis (RUSSEL, 2011). Modelos animais do TDAH em roedores possuem genética mais homogênea, são menos dispendiosos e permitem maior número de animais experimentais, além de possuírem neurobiologia mais bem detalhada e conhecida do que primatas (RUSSEL et al., 2005).

Contudo, espera-se que em modelos em roedores desse transtorno haja a presença de algum dos sintomas como o déficit atencional, hiperatividade e/ou impulsividade (RHEE et al., 1999). Estas similaridades comportamentais podem representar parte da validade do modelo, contudo, outros aspectos devem ser observados e estão relacionados à capacidade de confirmar a fisiopatologia hipotetizada ou estabelecida para o transtorno – denominada como validade de construção – e a habilidade de prever aspectos da genética, comportamento e neurobiologia – denominada como validade preditiva – (SONTAG et al., 2010).

Portanto, podemos dividir em três categorias os modelos empregados para o estudo do TDAH em roedores: modelos genéticos, modelos induzidos por estresse e modelo induzidos quimicamente (SONTAG et al., 2010; BARI; ROBBINS, 2011; RUSSEL, 2011).

Os modelos genéticos incluem os ratos espontaneamente hipertensos (SONTAG et al.,

2010), que inicialmente foram desenvolvidos como modelo para hipertensão (BIANCHI; FOX; IMBASCIATI, 1973), porém a presença de hiperatividade (MOSER et al., 1988), bem como déficits relacionados a aprendizagem e impulsividade acabaram por estabelecê-los como um modelo animal para o TDAH (SAGVOLDEN et al. 1992; SAGVOLDEN et al., 1998), no entanto tais parâmetros variam de acordo com o teste comportamental utilizado, o que compromete a validade desse modelo (FERGUSON; CADA, 2003). Além deste, os camundongos nocaute para o DAT – estes camundongos possuem falta do transportador de dopamina – também possuem hiperatividade em ambientes novos e apresentam déficits na memória e aprendizagem (GIROS et al., 1996; GAINETDINOV; CARON, 2000; GAINETDINOV; CARON, 2001), contudo este modelo não possui comparação biológica com os paciente humanos, uma vez que diversos estudos apontam aumento dos níveis do DAT em crianças e adultos com TDAH (CHEON et al., 2003; DOUGHERTY et al., 1999; KRAUSE et al., 2000). Dentre os modelos genéticos destaca-se ainda os camundongos mutantes coloboma (SEARLE, 1966) – que possuem disfunção na SNAP-25, proteína essencial para o processo de fusão da vesícula com os neurotransmissores à membrana que culminam com a exocitose (liberação) destes na fenda sináptica – e apresentam neurodesenvolvimento atrasado e déficits comportamentais como hiperatividade motora e impulsividade (HESS et al., 1994; HEYSER et al., 1995; HESS et al., 1996; WILSON, 2000; BRUNO et al., 2007).

Os modelos induzidos por estresse incluem a anóxia neonatal que apresentam hiperatividade e prejuízos na memória espacial (DELL'ANNA et al., 1993; IUVONE et al., 1996; DELL'ANNA et al., 1999) e isolamento social que além de hiperatividade e déficits na memória e aprendizagem incluem, também, impulsividade, ansiedade e agressividade (DALLEY et al., 2002; KOIKE et al., 2009). Em camundongas o estresse materno (SON et al., 2007) também pode ser utilizado para modelo do TDAH com a apresentação de sintomas de hiperatividade na prole.

Os modelos induzidos quimicamente incluem o uso de 6-hidroxidopamina (6-OHDA) que destrói os neurônios dopaminérgicos e em ratos neonatos aumenta a hiperatividade que dura até a puberdade (SHAYWITZ; YAGER; KLOPPER, 1976; ERINOFF et al., 1979; ZHANG et al., 2002), porém este parâmetro tende a desaparecer até a fase adulta (SONTAG et al., 2010); a hipóxia neonatal é induzida por nitrogênio após o nascimento e inclui déficits comportamentais como hiperatividade e déficits na memória e aprendizagem (DELL'ANNA et al., 1993; SPEISER et al., 1983; SPEISER et al., 1988; GRAMATTÉ; SCHMIDT, 1985).

Outro modelo em ratos inclui a exposição pré-natal de etanol com a apresentação de déficits atencionais similares ao observado em indivíduos com TDAH (THOMAS et al., 2000; HAUSKNECHT et al., 2005; ATALAR; UZBAY; KARAKAS, 2016), enquanto que neste mesmo modelo foram encontradas hipoatividade no teste do campo aberto, menor ansiedade no teste do labirinto em cruz elevado e maior tempo de imobilidade no teste do nado forçado indicativo de comportamento tipo-depressivo (CARNEIRO et al., 2005).

A aplicação de etanol no período pós-natal, equivalente ao terceiro trimestre de desenvolvimento, está também correlacionada ao desenvolvimento de comportamentos típicos do TDAH que incluem déficit atencional e hipoatividade seguida de hiperatividade motora, sendo tais sintomas revertidos pelo uso de anfetaminas (FREDRIKSSON; ARCHER, 2004). De acordo com este estudo, tais efeitos não se devem apenas às alterações nas vias dopaminérgicas, mas incluem alterações antagônicas em receptores NMDA.

1.5. Tratamentos para o TDAH

Os tratamentos para o TDAH podem incluir terapias psicossociais (KNOUSE, 2008), terapias com medicamentos ou a combinação de ambos – o que caracteriza um tratamento multimodal – (JENSEN, 1999).

Uma das terapias psicossociais (comportamentais) empregadas no tratamento deste transtorno é a terapia cognitiva comportamental (KNOUSE; SAFREN, 2010). Além desta, a psicoeducação – que consiste no treinamento e conscientização das pessoas que convivem com os indivíduos com o transtorno – pode se apresentar como uma ferramenta útil no tratamento dos sintomas (DOPHEID et al., 2009), pois portadores do TDAH apresentam melhor desempenho em contextos estruturados. Ambientes caóticos (que podem incluir o lar, escola e trabalho) apenas exacerbam os sintomas e em indivíduos pré-escolares estas terapias são a primeira linha de tratamento, principalmente quando os sintomas do transtorno são mais brandos (VISSER et al., 2015). Destaca-se ainda que as intervenções comportamentais diminuem as taxas de delinquência e abuso de substâncias em jovens com TDAH (JENSEN et al., 2007; MOLINA et al., 2007).

Assim, Pelham e colaboradores (2005) estudaram a eficácia dos tratamentos psicossociais (com técnicas de modificação de comportamento) e tratamento medicamentoso (com uso de baixas doses de metilfenidato) isoladamente e de forma multimodal.

Isoladamente, ambas as abordagens foram eficazes, porém a combinação destas permitiu melhor desempenho dos indivíduos com TDAH (PELHAM et al., 2005). Contudo, as abordagens comportamentais não apresentam resultados universalmente efetivos para todos os pacientes (SHARMA; COUTURE, 2013) e apesar de apresentarem benefícios em longo prazo, diversos estudos comparam e apontam maiores benefícios com tratamentos medicamentosos (KEHOE, 2001; SWANSON et al., 2008; DOPHEIDE; PHARM; PLISZKA, 2009).

Originalmente, a melhora dos sintomas de hiperatividade por meio de tratamento medicamentoso foi realizada por Bradley (1937) que após tratamento com benzedrina, um medicamento estimulante, observou melhora no desempenho de indivíduos em fase escolar. Todavia, atualmente, os tratamentos medicamentosos para o TDAH incluem o uso de estimulantes e não estimulantes, bem como o uso de antidepressivos tricíclicos (BARRICKMAN et al., 1991; BIEDERMAN; SPENCER, 1999; CHILDRESS; BERRY, 2012; PARK, CABALLERO; OMIDIAN, 2014).

Dos estimulantes (medicamentos anfetamínicos e D-anfetamínicos, como o metilfenidato) utilizados para tratamento dos sintomas do TDAH, encontram-se os sais de anfetaminas misturados e a lisdexanfetamina. Este último é comercializado como Venvanse[®] e age como um pró-fármaco, ou seja, atua no organismo apenas após a sua biotransformação. Já o metilfenidato pode ser encontrado em quatro formas: dexmetilfenidato de liberação prolongada, comercializado como Focalin XR[®]; metilfenidato transdérmico, comercializado como Daytrana[®]; metilfenidato de liberação modificada, comercializado como Metadate CD[®]; e, por último, metilfenidato de liberação oral osmótica, comercializado como Concerta[®], Ritalina[®] ou Ritalina LA[®] (CHILDRESS; BERRY, 2012).

As anfetaminas e o metilfenidato são considerados igualmente eficazes para o tratamento em longo prazo do TDAH (PLISZKA, 2007b). Ambos possuem formulações de liberação imediata e prolongada com igual eficácia (SPENCER et al., 2006; WILENS et al., 2006), entretanto esta última oferece vantagens em ambientes como escola e trabalho (PLISZKA, 2007b), além de melhorar o desempenho na condução/direção de veículos (DOPHEIDE; PHARM; PLISZKA, 2009) e diminuição na suscetibilidade de serem utilizadas como droga de abuso (FARAONE, 2008). Porém, apenas as formas de liberação imediata devem ser utilizadas em crianças por conta dos riscos que envolvem a alta dosagem (PLISZKA et al., 2007c).

O metilfenidato (figura 1) é o estimulante mais empregado no tratamento do TDAH (BUIBELAAR; MEDORI, 2009) e é uma amina secundária derivada da piperidina (GATLEY et al., 1996), possuindo quatro isômeros óticos: D-treo, L-treo, D-eritro e L-eritro. Sua forma racêmica (mistura em quantidades iguais de dois enantiômeros) é composta pelos isômeros D,L-treo, mais ativos no sistema nervoso central e presentes nos medicamentos comercializados como Daytrapa[®], Metadate[®], Concerta[®] e Ritalina[®].

Figura 1. Estrutura bidimensional da molécula do metilfenidato

(FONTE: BERTAGLIA, 2016)

Como existem diferenças individuais relativas à responsividade ao metilfenidato, para evitar efeitos colaterais mínimos, a dose é, geralmente, aumentada lentamente a cada uma a três semanas (STEVENSON; WOLRAICH, 1989; PLISZKA et al., 2007; SHIER et al., 2013) a partir da dose inicial baseada no peso corpóreo (GREENFIELD; HECHMAN, 2005). Ainda assim, todas as formulações apresentam alto risco de dependência e uso abusivo (ADVOKAT, 2009; ADVOKAT; SCHEITHAUER, 2013), incluindo entre estudantes universitários (CRUZ et al., 2011; CESAR et al., 2012; BRANT; CARVALHO, 2012; PASQUINI et al., 2013; CARNEIRO et al., 2013; COLI, SILVA; NAKASU, 2016).

Nesse sentido, Nutt e colaboradores (2007) desenvolveram uma escala que avalia os danos atrelados ao uso de drogas e os potenciais usos como drogas de abuso. Nessa lista, quando associados aos danos físicos, o metilfenidato ocupou a 11ª posição, superando o tabaco, LSD, cannabis e ecstasy, entre outras.

Dentre os efeitos colaterais pode-se citar diminuição de apetite, irritabilidade, ansiedade, severo retiro social, tiques motores e diminuição do ganho de peso (HANDEN et al., 1991; PASTURA; MATTOS, 2004), insônia, dor abdominal, cefaleia, propensão ao choro, tonteira, náuseas, desinteresse, euforia, pesadelo, tristeza e olhar parado, além da dependência, possível redução de estatura e piora dos sintomas do comportamento desafiador opositivo em ambiente escolar (SCHACHAR et al., 1997; PASTURA; MATTOS, 2004) e graves efeitos cardiovasculares (SCHACHAR et al., 1997; PASTURA; MATTOS, 2004; ANTEL et al., 2015).

As anfetaminas e D-anfetaminas possuem mecanismo de ação onde ocorre glicosilação e subsequente inibição da proteína transportadora de dopamina – DAT – (SEIDEN e SABOL, 1993; SOLANTO, 1998; MADRAS et al., 2005; KIM et al., 2010), bem como inibição da proteína transportadora de noradrenalina – NAT – (KIM et al., 2010) e a proteína transportadora de serotonina – SERT – (GATLEY, 1996; KUCZENSKI, 1997; PARK et al., 2014; STEINKELLNER et al., 2015); com isso, impedem a receptação de dopamina, noradrenalina e serotonina, respectivamente, o que aumenta os níveis desses neurotransmissores na fenda sináptica. Além destes mecanismos apresentados, ambos os estimulantes inibem a monoamina oxidase (enzima responsável por metabolizar esses neurotransmissores), porém nesse sentido as anfetaminas são mais potentes (PLISZKA, 2005).

Dessa forma, o metilfenidato é capaz de aumentar os níveis de dopamina e noradrenalina no estriado, o que pode causar estereotipia e distúrbios motores como tics (VOLKOW et al., 2001), bem como aumenta o nível dessas catecolaminas no núcleo accumbens, o que pode explicar seu potencial como droga de abuso (KUCZENSKI; SEGAL, 1997; KUCZENSKI; SEGAL, 1999).

Em comparação com o DAT, o NAT é relativamente mais abundante no córtex pré-frontal e tem afinidade com a dopamina, realizando a sua recaptação (CARBONI; TANDA; DI CHIARA, 1990; YAMAMOTO; NOVOTNEY, 1998; BYMASTER et al., 2002; Soucy, 1997; MADRAS et al., 2005). Já a diminuição dos níveis da SERT está correlacionada ao

aumento de serotonina e recorrente diminuição da hiperatividade presente em portadores do TDAH (GAINETDINOV et al., 1999)

Com isso, a farmacoterapia para esse transtorno pode se basear na modulação dos sistemas noradrenérgico e/ou serotoninérgico (CHILDRESS; BERRY, 2012; PARK; CABALLERO; OMIDIAN, 2014). Assim, como tratamentos alternativos às anfetaminas e o metilfenidato destaca-se o uso de não estimulantes e antidepressivos tricíclicos.

Dentre os não estimulantes (SHARMA; COUTURE, 2013), inclui-se o uso de clonidina, comercializada como Atensina[®] e guanfacina, comercializada como Tenex[®]. Ambos são agonistas alfa₂adrenérgico de ação direta (CHILDRESS; BERRY, 2012); e, por fim, a atomoxetina, comercializada como Strattera[®], responsável por inibir a NAT e com uso indicado para indivíduos que não respondem ao tratamento com anfetaminas/metilfenidato e/ou possuam comorbidades como ansiedade e desordens depressivas. Contudo, estudos indicam que estes medicamentos podem não ser adequados para quase 30 % dos indivíduos com TDAH (SPENCER; BIEDERMAN; WILENS, 2004; WAXMONSKY, 2005).

Além destes, antidepressivos tricíclicos têm sido utilizados para amenizar os sintomas do transtorno e incluem o uso de imipramina e fluoxetina, que inibem a SERT, bem como a desipramina e a reboxetina, que inibem a NAT (BARRICKMAN et al., 1991; BIEDERMAN; SPENCER, 1999), além da venlafaxina que é responsável por inibir tanto a SERT quanto a NAT (BIERDERMAN e SPENCER, 1999).

1.6. Cloridrato de sibutramina

A sibutramina (figura 2A) é comercializada como Reductil[®] e inicialmente foi testada como antidepressivo (BUCKETT; THOMAS; LUSCOMBE, 1988; KING; DEVANEY, 1988). Posteriormente, um de seus metabólitos foi patenteado por Kiyoharu Ukai (1990) nos Estados Unidos (sob patente de número 4,939,175) por conta de sua potencial eficácia no tratamento de distúrbios na função cerebral, tal como na doença de Parkinson. Após, foi patenteada para o tratamento de disfunções sexuais (JERUSSI et al., 2002), hipertensão pulmonar (MENDEL et al., 2002), função menstrual (MENDEL et al., 2002b), doença cardiovascular (MENDEL et al., 2002c), síndrome da fadiga crônica (MENDEL et al., 2002d), hipotensão ortostática (MENDEL et al., 2002e) e desordens hiperativas (MENDEL et al., 2002f). Contudo, atualmente é utilizada como medicamento anorexígeno com a ação de

seus dois metabólitos, sendo o primário o N-desmethylsibutramina – M1 (figura 2B) – e o secundário N-di desmethylsibutramina – M2 (figura 2C) –, ambos farmacologicamente mais ativos que o composto principal (RYAN; KAISER; BRAY, 1995; ARAUJO; MARTEL, 2012).

Apesar de a sibutramina possuir atividade antiateratogênica e benefícios metabólicos que incluem o metabolismo da glicose, melhora da resistência à insulina, dislipidemia e marcadores inflamatórios (ANTEL et al., 2015), alguns efeitos colaterais descritos são constipação, insônia, dores de cabeça, náusea e anorexia, além de aumento da pressão sanguínea e da taxa de pulso, no entanto, pacientes com hipertensão podem ser prescritos com sibutramina, desde que haja acompanhamento médico (FLORENTIN; LIBEROPOULOS; ELISAF, 2007). Já o potencial aumento da frequência cardíaca apresentado pela sibutramina é, contudo, ainda menor que o apresentado pelo metilfenidato (ANTEL et al., 2015).

Figura 2. Estruturas bidimensionais: A) molécula de sibutramina; B) Metabólito primário da sibutramina, desmethylsibutramina (M1); C) Metabólito secundário da sibutramina, N-di desmethylsibutramina (M2)

(FONTE: BERTAGLIA, 2016)

O mecanismo de ação da sibutramina no sistema nervoso central consiste em inibir a recaptação de serotonina e norepinefrina através da glicosilação dos SERT e NAT, respectivamente (KING-DEVANEY, 1988; HOYOUNG et al., 2013); além disso, aumenta os níveis dopaminérgicos (BALCIOGLU et al., 2000; NAKAGAWA et al., 2001) devido a

inespecificidade do NAT em transportar dopamina, principalmente no córtex frontal (MADRAS et al., 2005).

Este mecanismo assemelha-se ao de medicamentos empregados no tratamento do TDAH, especialmente os antidepressivos tricíclicos. Contudo, não há estudos que investiguem a resposta ao tratamento com a sibutramina em modelos animais deste transtorno.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar os efeitos da administração prolongada de sibutramina e de metilfenidato em modelo animal do TDAH induzido pela exposição ao etanol no período pós-natal em camundongos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em camundongos expostos ou não ao etanol no DPN 10:

- Mensurar o ganho de peso corporal, consumo de água e ração de camundongos tratados durante 28 dias com sibutramina ou metilfenidato;
- Avaliar e comparar os efeitos da exposição prolongada ao metilfenidato e à sibutramina em camundongos observados no campo aberto, labirinto em cruz elevado, teste de suspensão pela cauda, reconhecimento de objetos e labirinto em T;
- Avaliar e comparar os efeitos da exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em camundongos quanto aos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos em diferentes áreas do sistema nervoso central.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram empregados camundongos Swiss, machos e fêmeas, provenientes do Biotério do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP). Todos os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno (43 x 23 x 16 cm), forradas com cama de sabugo de milho triturado, mantidas em uma sala com temperatura controlada por meio de equipamento de ar condicionado ($20 \pm 3^{\circ}\text{C}$) e com ciclo de doze horas de claro e escuro, sendo a luz acesa às 6:00 horas.

As camundongas nulíparas adultas foram acasaladas com machos (proporção de um macho para duas fêmeas). Uma vez detectada a prenhez, foi mantida uma fêmea por gaiola durante a gestação e lactação; após o desmame (21º dia pós-natal – DPN 21), as proles foram separadas e organizadas de acordo com seus respectivos grupos de tratamento.

A ração e água foram fornecidas *ad libidum* durante todo o procedimento experimental.

Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ/USP, sob o protocolo de número 4844200115.

3.2. Indução do TDAH em camundongos

Para indução do comportamento tipo-TDAH os camundongos receberam no 10º dia pós-natal (DPN 10) 5 g/kg (2 x 2,5 g/kg) de etanol (Synth), por via subcutânea, com duas injeções intervaladas em 2 horas (adaptado de Fredriksson; Archer, 2004). Os camundongos do grupo controle receberam pela mesma via volume idêntico de NaCl 0,9% (solução salina – 10 mL/kg), em duas injeções intervaladas de duas horas.

3.3. Drogas e tratamento

Foram empregados:

- sibutramina monoidratada (Farma Adrian's): foi administrada na dose de 10 mg/kg, por via oral (gavagem, figura 3). Essa dose foi escolhida considerando estudos prévios que

avaliaram os efeitos da sibutramina sobre o sistema serotoninérgico central (HEAL, 1998);

- metilfenidato (Ritalina® - Novartis Biociências S.A.): foi administrado na dose de 2 mg/kg, por via oral. Essa dose foi escolhida considerando estudos prévios que mostraram que os efeitos do metilfenidato obedecem a uma curva dose-resposta em “U” invertido, sendo esta uma dose intermediária (ARNSTEN; DUDLEY, 2005);

Os camundongos controle receberam água filtrada pela mesma via e volume (10 mL/kg).

Figura 3. Administração por via oral (gavagem) em camundongo no início de tratamento, entre os dias pós-natais (DPNs) 35 ao 45.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

O tratamento prolongado com sibutramina ou metilfenidato foi realizado inicialmente do DPN 35 ao 45, sendo a administração feita uma vez ao dia, por pelo menos 28 dias consecutivos. Essa duração do tratamento foi escolhida considerando o Protocolo OECD 407 para estudos de toxicidade oral de doses repetidas por 28 dias em roedores (OECD, 2008).

3.4. Avaliação clínica

Os animais foram observados diariamente quanto aos sinais de toxicidade, tais como: alterações nos pêlos, piloereção, convulsões, tremores, estado geral, além de comportamento agressivo.

O peso corpóreo foi avaliado uma vez por semana. O ganho de peso foi avaliado semanalmente, pela diferença entre o peso final menos o peso inicial.

O consumo médio de água e de ração foram avaliados uma vez por semana, considerando o número de camundongos por gaiola.

3.5. Avaliações comportamentais

3.5.1. Atividade geral no campo aberto

Originalmente o teste do campo aberto (*open field*) foi utilizado para estudar respostas comportamentais como a atividade motora, comportamento exploratório e emocionalidade em roedores (ARCHER, 1973; WALSH; CUMMINS, 1976). Mais recentemente, este teste tem sido empregado também para avaliar a ansiedade em roedores (PRUT; BELZUNG, 2003).

A avaliação da atividade geral no campo aberto consistiu na introdução do camundongo em uma arena circular com fundo preto fosco, elevada a 60 cm do solo (figura 4), com dimensões de 40 cm de diâmetro, circundada por uma parede com 20 cm de altura. Inicialmente o camundongo foi introduzido no centro da arena e o comportamento foi registrado por uma câmera de vídeo montada sobre o campo. Os camundongos foram observados e filmados, durante 30 minutos, sendo analisados os intervalos de 0 a 5 minutos, 15 a 20 minutos e 25 a 30 minutos. Os seguintes parâmetros foram avaliados através do *software* de análises comportamentais *Ethovision XT®* (*Ethovision; Noldus Information Technology, Leesburg, VA*): distância total percorrida (em cm), velocidade média (em cm/s), tempo de permanência (em s) nas zonas periférica, mediana e central, bem como tempo (em s) de imobilidade.

Todas as sessões foram conduzidas no período entre às 11h e 14h, sob luz ambiente de média intensidade do laboratório de comportamento. Entre as observações de cada animal, o campo aberto foi limpo com solução de álcool 5 %.

Figura 4. Arena circular do teste de campo aberto utilizada para avaliação da atividade geral de camundongos. A) visão superior da arena circular do campo aberto; B) representação das zonas da arena circular do campo aberto analisadas pelo *Ethovision XT*®.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

3.5.2. Comportamento no labirinto em cruz elevado

O labirinto em cruz elevado (figura 5) é um modelo empregado para avaliar a ansiedade em roedores (PELLOW et al., 1985). É constituído por uma plataforma em forma de cruz, preta e fosca, elevada a 40 cm do solo. A plataforma possui dois braços abertos (BAs), com dimensões de 30 cm de comprimento e 6 cm de largura. Estes braços são ortogonais a dois braços fechados (BFs), com dimensões de 30 cm de comprimento, 6 cm de largura e paredes laterais com 20 cm de altura. Os braços se comunicam entre si por uma zona central com 5 x 5 cm.

Para avaliação do comportamento o camundongo foi introduzido na zona central do labirinto, com a cabeça voltada para um dos braços fechados. A seguir, foram registrados durante 5 minutos o número de entradas e tempo de permanência nos BAs e BFs, a frequência em que o animal apresentou o comportamento de estirar o corpo e mergulhar a cabeça para fora dos limites da plataforma do BA (olhar para baixo ou *head-dipping*) e a frequência em que o animal estirou o corpo para farejar outra área sem sair da qual se encontra (avaliação de risco ou *stretched attend posture*), como descrito por PELLOW et al. (1985). Além disso, calculou-se a porcentagem de entradas nos braços abertos (%EBA) e porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (%TBA), de acordo com o cálculo apresentado a seguir:

$$\% \text{ entrada nos braços fechados (\% EBA)} = \text{EBA} \times 100 / \text{EBA} + \text{EBF}$$

$$\% \text{ tempo nos braços fechados (\% TBA)} = \text{TBA} \times 100 / \text{TBA} + \text{TBF}$$

Todas as sessões foram conduzidas no período entre às 11h e 14h, sob luz ambiente de média intensidade do laboratório de comportamento. Entre as observações de cada animal, o labirinto foi limpo com solução de álcool 5 %.

Figura 5. Aparato do labirinto em cruz elevado empregado para avaliar a ansiedade em camundongos, sendo (BA) braço aberto e (BF) braço fechado.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

3.5.3. Comportamento no teste de suspensão pela cauda

O teste de suspensão pela cauda visa investigar aspectos relacionados ao comportamento tipo-depressivo em camundongos (CASTAGNÉ et al., 2011; CAN et al., 2012). Para isso, foi empregada uma caixa de madeira com abertura frontal e paredes laterais de 50 cm de altura, pintadas de preto, contendo na porção superior um pequeno gancho (figura 6). Cada camundongo foi gentilmente suspenso pela cauda, e, com auxílio de fita adesiva, foi fixado, a aproximadamente 2 cm da porção inicial da cauda, no gancho, sendo observado durante 6 minutos contínuos. Foi quantificado o tempo de imobilidade de cada camundongo, parâmetro esse correlacionado ao comportamento depressivo do animal

(CASTAGNÉ et al., 2011). Entre as observações de cada animal, o aparato do teste de suspensão pela cauda foi limpo com solução de álcool 5 %.

Figura 6. Aparato utilizado no teste de suspensão pela cauda para camundongos: A) visão lateral e (B) visão frontal.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

3.5.4. Comportamento no teste de reconhecimento de objetos

O teste de reconhecimento de objetos pode ser utilizado para avaliar a atenção e a memória operacional de roedores (SILVERS et al., 2007; GOULART et al., 2010), baseando-se no comportamento natural destes em explorar o que é novidade (BERLYNE, 1950; ANTUNES; BIALA, 2012; LEGER et al., 2013).

O teste foi realizado na arena do campo aberto e o protocolo consistiu de três fases distintas: fase de habituação, fase de familiarização e o teste propriamente dito. Na fase de habituação (primeiro dia), o camundongo foi colocado no centro do campo aberto e permitiu-se a exploração da arena durante 5 minutos. No segundo dia, fase de familiarização (ou de aquisição), o camundongo foi colocado novamente na arena do campo aberto, porém, desta vez, na presença de dois objetos idênticos para a livre exploração durante 10 minutos. No terceiro dia, consistiu-se a sessão teste, quando o camundongo foi colocado novamente na arena do campo aberto, porém um dos objetos familiares foi substituído por um objeto novo (não familiar), permitindo livre acesso a exploração dos objetos por 10 minutos (figura 7).

Figura 7. Representação do protocolo do teste de reconhecimento de objetos (círculos cinzas e círculos superpostos róseos) realizado no campo aberto. As diferentes fases (habituação, familiarização e teste) foram realizadas em intervalos de 24 horas.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

A exploração dos objetos foi avaliada através do comportamento investigativo do camundongo (farejar ou tocar os objetos), considerando o tempo total (em segundos) de exploração do objeto familiar (círculo cinza da figura 6) e do objeto novo (círculos superpostos róseos da figura 6) por meio de um cronômetro digital. A partir desses dados foram calculados os índices de discriminação e preferência.

O índice de discriminação (ID) permite verificar a discriminação entre o objeto familiar (OF) e o objeto novo (ON). Para isso calculou-se a diferença entre o tempo gasto com o objeto novo e o familiar, dividido pelo tempo total de exploração em ambos objetos, como mostrado na fórmula a seguir:

$$ID = (T_{\text{tempoON}} - T_{\text{tempoOF}}) / (T_{\text{tempoON}} + T_{\text{tempoOF}})$$

Quanto à interpretação, o resultado do índice de discriminação pode variar entre +1 e -1, sendo que um escore positivo indica mais tempo gasto com o objeto novo e um escore negativo indica mais tempo gasto com o objeto familiar, enquanto um escore zero indica preferência nula (HAMMOND et al., 2004; AGGLETON, et al., 2010).

3.5.5. Comportamento no teste de alternância espontânea no labirinto em T

Por meio da alternância espontânea observada no labirinto em T é possível avaliar a memória espacial e aprendizado de camundongos (DUDCHENKO, 2004). O teste empregado

no presente estudo foi adaptado de DEACON e RAWLINS (2006) e KIRSTEN (2012). O aparato (figura 5) apresenta três braços de modo a formar um “T”, elevado 65 cm do chão. O braço direito (BD) e o braço esquerdo (BE) possuem dimensões iguais de 20 cm de comprimento e 5 cm de largura, com paredes laterais de 30 cm de altura e portinholas removíveis. O braço vertical (BV) possui 25 cm de comprimento e 5 cm de largura, com paredes laterais de 30 cm de altura e uma portinhola removível que o separa da área de partida (AP). A área de partida mede 10 x 5 x 30 cm.

Inicialmente, na fase de habituação, cada camundongo foi colocado, isoladamente, na AP do labirinto durante 10 segundos, e em seguida a tampa removível foi retirada, para livre exploração do aparato por 90 segundos. Cerca de 20 a 30 minutos após esse procedimento, num primeiro momento, denominado como escolha forçada, o braço esquerdo foi bloqueado e após 10 segundos na AP, o camundongo foi liberado (por 90 segundos) com a possibilidade de apenas explorar o braço direito, sendo retirado do teste imediatamente após a escolha. Entre 20 – 30 min após a escolha forçada, na etapa denominada de escolha livre, os dois braços (esquerdo e direito) estavam livres para exploração do camundongo após permanecer por 10 segundos dentro da AP; caso o camundongo não optasse por nenhum dos braços dentro de um período de 90 segundos, o teste era finalizado. Houve repetição da seção, 3 horas depois, com a inversão do braço a ser explorado na escolha forçada.

A entrada do camundongo no braço oposto ao explorado na etapa anterior caracterizou um acerto, enquanto o contrário foi caracterizado como erro. Aos animais foram atribuídos escores de acordo com o desempenho: escore 2 para animais que acertaram durante as duas escolhas livres o braço certo, escore 1 para animais que acertaram e erraram uma vez durante as escolhas livres e escore 0 para os animais que erraram todas as escolhas livres.

Figura 8. Labirinto em T empregado para avaliar a alternância espontânea de roedores. A) vista superior; B) demarcações das áreas e braços do aparato, sendo BD = braço direito, BE = braço esquerdo, BV = braço vertical, AP = área de partida e barras róseas indicam as portinholas removíveis.

FONTE: (BERTAGLIA, 2016).

3.5.6. Avaliação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos

Com o auxílio de guilhotina os camundongos foram decapitados. Cada encéfalo foi rapidamente retirado e colocado sobre uma placa de gelo de modo a obter-se o microambiente mais frio possível. Em seguida foram retirados o hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e

estriado, os quais foram acondicionados em microtubos e rapidamente colocados em nitrogênio líquido para rápido congelamento (este procedimento não excedeu o tempo de 3 minutos por camundongo). A seguir, as estruturas foram então pesadas e estocadas em freezer -80° C, até o momento da avaliação neuroquímica.

A avaliação dos níveis de neurotransmissores, bem como seus metabólitos foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), como descrito por Felicio et al., 1996. Sucintamente, as estruturas encefálicas congeladas foram homogeneizadas com o auxílio de uma caneta sonicadora de alta frequência e em solução gelada de ácido perclórico (ClHO₄) 0,1 M (Merck ®) contendo 0,02 % de metabissulfato de sódio (Na₂S₂O₅), EDTA dissódico e uma concentração conhecida de ácido 3,4-di-hidroxibenzilamina (DHBA, padrão interno). Estes homogenatos foram acondicionados em refrigerador (temperatura de 10° C *overnight*). Na manhã seguinte, o material foi centrifugado a 10.000 rpm (centrífuga Harrier 18/80 MSE da Sanyo® - refrigerada a 4° C), por um período de 30 minutos. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram retirados com auxílio de micropipeta automática, armazenados em microtubos e estocados em freezer -80° C para a realização da quantificação através de técnicas empregando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Foram quantificados:

- Dopamina (DA) e seus metabólitos, ácido 4,4-diidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovanílico (HVA);
- Noradrenalina (NOR) e seu metabólito, ácido vanil mandélico (VMA);
- Serotonina (5HT) e seu metabólito, ácido 5-hidroindol, 3-acético (5HIAA);

Foi calculado também *turnover* (taxa de renovação), por meio da relação metabólito/neurotransmissor, da DA e 5HT da seguinte forma: DOPAC/DA e 5HIAA/5-HT.

As análises das monoaminas (dopamina e serotonina) e seus metabólitos foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica (HPLC-ED) no Laboratório de Farmacologia Aplicada e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, como descrita por Felicio e colaboradores (1996). Para tanto foi empregado o cromatógrafo Shimadzu Modelo 20A, composto por um injetor automático com válvula injetora de volume variável (entre 1 e 100 µl), bombas de fluxo quaternárias, uma coluna cromatográfica (150 X 4,6 mm, Shimpak – ODS C 18) com filtro de

linha e um detector eletroquímico Antec Decade. Foi utilizada a técnica de cromatografia em fase reserva com pareamento iônico, que é baseada na cromatografia de partição ou absorção. Para as análises foi utilizada a temperatura de 50°C e o tempo de obtenção dos picos foi de até 24 minutos.

A fase móvel utilizada foi um sistema isocrático formado por tampão citrato 0,02 M, metanol 92:8 (v/v), 0,12 nM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) sódico e 0,0556% de ácido 1-heptanosulfônico (HSA). O pH foi ajustado para 3,0 com ácido ortofosfórico (H₃PO₄). A fase móvel foi filtrada em um sistema à vácuo antes de ser utilizada no HPLC-ED. Após esse procedimento ela circulou no sistema *overnight* para equilíbrio da coluna, que operou em um fluxo de 1 ml/min. O detector foi mantido com um potencial de 0,8 V no eletrodo de trabalho.

Para o preparo das soluções padrões de monoaminas foi utilizado padrões de concentrações 1 nM de cada neurotransmissor e seu metabólito diluídos em ácido clorídrico 0,1 M contendo 0,02% de metabissulfito de sódio e estocados em freezer -80°C por um período de até 2 meses. No momento da análise os padrões foram descongelados e diluídos de 2.500 a 10.000 vezes em ácido perclórico 0,1 M. Foram injetados pelo menos dois padrões no HPLC-ED diariamente, um antes e outro ao final das dosagens para a utilização dos valores como referência.

O equipamento foi padronizado diariamente, ao início e ao término do trabalho, com uma solução de trabalho, com concentração conhecida, de neurotransmissores, seus metabólitos e DHBA, empregando-se como diluente uma solução de ácido perclórico, 0,1M, contendo EDTA e metabissulfito de sódio.

O limite de detecção para todos os analitos variou entre 0,25 e 1 ng, o limite de quantificação foi de 10 ng/g de tecido cerebral ou 1,0 ng por 60 ng de sobrenadantes e a taxa de recuperação foi superior a 80%.

3.5.7. Análise estatística

Foi empregado o *software GraphPad Prism® 6* para a realização das análises estatísticas. O nível de significância crítico para todas as análises estatísticas realizadas foi de $p < 0,05$ (5 %).

Todos os *heatmaps* foram gerados no excel por meio da normalização (levando-se em consideração as médias e os erros padrão) dos grupos de tratamento de acordo com o respectivo parâmetro analisado (WILKINSON; FRIENDLY, 2009).

4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS

4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS

4.1. Experimento 1: Efeitos da exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em modelo do TDAH em camundongos observados no campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão pela cauda e avaliação neuroquímica

Foram empregados 57 camundongos (machos) que no DPN 10 foram pesados e divididos em dois grupos: etanol (n = 27) e salina (n = 30). Os camundongos do grupo etanol receberam 5 g/kg (2 x 2.5 g/kg) de etanol, conforme descrito no item 3.2. Os animais do grupo salina receberam NaCl 0,9% (2 x 5 ml/kg) pela mesma via. A avaliação clínica dos camundongos foi feita diariamente após a administração de etanol ou salina, na própria gaiola moradia, conforme descrito no item 3.4.

Entre os DPNs 35 – 45 os camundongos foram distribuídos em subgrupos conforme o respectivo tratamento medicamentoso realizado com sibutramina ou metilfenidato (via gavagem), por pelo menos 31 dias, a saber: etanol + água (10 mL/kg) n = 9; etanol + sibutramina (10 mg/kg), n = 10; etanol + metilfenidato (2 mg/kg), n = 8; salina + água, n = 10; salina + sibutramina (10 mg/kg), n = 10; e salina + metilfenidato (2 mg/kg), n = 10. Durante todo o tratamento prolongado foram registrados semanalmente o ganho de peso, o consumo de água e ração.

Após 28 dias de tratamento, entre os DPNs 64 – 74, os camundongos foram submetidos ao teste do campo aberto (conforme descrito no item 3.5.1.) seguido do teste do labirinto em cruz elevado (conforme descrito no item 3.5.2.). No dia seguinte, entre os DPNs 65 – 75, esses camundongos foram submetidos ao teste de suspensão pela cauda, conforme descrito no item 3.5.3. Posteriormente, entre os DPNs 66 – 76, os camundongos foram decapitados para a coleta das estruturas encefálicas e avaliação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos.

O tratamento com sibutramina ou metilfenidato foi continuado ao longo dos dias de testes comportamentais, assim como no dia da eutanásia para a obtenção das estruturas encefálicas.

4.1.1. Resultados

Em alguns animais houve a formação de leve escara no local da injeção de etanol, que desapareceu dentro de duas semanas. Em relação à avaliação clínica não foram observados sinais de toxicidade entre os diferentes tratamentos (água, metilfenidato ou sibutramina) durante o período experimental que totalizou 31 dias. Contudo, durante as gavagens diárias os animais de todos os grupos.

Ganho de peso semanal

A figura 9 apresenta o ganho de peso semanal dos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados com sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(3, 141) = 5,958, p < 0,0007$) e ao tratamento ($F(5, 47) = 3,938, p = 0,0046$), com interações entre os fatores ($F(15, 141) = 1,979, p = 0,0206$). O pós-teste de Tukey indicou, durante a primeira semana, redução do ganho de peso do grupo Et+sib ($p \leq 0,01$) quando comparado ao grupo Et+água.

Figura 9. Ganho de peso (g) semanal de camundongos tratados, por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 ao 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $b = p < 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey, em relação ao grupo Et+água.

Consumo de água e ração semanal

A figura 10A apresenta o consumo de água semanal ao longo de quatro semanas em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças significantes em relação ao tempo ($F(3, 15) = 3,342$, $p = 0,0478$) e ao tratamento ($F(5, 15) = 12,72$, $p = 0,0001$), sem interação entre os fatores. O pós-teste de Tukey apontou, durante a terceira semana, diminuição significativa nos animais dos grupos Sal+sib ($p \leq 0,05$) e Sal+met ($p \leq 0,05$), em relação ao grupo Sal+água.

A figura 10B apresenta o consumo de ração semanal ao longo de quatro semanas em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas não apontou diferenças significantes em relação ao tempo ($F(3, 15) = 3,267$, $p = 0,0509$) e ao tratamento ($F(5, 15) = 1,364$, $p = 0,2922$).

Figura 10. Consumo de água semanal (mL) e consumo de ração semanal (g) de camundongos tratados, por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 ao 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p < 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey: (a) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água.

Atividade geral no campo aberto

A figura 11A apresenta a distância total percorrida no campo aberto em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 160,5$, $p < 0,0001$) e ao tratamento ($F(2, 27) = 50,82$, $p < 0,0001$) com interação entre os fatores ($F(10, 102) = 2,220$, $p = 0,0221$). O pós-teste de Tukey apontou aumento na distância total percorrida pelos camundongos do grupo Sal+sib em relação ao grupo Sal+água nos intervalos de tempo de 0 – 5 minutos ($p \leq 0,05$), 15 – 20 minutos ($p \leq 0,0001$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,0001$). Houve aumento deste mesmo parâmetro pelo grupo Et+sib em relação ao grupo Et+água nos intervalos de tempo de 0 – 5 minutos ($p \leq 0,0001$), 15 – 20 minutos ($p \leq 0,0001$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,0001$).

A figura 11B apresenta a velocidade média percorrida no campo aberto em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias de medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 125,8$, $p < 0,0001$) e ao tratamento ($F(5, 51) = 46,64$, $p < 0,0001$) com interação entre os fatores ($F(10, 102) = 0,246$, $p = 0,0246$). O pós-teste de Tukey apontou aumento da velocidade média percorrida pelo grupo Sal+sib em relação ao grupo Sal+água nos intervalos de tempo de 15 – 20 minutos ($p \leq 0,0001$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,0001$). Houve aumento deste mesmo parâmetro pelo grupo Et+sib em relação ao grupo Et+água nos intervalos de tempo de 0 – 5 minutos ($p \leq 0,0001$), 15 – 20 minutos ($p \leq 0,0001$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,0001$).

A figura 11C apresenta o tempo de imobilidade no campo aberto em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias de medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 80,65$, $p < 0,0001$) e ao tratamento ($F(5, 51) = 13,50$, $p < 0,0001$) com interação entre os fatores ($F(10, 102) = 4,411$, $p = 0,0001$). O pós-teste de Tukey apontou aumento tempo de imobilidade pelo grupo Sal+sib em relação ao grupo Sal+água nos intervalos de tempo de 15 – 20 minutos ($p \leq 0,01$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,01$). Houve aumento deste mesmo parâmetro pelo grupo Et+sib em relação ao grupo Et+água nos intervalos de tempo de 15 – 20 minutos ($p \leq 0,01$) e 25 – 30 minutos ($p \leq 0,0001$).

Figura 11. Parâmetros da atividade geral no campo aberto de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. A observação comportamental foi feita após 28 dias de tratamento, durante 30 minutos por seção, sendo analisados três intervalos de cinco minutos. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p < 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas e pós-teste de Tukey: (a) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água.

A figura 12A apresenta o tempo de permanência na zona periférica do campo aberto pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 7,551$ $p = 0,0009$), mas não ao tratamento ($F(5, 51) = 1,218$, $p < 0,3143$) e sem interação entre os fatores ($F(10, 102) = 1,797$, $p = 0,00704$).

A figura 12B apresenta o tempo de permanência na zona mediana do campo aberto pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 6,680$ $p = 0,0019$), mas não ao tratamento ($F(5, 51) = 0,5284$, $p < 0,7537$) e sem interação entre os fatores ($F(10, 102) = 0,9715$, $p = 0,4728$).

A figura 12C apresenta o tempo de permanência na zona mediana do campo aberto pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de duas vias e medidas repetidas apontou diferenças estatisticamente significantes em relação ao tempo ($F(2, 102) = 10,14$, $p = 0,0001$), mas não ao tratamento ($F(5, 51) = 2,340$, $p < 0,0548$) e sem interação entre os fatores ($F(10, 102) = 1,887$, $p = 0,0554$).

Figura 12. Parâmetros da atividade geral no campo aberto de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. A observação comportamental foi feita após 28 dias de tratamento, durante 30 minutos por seção, sendo analisados três intervalos de cinco minutos. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%); $p > 0,05$ ANOVA de duas vias e medidas repetidas.

Comportamento no labirinto em cruz elevado

A figura 13A apresenta a porcentagem do número de entradas nos braços abertos em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis não apontou diferenças significantes entre os grupos (KW = 3,674, $p = 0,5972$).

A figura 13B apresenta a porcentagem da duração nos braços abertos pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis apontou diferenças significantes entre os grupos (KW = 15,23, $p = 0,0094$). O pós-teste de Dunn apontou aumento da porcentagem de duração nos braços abertos pelo grupo Et+met ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo Et+água.

Figura 13. Parâmetros do comportamento no labirinto em cruz elevado (% de entradas no braço aberto – BA – e % do tempo gasto no BA) de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; b = Análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn, em relação ao grupo Et+água.

A figura 14A apresenta a duração do tempo gasto na região do centro do labirinto em cruz elevado pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação ao tempo no centro entre os grupos ($F(5, 50) = 0,5144$, $p = 0,7641$).

A figura 14B apresenta a frequência em olhar para baixo (*head dipping*) pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação à frequência em olhar para baixo entre os grupos ($F(5, 51) = 1,762$, $p = 1,376$).

A figura 14C apresenta a frequência em estirar o corpo na avaliação de risco pelos camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação à frequência em olhar para baixo entre os grupos ($F(5, 51) = 8,786$, $p = 0,0001$). O pós-teste de Sidak indicou diminuição deste parâmetro pelo grupo Et+sib em relação ao grupo Et+água ($p \leq 0,05$).

Figura 14. Parâmetros do comportamento no labirinto em cruz elevado (duração do tempo de permanência no centro, *head dipping* e avaliação de risco) de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73 (DPN 63 ao 73). No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; b = significância estatística em relação ao grupo Et+água.

Comportamento no teste da suspensão pela cauda

A figura 15 apresenta o tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda em camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação à imobilidade entre os grupos ($F(5, 51) = 8,786$, $p = 0,0001$). O pós-teste de Sidak indicou aumento significativo no tempo de imobilidade do grupo Et+água ($p \leq 0,05$) e Sal+met ($p \leq 0,001$) em relação ao grupo Sal+água, enquanto houve diminuição deste parâmetro no grupo Et+sib ($p \leq 0,0001$) em relação ao grupo Et+água.

Figura 15. Tempo de imobilidade (segundos) no teste de suspensão pela cauda de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; $p < 0,05$ ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (a) e (s) em relação ao grupo Sal+água e (b) em relação ao grupo Et+água.

Avaliação dos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos

A figura 16A apresenta os níveis do metabólito DOPAC no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 56) = 5,311$, $p = 0,0005$). O pós-teste de Sidak

indicou diminuição nos níveis de DOPAC nos grupos Sal+sib ($p \leq 0,001$) e Sal+met ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo Sal+água.

A figura 16B apresenta os níveis de dopamina (DA) no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 55) = 1,669$, $p = 0,1576$).

A figura 16C apresenta os níveis do *turnover* de dopamina (DA) no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 52) = 6,895$, $p = 0,0001$). O pós-teste de Sidak indicou diminuição do *turnover* de dopamina no grupo Sal+sib ($p \leq 0,001$) em relação ao grupo Sal+água, bem como diminuição do grupo Et+sib em relação ao grupo Et+água ($p \leq 0,05$).

A figura 16D apresenta os níveis do metabólito 5HIAA no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 55) = 2,446$, $p = 0,0451$). O pós-teste de Sidak indicou diminuição nos níveis de 5HIAA no grupo Sal+sib ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo Sal+água.

A figura 16E apresenta os níveis de serotonina (5HT) no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 56) = 1,487$, $p = 0,2087$).

A figura 16F apresenta os níveis do *turnover* de serotonina (5HT) no estriado de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 54) = 0,4217$, $p = 0,8316$).

Figura 16. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no estriado de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p < 0,05$ ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (a) em relação ao grupo Sal+água. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.

A figura 17A apresenta os níveis do metabólito DOPAC no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 55) = 4,906$, $p = 0,0009$). O pós-teste de Sidak indicou aumento nos níveis de DOPAC no cerebelo do grupo Et+sib ($p \leq 0,01$) em relação ao grupo Et+água.

A figura 17B apresenta os níveis de dopamina (DA) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 52) = 1,452$, $p = 0,2214$).

A figura 17C apresenta os níveis do *turnover* de dopamina (DA) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 52) = 0,7597$, $p = 0,5830$).

A figura 17D apresenta os níveis do metabólito 5HIAA no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 53) = 0,2951$, $p = 0,9135$).

A figura 17E apresenta os níveis de serotonina (5HT) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 55) = 0,4231$, $p = 0,8306$).

A figura 17F apresenta os níveis do *turnover* de serotonina (5HT) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 51) = 0,4231$, $p = 0,7925$).

Figura 17. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no cerebelo de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p < 0,05$ ANOVA de uma via e pós-teste de Sidak: (b) em relação ao grupo Et+água. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.

A figura 18A apresenta os níveis do metabólito DOPAC no córtex pré-frontal (CPF) de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 49) = 1,855$, $p = 0,1195$).

A figura 18B apresenta os níveis de dopamina (DA) no córtex pré-frontal (CPF) de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 56) = 1,098$, $p = 0,3718$).

A figura 18E apresenta os níveis do *turnover* de dopamina (DA) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 49) = 1,855$, $p = 0,1195$).

A figura 18C apresenta os níveis de 5HIAA no córtex pré-frontal (CPF) de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 50) = 0,3146$, $p = 0,3146$).

A figura 18D apresenta os níveis de serotonina (5HT) no córtex pré-frontal (CPF) de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 53) = 1,260$, $p = 0,2951$).

A figura 18E apresenta os níveis do *turnover* de serotonina (5HT) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 50) = 0,8122$, $p = 0,5466$).

Figura 18. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no córtex pré-frontal de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p>0,05$ ANOVA de uma via. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.

A figura 19A apresenta os níveis de DOPAC no hipocampo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 54) = 0,4907$, $p = 0,7817$).

A figura 19B apresenta os níveis de dopamina (DA) no hipocampo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 54) = 0,3108$, $p = 0,9044$).

A figura 19C apresenta os níveis do *turnover* de dopamina (DA) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 51) = 0,9392$, $p = 0,4638$).

A figura 19D apresenta os níveis de 5HIAA no hipocampo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 54) = 1,647$, $p = 0,1635$).

A figura 19E apresenta os níveis de serotonina (5HT) no hipocampo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 54) = 0,1528$, $p = 0,9783$).

A figura 19F apresenta os níveis do *turnover* de serotonina (5HT) no cerebelo de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A ANOVA de uma via não apontou diferenças significantes em relação aos diferentes tratamentos ($F(5, 52) = 3,084$, $p = 0,0164$).

Figura 19. Níveis de neurotransmissores e seus metabólitos e respectivos *turnover* no hipocampo de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2 mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73, sendo a avaliação neuroquímica realizada após 31 dias de tratamento; $p > 0,05$ ANOVA de uma via. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético, DA = dopamina, 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético, 5HT = serotonina.

4.2. Experimento 2: Efeitos da exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em modelo do TDAH em camundongos no teste de reconhecimento de objetos e no labirinto em T

Foram empregados 44 camundongos (machos) submetidos ao mesmo protocolo do Experimento 1, distribuídos em subgrupos de acordo com o tratamento medicamentoso realizado por período prolongado com sibutramina ou metilfenidato, a saber: etanol + sibutramina (10 mg/kg), $n = 7$; etanol + metilfenidato (2 mg/kg), $n = 6$; etanol + água (10 mL/kg), $n = 7$; salina + sibutramina (10 mg/kg), $n = 8$; salina + metilfenidato (2 mg/kg), $n = 8$; e salina + água, $n = 8$.

A partir dos DPNs 35 – 45 iniciou-se o tratamento medicamentoso e, após 28 dias, entre os DPNs 64 – 74, os camundongos foram submetidos ao teste do labirinto em T (conforme descrito no item 3.5.5.). Nos dias seguintes, entre os DPNs 65 – 75, os camundongos foram submetidos ao teste de reconhecimento de objetos (conforme descrito no item 3.5.4.).

4.2.1. Resultados

Comportamento no teste de reconhecimento de objetos

A figura 20 apresenta o índice de discriminação no teste de reconhecimento de objetos de camundongos que receberam solução salina ou etanol no DPN 10, tratados a partir do DPN 35 – 45 com água, sibutramina ou metilfenidato. A análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis apontou diferenças significantes em relação a esse parâmetro entre os grupos ($KW = 21,39$, $p = 0,0007$). O pós-teste de Dunn indicou diminuição no índice de discriminação do grupo Et+água ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo Sal+água, bem como aumento deste mesmo parâmetro no grupo Et+met ($p \leq 0,01$) em relação ao grupo Et+água.

Figura 20. Índice de discriminação no teste de reconhecimento de objetos de camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento; Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn: (s) em relação ao grupo Sal+água ($p < 0,05$) e (b) em relação ao grupo Et+água ($p < 0,01$).

Comportamento no teste de alternância espontânea no labirinto em T

A figura 21 (*heatmap* 1) ilustra as medianas dos dados não paramétricos (em escore) atribuídos aos diferentes grupos durante duas diferentes sessões experimentais ocorridas no período da manhã e tarde. Foram atribuídos escore de acordo com o desempenho dos camundongos, sendo escore 1 para camundongos que erraram a alternância espontânea nos braços do labirinto em T durante as duas sessões, escore 1,5 para animais que acertaram e erraram uma sessão e escore 2 para animais que acertaram em ambas sessões. Os resultados expressos próximos à coloração vermelha indicam maior número de erros, enquanto os resultados expressos próximos à coloração amarela indicam maior número de acertos. A análise destes dados indicam maior número de erros do grupo Et+água em relação ao grupo Sal+água, enquanto o grupo Sal+met apresentou melhor desempenho em comparação com o grupo Sal+água, resultado semelhante ao obtido pelo grupo Et+met em comparação ao grupo Et+água.

Figura 21. (Heatmap 1) Mediana dos escores relativos à alternância espontânea no labirinto em T. Foram relacionadas às medianas atributos condicionais, indicando-se os erros (vermelho) e acertos (amarelo) dos camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento.

Escala																						
1	1,05	1,1	1,15	1,2	1,25	1,3	1,35	1,4	1,45	1,5	1,55	1,6	1,65	1,7	1,75	1,8	1,85	1,9	1,95	2		
Grupos																						
	Sal+água				Sal+sib				Sal+met				Et+água				Et+sib				Et+met	
Mediana	1,50				1,50				2,00				1,00				1,50				1,75	

Heatmap dos testes comportamentais realizados após a exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em camundongos induzidos ou não ao TDAH

A figura 22 (*heatmap 2*) apresenta a média normalizada considerando a média e o desvio padrão dos diferentes grupos de tratamento de acordo com o respectivo parâmetro analisado para cada teste comportamental. A maior ocorrência/valor do evento é indicada pelo atributo condicional vermelho, enquanto a menor ocorrência/valor do parâmetro é indicada pelo atributo condicional amarelo, já a coloração alaranjada indica proximidade dos valores à média obtida para o respectivo parâmetro.

Os camundongos do grupo Sal+sib e Et+sib apresentaram perfis semelhantes e obtiveram maior distância total percorrida e maior velocidade média percorrida, bem como menor tempo de imobilidade em relação aos demais grupos em todos os intervalos de tempo no campo aberto, enquanto os grupos Sal+met e Et+met, também com perfis semelhantes, apresentaram menor ocorrência nesses mesmos parâmetros, com exceção do aumento no parâmetro de imobilidade no campo aberto.

No labirinto em cruz elevado o grupo Sal+met apresentou maior número de entradas nos braços abertos, bem como maior tempo no centro em relação aos salinas. Semelhantemente o grupo Et+met apresentou maior duração nos braços abertos, maior duração no centro, bem como aumento no número de vezes em que olharam para baixo.

Na suspensão pela cauda tanto o grupo Sal+met quanto Et+água apresentaram maior tempo de imobilidade, enquanto os grupos Sal+sib e Et+sib apresentaram menor ocorrência neste mesmo parâmetro.

O índice de discriminação no teste de reconhecimento de objetos indica maior tempo de exploração do objeto novo pelos grupos Sal+sib e Sal+met, bem como do grupo Et+met, enquanto o grupo Sal+água manteve-se mais próximo à média. Já os grupos Et+água e Et+sib exploraram menos o objeto novo

Figura 22. (Heatmap 2) Média normalizada entre os diferentes grupos de acordo com o parâmetro comportamental observado nos testes do campo aberto, labirinto em cruz elevado, suspensão da cauda (SC) e reconhecimento de objetos (RO), indicando-se maior ocorrência (vermelho) e menor ocorrência (amarelo) dos respectivos eventos em camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento.

***Heatmap* das análises neuroquímicas realizadas após a exposição prolongada à sibutramina e ao metilfenidato em camundongos induzidos ou não ao TDAH**

A figura 23 (*heatmap* 3) apresenta a média normalizada considerando a média e o desvio padrão dos diferentes grupos de tratamento de acordo com o respectivo evento analisado para cada parâmetro neuroquímico. O maior valor do parâmetro é indicado pelo atributo condicional vermelho, enquanto o menor valor do parâmetro é indicado pelo atributo condicional amarelo, já a coloração alaranjada indica proximidade dos valores à média obtida para o respectivo parâmetro.

No estriado, o grupo Sal+água obteve maiores níveis de todos os neurotransmissores e seus respectivos metabólitos, bem como maior *turnover* de dopamina. O perfil apresentado pelo grupo Sal+sib indicou menores níveis de DOPAC, 5HIAA, 5HT e VMA, bem como menor *turnover* de dopamina, enquanto no grupo Et+sib houve aumento nos níveis de VMA menores níveis de DOPAC, 5HIAA e menor *turnover* de dopamina. O grupo Sal+met apresentou aumento no *turnover* de dopamina, e menores níveis de VMA, DA, 5HIAA e 5HT, enquanto o grupo Etmet apresentou menores níveis de DOPAC e 5HT.

No cerebelo o grupo Sal+sib apresentou aumento de dopamina, 5HIAA e serotonina, enquanto no grupo Et+sib houve aumento de dopamina, DOPAC e maior *turnover* de dopamina. Já o grupo Sal+met apresentou aumento de 5HIAA e do *turnover* de serotonina menor nível de serotonina, enquanto no grupo Et+met houve aumento de VMA e redução nos níveis de DOPAC, 5HT e menor *turnover* de dopamina e serotonina.

No córtex pré-frontal os grupos Sal+sib e Et+sib apresentaram perfis semelhantes, com menores níveis de VMA, DOPAC, dopamina, 5HIAA e menor *turnover* de serotonina. O grupo Sal+met apresentou maior *turnover* de dopamina e *turnover* de serotonina, bem como redução

de HVA, enquanto no grupo Et+met houve aumento de dopamina e menores níveis de DOPAC e menor *turnover* de dopamina.

No hipocampo o grupo Sal+água apresentou redução nos níveis de VMA, DOPAC, dopamina, 5HIAA, serotonina e HVA. O grupo Sal+sib apresentou redução níveis de VMA, dopamina, 5HIAA, serotonina e menor *turnover* de dopamina e aumento de HVA em relação aos demais grupos. O grupo Et+sib apresentou aumento nos níveis de DOPAC, bem como redução nos níveis de VMA, 5HIAA e HVA, além de menor *turnover* de serotonina. O grupo Sal+met apresentou aumento no *turnover* de dopamina, *turnover* de serotonina e aumento nos níveis de 5HIAA, enquanto no grupo Et+met houve redução nos níveis de 5HIAA e no *turnover* de serotonina.

Figura 23. (Heatmap 3) Média normalizada entre os diferentes grupos de acordo com o parâmetro neuroquímico analisado, indicando-se maior valor (vermelho) e menor valor (amarelo) dos respectivos parâmetros em camundongos tratados por via oral, durante quatro semanas com água (10 mL/kg), sibutramina (sib – 10 mg/kg) ou metilfenidato (met – 2mg/kg) a partir dos dias pós-natais 35 – 45 (DPN 35 ao 45) até os DPNs 63 – 73. No DPN 10 os camundongos receberam, por via subcutânea, 5 g/kg de etanol (Et) ou 10 mL/kg de solução salina (Sal – NaCl 0,9%), sendo a observação comportamental realizada após 28 dias de tratamento. DOPAC = ácido 4,4-diidroxifenilacético; DA = dopamina; 5HIAA = ácido 5-hidroindol, 3-acético; 5HT = serotonina.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho foi empregado o modelo de TDAH em camundongos, no qual o etanol é administrado no DPN 10. Esse dia compreende a fase do *brain growth spurt*, período em que ocorre importante desenvolvimento do sistema nervoso central de ratos e camundongos (DOBBING; SANDS, 1979; SEMPLE et al., 2013). Portanto, como o álcool possui função de causar neuroapoptose no sistema nervoso central durante este período (FREDRIKSSON; ARCHER, 2004), diversos são os prejuízos causados pela sua administração em camundongos.

A densidade sináptica no córtex somatossensorial aumenta abruptamente durante o DPN 10 (MICHEVA; BEAULIEU, 1996; DE FELIPE et al., 1997; RICE; BARONE, 2000) e neste mesmo dia inicia-se a mielinização (WIGGINS, 1985), bem como ocorre aumento da densidade sináptica e arborização dendrítica, ambos importantes para a memória de trabalho (HERSCHKOWITZ et al., 1997). Assim, a exposição ao álcool neste período causa transtornos importantes nas funções cerebrais e, como o álcool apresenta cinética de ordem zero, pode afetar diretamente o desenvolvimento cerebral durante o DPN 11 e é durante este período que ocorre grande aumento no número de células de proteína fibrilar glial (GFAP) no hipocampo (CATALANI et al., 2002), responsáveis por formar filamentos envolvidos com a maturação de astrócitos no sistema nervoso central (BRENNER, 1994), além de aumento de células da micróglia (ALLIOT et al., 1999). Danos cerebrais ainda no DPN 11 podem resultar em déficits na aprendizagem (HUH; RAGHUPATHI, 2007).

No presente estudo, a administração de etanol no DPN 10 causou certa mortalidade dos camundongos tratados, provavelmente pelo fato da dose de 5 g/kg de etanol estar próxima da DL50 em camundongos (MALCOLM; ALKANA, 1983; TSIBULSKY; AMIT, 1992). Além disso, foi observado que o tratamento com sibutramina causou comportamento de esquiva em relação ao manipulador, quando os animais eram retirados da gaiola moradia, tanto nos grupos Sal+sib, quanto Et+sib ao longo do tratamento.

Sabe-se que o tratamento com metilfenidato é capaz de causar diminuição no ganho de peso (FARAONE et al., 2008). No presente trabalho, porém, não houve alterações significantes relacionadas a este parâmetro.

O consumo de água do grupo Sal+sib foi maior durante a terceira semana quando em comparação com o grupo Sal+água (figura 10A), porém ao longo das semanas restantes não houveram alterações significantes. Resultado semelhante foi encontrado no grupo Sal+met, com aumento do consumo de água durante a terceira semana, porém foram alterações pontuais e mostraram-se não relevantes.

A sibutramina é um medicamento eficiente para causar redução de peso corporal em seres humanos (NISOLI; CARRUBA, 2000) e pode também causar redução no ganho de peso em camundongos (DAY; BAILEY, 1998). No entanto, no presente trabalho não houve redução significativa do peso ao longo das quatro semanas de tratamento no grupo Sal+sib; contudo, observou-se redução durante a primeira semana no grupo Et+sib (figura 10B).

O modelo animal para o TDAH, descrito por Fredriksson e Archer (2004), e empregado no presente trabalho, relatava inicialmente marcante hipoatividade motora seguida de hiperatividade motora após 40 minutos de teste. Nossos resultados relativos à atividade motora no campo aberto corroboram tais achados, onde a média da distância total percorrida pelo grupo Et+água mostrou menor tendência em explorar o aparato que o grupo Sal+água durante os cinco primeiros minutos de teste, porém nos intervalos seguintes a média da distância total percorrida pelo grupo Et+água foi superior ao grupo Sal+água. Da mesma forma que a ANOVA, o *heatmap* mostrou que o grupo Et+água possui perfil de exploração semelhante ao grupo Sal+água, e deixa de caracterizar a hiperatividade, um dos comportamentos presentes em alguns indivíduos com TDAH.

Outros estudos avaliaram os efeitos da aplicação de etanol durante o período pré-natal (RILEY, 1990) e em neonatos (WOZNIAK et al., 2004) e observaram disfunções que, ao longo do desenvolvimento, foram amenizadas com a ação de mecanismos compensatórios (RILEY, 1990; WOZNIAK et al., 2004), o que pode explicar possíveis alterações no comportamento dos camundongos adultos.

Considerando que os roedores possuem tendência natural para explorar ambientes novos (HUGHES, 1997), Fink e colaboradores (1980), após lesionarem os terminais dopaminérgicos mesolímbicocorticais de camundongos com 6-hidroxidopamina, observaram hipoatividade no campo aberto, mostrando que alterações nos níveis de dopamina cortical podem alterar o comportamento de exploração espontânea de roedores. No mesmo sentido, Carneiro e colaboradores (2005) avaliaram o efeito da exposição ao etanol durante o período gestacional e observaram hipoatividade no campo aberto em ratos no DPN 21, acompanhada

de regulação negativa no funcionamento dos receptores dopaminérgicos.

Além das possíveis alterações dopaminérgicas que possam diminuir parcialmente a atividade locomotora dos camundongos do grupo Et+água, outra possibilidade é o medo à novidade ou a ambiente intimidador, como já observado por Poltyrev e colaboradores (1996) em ratos estressados no período pré-natal, bem como maior latência para se familiarizar com o aparato, o que possivelmente caracterizaria um estado de desatenção.

Como já bem estabelecido em seres humanos com TDAH (WEISS; HECHTMAN, 1979; BUITELAAR; MEDORI, 2009) e em modelos animais desse transtorno (SHAYWITZ et al., 1976; FREDRIKSSON; ARCHER, 2004), baixas doses de anfetaminas mostram-se eficazes para o tratamento da hiperatividade. Desta forma, nossos resultados corroboram esses achados, pois a distância total percorrida e a velocidade média percorrida pelos grupos Sal+met e Et+met foram menores que dos seus respectivos controles tratados com água. Nesse sentido, o parâmetro de imobilidade nestes grupos tratados com metilfenidato foi maior, o que reafirma o potencial do metilfenidato em amenizar os possíveis sintomas de hiperatividade.

Já em relação ao tratamento com sibutramina, não há muitos estudos que avaliem seus efeitos na atividade geral no campo aberto. Contudo, Jorge e colaboradores (2004), após tratamento agudo com sibutramina na dose de 10 mg/kg, a mesma empregada no presente estudo, não encontraram alterações no comportamento de ratos. Já nossos resultados mostram que o uso prolongado de sibutramina aumenta a atividade locomotora, pois os grupos Sal+sib e Et+sib tiveram maior distância total percorrida, velocidade média percorrida e menor tempo de imobilidade em comparação com seus respectivos controles tratados com água, demonstrando-se a hiperatividade. Assim, tal efeito marcante no comportamento no campo aberto pode estar associado a um dos principais efeitos adversos da sibutramina: a insônia (RYAN, 2000). A insônia é responsável por induzir comportamento hiperativo (GESSA et al., 1995) e é utilizada para este fim em camundongos (NIJIMA-YAOITA et al., 2016).

O tratamento em ratos durante os DPNs 8 a 21 com o antidepressivo clomipramina – inibidor da receptação principalmente de serotonina (HYTTEL; OVERO; ARNT, 1984), além da noradrenalina (Moreno et al., 1999) – é capaz de gerar hiperatividade no campo aberto durante fase adulta (HANSEN; SÁNCHEZ; MEIER, 1997), o que indica participação do sistema serotoninérgico importante no desenvolvimento da hiperatividade. Nossos resultados sugerem que a modulação do sistema serotoninérgico pela sibutramina pode ser responsável

pelo aumento da atividade locomotora, tanto no grupo salina quanto no etanol. Desta forma, a sibutramina poderia atuar como um agente que induziria e serviria como modelo de hiperatividade em camundongos.

Roedores naturalmente têm preferência pela zona periférica do campo aberto (PRUT; BELZUNG, 2003); portanto, a mensuração do tempo gasto pelos camundongos nas diferentes zonas do aparato (mediana, central e periférica) pode servir como parâmetro para avaliar a ansiedade, considerando que a preferência pela zona central indicaria menor ansiedade.

No presente trabalho, o resultado quanto à permanência nas diferentes zonas do campo aberto do grupo Sal+met não diferiu do seu controle salina, o que indica ausência de efeitos do metilfenidato na ansiedade. Este resultado corrobora o achado de Britton e Bethancourt (2009) que, após exposição prolongada ao metilfenidato em ratos, não observou alterações na ansiedade. Contudo, durante o intervalo de 0 – 5 minutos o grupo Et+met (figura 22) permaneceu maior tempo na região central do campo aberto, o que pode indicar alterações no sistema nervoso central dos camundongos que foram expostos ao etanol no DPN 10, favorecendo um potencial ansiolítico do metilfenidato neste modelo.

Ainda em relação à exploração nas diferentes zonas do campo aberto, o grupo Sal+sib indica ausência de efeitos da sibutramina na ansiedade. Este dado corrobora os achados de outros estudos (JORGE et al., 2004; FRASSETO et al., 2010). Por outro lado, como ilustra a figura 12C, não houve nenhuma diferença significativa no tempo de exploração do grupo Et+sib na zona central do campo aberto durante o intervalo de 0 – 5 minutos, apesar da tendência deste grupo em explorar menos esta região. Já o figura 22 indica menor tempo gasto pelo grupo Et+sib neste mesmo parâmetro, sugestivo de maior ansiedade, o que pode indicar alterações no sistema nervoso central dos camundongos que foram expostos ao etanol no DPN 10, favorecendo a manifestação de ansiedade induzida pela sibutramina.

O labirinto em cruz elevado é empregado para avaliar a ansiedade em roedores e baseia-se na aversão natural que estes apresentam a espaços abertos e elevados (HANDLEY; MITHANI, 1984; PELLOW et al., 1985). Nossos resultados sugerem que a exposição no DPN 10 ao etanol não foi capaz de alterar o comportamento dos camundongos no labirinto em cruz elevado, uma vez que obtiveram perfil semelhante ao grupo Sal+água (figura 10 A, B e figura 22).

Crawford e colaboradores (2013) trataram ratos com metilfenidato do DPN 11 ao 20 e

avaliaram os seus efeitos na ansiedade, no DPN 60. No labirinto em cruz elevado o perfil do metilfenidato foi ansiogênico, enquanto no procedimento CPP (*conditioned place preference*), semelhante ao teste claro-escuro, os ratos apresentaram perfil ansiolítico. Já Zhu e colaboradores (2010) observaram os efeitos do tratamento agudo com metilfenidato na ansiedade de ratos durante o DPN 22 e os resultados indicaram um perfil ansiolítico, o que corrobora o achado de Carrey e colaboradores (2000) que obtiveram um padrão ansiolítico no labirinto em cruz elevado. Em nossos resultados, o grupo Sal+met entrou mais vezes nos braços abertos, porém, o tempo de permanência não foi maior (figura 10 A e B, figura 22). Esses achados indicam que o metilfenidato não foi capaz exercer influência na ansiedade dos camundongos. Já o grupo Et+met permaneceu maior tempo nos braços abertos em relação a seu controle tratado com água, o que indica ação ansiolítica do metilfenidato neste modelo do TDAH, o que torna tal abordagem medicamentosa interessante, dada as possíveis comorbidades existentes com o TDAH, como, por exemplo, a ansiedade (BIEDERMAN et al., 1993).

Apesar do mecanismo ação apresentado pela sibutramina assemelhar-se ao dos antidepressivos e estes poderem apresentar também efeito ansiolítico (ARGYROPOULOS; SANDFORD; NUTT, 2000), em nosso trabalho, no labirinto em cruz elevado, o grupo Sal+sib não diferiu do seu grupo controle tratado com água, o que nos permite afirmar que o tratamento prolongado com sibutramina não exerceu efeitos sobre a ansiedade dos camundongos. Este resultado corrobora os de Santos e colaboradores (2014), que, após avaliar os efeitos agudos da sibutramina em ratas, não obteve alterações significantes quanto à ansiedade no labirinto em cruz elevado, bem como por Frassetto e colaboradores (2010), que observaram ausência de efeitos da sibutramina após tratamento agudo na avaliação da ansiedade de ratos.

Já a observação do perfil apresentado pelo grupo Et+sib (figura 22) no labirinto em cruz elevado indica menor tempo de permanência no braço aberto, enquanto a ANOVA apontou como não significante. Esses achados associado ao aumento do número de avaliações de risco desse grupo no labirinto em cruz elevado (figura 14C) sugerem possível tendência ansiogênica da sibutramina neste modelo do TDAH.

O teste de suspensão pela cauda pode ser utilizado para *screening* da potencial ação antidepressiva apresentada por medicamentos (STERU et al., 1985), sendo a análise do tempo de imobilidade dos camundongos como parâmetro afirmativo para o comportamento tipo-

depressivo. Nossos resultados (figura 15 e figura 22) apontam maior tempo de imobilidade do grupo Et+água, o que caracteriza um estado tipo-depressivo em relação ao seu grupo tratado com água. Deve ser salientado que a depressão é uma das comorbidades presente em indivíduos com TDAH (BIEDERMAN et al., 1993; MILL, 2007; STROHMEIER et al., 2015).

Nossos resultados indicam que o tratamento com metilfenidato em camundongos do grupo salina (grupo Sal+met, figura 15 e figura 22) foi capaz de produzir efeito tipo-depressivo. Ressalte-se aqui que, levando-se em consideração o uso do metilfenidato como droga de abuso (FARAONE, 2008) e até mesmo por indivíduos saudáveis pode favorecer a ocorrência de depressão, o que poderia agravar essa prática, tornando-se uma preocupação ainda maior em Saúde Pública. Já o grupo Et+met obteve diminuição do comportamento tipo-depressivo em comparação com o grupo Et+água (figura 22); portanto, o metilfenidato reverteu parcialmente o comportamento tipo-depressivo ocasionado pelo etanol.

Corroborando nossos achados, recentemente, Takamatsu e colaboradores (2015) observaram redução do tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda após o tratamento com metilfenidato. Porém, neste estudo, como modelo de TDHA foram empregados camundongos *knockout* para o DAT, os quais foram suspensos pela cauda por 30 minutos, tratados intraperitonealmente com alta dose de metilfenidato (30 mg/kg) e novamente foram suspensos por mais 180 minutos. Esse protocolo de observação comportamental difere bastante do utilizado no presente trabalho, que empregou 6 minutos de suspensão pela cauda, conforme descrito por Steru e colaboradores (1985), bem como a indução de TDHA pela exposição pós-natal ao etanol (FREDRIKSSON; ARCHER, 2004) e 2 mg/kg (via oral) de metilfenidato.

Chudasama e Bhatt (2009) estudaram os efeitos da administração de sibutramina (5 mg/kg, via oral, por quatro semanas) em ratos obesos, não sendo observado redução do tempo de imobilidade (isto é, reversão do comportamento tipo-depressivo), contudo, neste mesmo estudo obteve efeito antidepressivo da sibutramina no teste do nado forçado. No nosso trabalho, observou-se tendência de redução no tempo de imobilidade do grupo Sal+sib em relação ao seu controle tratado com água (figura 9), porém, como observado na figura 22, nota-se efeito antidepressivo da sibutramina, o que é corroborado por outros estudos (KIORTSIS et al., 2008; CHUDASAMA; BATH, 2009). Já no grupo Et+sib observa-se que a sibutramina foi capaz de reverter o efeito tipo-depressivo ocasionado pela aplicação de etanol

(figura 15 e figura 22).

A habilidade de reter e de manipular informações na memória de trabalho depende do córtex pré-frontal (GOLDMAN-RAKIC, 1987; FUSTER, 2001) e as disfunções nesse tipo de memória são bem descritas e presentes no TDAH (BARKLEY, 1997; KUNTSI, OOSTERLAAN; STEVENSON, 2001; MARIANI; BARKLEY, 1997; RAPPORT et al., 2000). Para avaliar a memória de trabalho o teste de reconhecimento de objetos é eficiente, além de permitir investigar a atenção, ansiedade e preferência pela novidade em roedores (GOULART et al., 2010; SILVERS et al., 2007) e pode ser utilizado para mensurar os efeitos de tratamentos farmacológicos e possíveis danos cerebrais (GOULART et al., 2010), dada a natural preferência dos roedores às novidades (HUGHES, 1997). Assim, em nosso trabalho utilizamos este teste para avaliar tanto os efeitos do etanol, quanto os efeitos da sibutramina (grupos Sal+sib e Et+sib) e do metilfenidato (grupos Sal+met e Et+met) em camundongos saudáveis (grupo Sal+água) e camundongos no modelo de TDAH (grupo Et+água).

A análise dos nossos resultados foi realizada por meio do índice de discriminação. Os valores, distribuídos entre -1 (indicador de menor exploração do objeto novo) e +1 (indicador de maior exploração do objeto novo) apontam menor discriminação/reconhecimento dos objetos novos pelo grupo Et+água em relação ao seu grupo controle (Sal+água). Desta forma, o tratamento com etanol causou prejuízos à memória de trabalho e a atenção do grupo Et+água (figura 20, figura 22), o que indica a presença de uma característica marcante do TDAH (KLINGBERG et al., 2013; HOLMES et al., 2014). Entretanto, apesar de o metilfenidato não ter sido capaz de melhorar tais parâmetros no grupo Sal+met em relação ao grupo Sal+água foi capaz de diminuir os déficits na memória de trabalho e atenção do grupo Et+met (figura 20 e figura 22), o que é corroborado por HEYSER e colaboradores (2013). Esses autores observaram que o metilfenidato foi capaz de melhorar o déficit de aprendizagem em camundongos *knockout* para DARPP-32.

Em relação aos efeitos da sibutramina no teste de reconhecimento de objetos, não foi possível encontrar trabalhos na literatura. Nossos resultados indicam que a sibutramina não foi capaz de alterar a memória de trabalho e a atenção do grupo Sal+sib em comparação com o grupo Sal+água, nem reverter os efeitos deletérios do etanol na memória de trabalho e atenção (figura 20 e figura 22), indicando ausência de efeitos da sibutramina nestes parâmetros.

No presente trabalho, empregamos o labirinto em T sem o uso de recompensa

(alimento) e, por meio da alternância espontânea natural presente nos camundongos (DEMBER; FOWLER, 1958), avaliamos a memória de trabalho e a atenção. Há trabalhos que avaliam a memória e a atenção, seja no labirinto em T ou em outros protocolos, utilizando recompensa (alimento) que estimulam o roedor a aprender e, assim, avaliam a memória e a atenção, como é o caso do estudo de Fredriksson e Archer (2004), que utilizaram o labirinto radial de oito braços. Em nosso trabalho não empregamos recompensa pelo fato da sibutramina ser um medicamento anorexígeno, o que poderia ocasionar viés metodológico.

No labirinto em T, o grupo Et+água apresentou menor alternância espontânea em relação ao grupo Sal+água (figura 22). Isso indica que o modelo de TDAH utilizado neste trabalho mostra prejuízos na memória de trabalho e atenção, resultado corroborado por KISHIKAWA e colaboradores (2014) que avaliou este mesmo parâmetro em ratos SHR, um modelo animal para o TDAH.

Arnsten e Dudley (2005) avaliaram os efeitos de diferentes doses de metilfenidato em ratos por meio do labirinto em T e observaram melhor desempenho em baixas doses (1.0 - 2.0 mg/kg, via oral). Este resultado corrobora nosso achado, onde houve melhora no número de alternâncias espontâneas no grupo Sal+met. No grupo Et+met houve aumento na frequência deste parâmetro; portanto, o metilfenidato foi capaz de reverter os efeitos deletérios causados pelo etanol na memória de trabalho e na atenção, resultado corroborado por Shaywitz, Klopfer e Gordon (1978), que, após tratamento agudo com metilfenidato, obtiveram melhor desempenho no labirinto em T em camundongos lesionados com 6-hidroxidopamina, modelo animal para o TDAH.

Não foram encontrados estudos que avaliem o papel da sibutramina na alternância espontânea de roedores (labirinto em T ou Y), contudo, em nosso trabalho a sibutramina não alterou a frequência deste parâmetro. Já no grupo Et+sib a sibutramina foi capaz de aumentar a alternância espontânea e, portanto, foi capaz de melhorar a memória de trabalho e atenção no labirinto em T (figura 21).

Os efeitos da administração de metilfenidato e de sibutramina nos níveis de neurotransmissores e respectivos metabólitos cerebrais foram examinados em quatro áreas cerebrais: estriado, cerebelo, córtex pré-frontal e hipocampo.

O estriado faz parte dos núcleos da base e participa do controle de movimentos voluntários (HIKOSAKA; TAKIKAWA; KAWAGOE, 2000). Essa estrutura é formada por

três núcleos: o caudado, o putâmen e o estriado ventral (BÁEZ-MENDOZA; SCHULTZ, 2013). O corpo estriado também está relacionado com o sistema de recompensa do cérebro e com a tomada de decisões, sendo, portanto, uma região importante no abuso de drogas (BÁEZ-MENDOZA; SCHULTZ, 2013; DO et al., 2016).

O cerebelo, também chamado de cérebro posterior, está localizado sobre o tronco cerebral e se conecta com o mesencéfalo e com a medula. Esta estrutura está envolvida principalmente com a função motora do organismo (SEMRUD-CLIKEMAN; ELLISON, 2009).

O córtex pré-frontal está localizado no lobo frontal, região mais anterior do encéfalo que engloba também o córtex motor primário, o córtex pré-motor e o córtex medial (DAMASIO; ANDERSON, 2003). O córtex pré-frontal se conecta com diversas regiões do encéfalo e desempenha papel importante em diversas funções complexas, como julgamentos, planejamento motor e pensamento fundamentado (SEMRUD-CLIKEMAN; ELLISON, 2009).

O hipocampo é uma estrutura cerebral que desempenha papel importante para a cognição e faz parte do sistema límbico. Essa estrutura pode ser dividida em duas regiões: a região dorsal, que atua no aprendizado-memória, e a região ventral, relacionada com as emoções (FANSELOW; HONG-WEI-DONG, 2010).

No presente estudo não se observaram alterações tanto nos níveis de neurotransmissores e seus metabólitos, como também em seus respectivos *turnovers* no cerebelo, córtex pré-frontal e hipocampo. Vale acrescentar que Fredriksson e Archer (2004), após administração de etanol em camundongos no DPN 10, não observaram alterações funcionais ou degeneração celular no hipocampo, córtex frontal e cerebelo durante análise histológica realizada no DPN 11.

Já no estriado foi constatada diminuição nos níveis do metabólito DOPAC nos grupos Sal+met e Sal+sib, enquanto nos grupos Sal+sib e Et+sib observou-se redução do *turnover* de DOPAC/DA. No grupo Sal+sib houve também redução dos níveis do metabólito 5HIAA. Esses achados indicam que tanto a sibutramina como o metilfenidato interferiram com a função do sistema dopaminérgico estriatal, e a sibutramina foi capaz também de interferir com a função do sistema serotoninérgico nesse local.

A redução na atividade dopaminérgica estriatal observada nos camundongos tratados

com sibutramina poderia explicar a hiperatividade observada no campo aberto, uma vez que em seres humanos com TDAH, a hiperatividade tem sido associada com a baixa atividade dopaminérgica estriatal (LOU; HENRICKSON; BRUHN, 1989; VOLKOW et al., 2009).

Os resultados tomados em conjunto permitiram mostrar que o tratamento com sibutramina e metilfenidato causaram poucas alterações no ganho de peso e no consumo de água e ração dos camundongos. Em relação às avaliações comportamentais, o modelo animal empregado no presente estudo, embora não tenha sido capaz de mostrar hiperatividade nos camundongos, revelou a principal característica do TDAH em seres humanos, que é o déficit de atenção, caracterizado pelo menor índice de discriminação no teste de reconhecimento de objetos e pela menor frequência de alterações espontâneas no labirinto em T, além de evidenciar comportamento tipo-depressivo, uma comorbidade frequente em indivíduos com TDAH. Quanto ao tratamento farmacológico, o metilfenidato foi capaz de reduzir a atividade geral observada no campo aberto, enquanto a sibutramina teve efeito oposto; no labirinto em cruz elevado, o metilfenidato mostrou um perfil ansiolítico e a sibutramina reverteu o comportamento tipo-depressivo no teste da suspensão pela cauda; nos testes de memória-aprendizado e atenção, o metilfenidato foi capaz de reverter os déficits cognitivos em ambos testes, enquanto a sibutramina foi capaz de melhorar a performance apenas no labirinto em T. As avaliações neuroquímicas cerebrais, revelaram redução da atividade dopaminérgica no estriado dos camundongos tratados com sibutramina, sendo esta redução menos pronunciada no grupo tratado com metilfenidato.

6. CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho mostraram que:

- No modelo animal do TDAH induzido pela exposição ao etanol no período pós-natal, os camundongos apresentaram hipoatividade no campo aberto seguida de aumento da atividade, não causou alterações no comportamento avaliado no labirinto em cruz elevado, mostraram comportamento tipo-depressivo no teste de suspensão pela cauda, apresentaram déficit na memória de trabalho e atenção no teste de reconhecimento de objetos e no labirinto em T;
- O tratamento prolongado com sibutramina e metilfenidato não alterou o ganho de peso semanal e consumo de água e ração dos camundongos;
- A exposição prolongada ao metilfenidato normalizou o comportamento dos camundongos no campo aberto, enquanto a sibutramina causou hiperatividade;
- A exposição prolongada ao metilfenidato causou efeito ansiolítico no labirinto em cruz elevado nos camundongos, enquanto a sibutramina não alterou os níveis de ansiedade;
- A exposição prolongada ao metilfenidato ocasionou comportamento tipo-depressivo nos camundongos salina no teste de suspensão pela cauda, enquanto a sibutramina reverteu os efeitos depressivos do etanol;
- A exposição prolongada ao metilfenidato melhorou o déficit na memória de trabalho e atenção no teste de reconhecimento de objetos, enquanto a sibutramina não promoveu alterações;
- Tanto a exposição prolongada à sibutramina quanto ao metilfenidato melhoraram a memória de trabalho e atenção dos camundongos que receberam etanol no labirinto em T.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ACAP Work Group on Quality Issues. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**. 2007; 46:894-921.

ADVOKAT, C. D.; SCHEITHAUER, M. Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) stimulant medications as cognitive enhancers. **Frontiers in neuroscience**, v. 7, p. 82, 2013.

ADVOKAT, C. What exactly are the benefits of stimulants for ADHD?. **Journal of attention disorders**, v. 12, n. 6, p. 495-498, 2009.

AGGLETON, J. P.A., M. M.; AGGLETON, D. J.; POIRIER, G. L.; PEARCE, J. M. Lesions of the rat perirhinal cortex spare the acquisition of a complex configural visual discrimination yet impair object recognition. **Behavioral neuroscience**, v. 124, n. 1, p. 55, 2010.

ALBAYRAK, Ö. P. C.; VOLCKMAR, A. L.; CICHON, S.; HOFFMANN, P.; NÖTHEN, M. M.; JOCKEL, K.H.; SCHREIBER, S.; WICHMANN, H.E.; FARAONE, S.V.; NEALE, B.M.; HERPEETZ-DAHLMANN, B.; LEHMKUHL, G.; SINZIG, J.; RENNER, T.J.; ROMANOS, M.; WARNKE, A.; LESCH, K.P.; REIF, A.; SCHIMMELMANN, B.G.; SCHERAG, A.; HEBEBRAND, J.; HINNEY, A. Common obesity risk alleles in childhood attention-deficit/hyperactivity disorder. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 162, n. 4, p. 295-305, 2013.

ALEXANDER, G. E.; DELONG, M. R.; STRICK, PETER L. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. **Annual review of neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 357-381, 1986.

ALLIOT, F.; GODIN, I.; PESSAC, B.. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain. **Developmental Brain Research**, v. 117, n. 2, p. 145-152, 1999.

AMARAL, D. G.; SINNAMON, H. M. The locus coeruleus: neurobiology of a central noradrenergic nucleus. **Prog. Neurobiol.** V. 9, 147–196, 1977.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: texto revisado (DSM-V)**. Artmed, 2013.

ANTEL, J.; ALBAYRAK, Ö.; HEUSCH, G.; BANASCHEWSKI, T.; HEBEBRAND, J. Assessment of potential cardiovascular risks of methylphenidate in comparison with sibutramine: do we need a SCOUT (trial)? **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 265, n. 3, p. 233-247, 2015.

ANTUNES, M.; BIALA, G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cognitive processing**, v. 13, n. 2, p. 93-110, 2012.

ARAUJO, J. R.; MARTEL, F. Sibutramine effects on central mechanisms regulating energy homeostasis. **Current neuropharmacology**, v. 10, n. 1, p. 49-52, 2012.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.

ARNOLD, L.; EUGENE BOZZOLO, H.; HOLLWAY, J.; COOK, A.; DISILVESTRO, R. A.; BOZZOLO, D. R.; WILLIAMS, C. Serum zinc correlates with parent-and teacher-rated inattention in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Journal of Child & Adolescent Psychopharmacology**, v. 15, n. 4, p. 628-636, 2005.

ARNSTEN, A. F. T.; DUDLEY, A. G. Methylphenidate improves prefrontal cortical cognitive function through $\alpha 2$ adrenoceptor and dopamine D1 receptor actions: Relevance to therapeutic effects in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. **Behavioral and Brain Functions**, v. 1, n. 1, p. 2, 2005.

ATALAR, E. G.; UZBAY, T.; KARAKAŞ, S. Modeling Symptoms of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in a Rat Model of Fetal Alcohol Syndrome. **Alcohol and Alcoholism**, v. 51, n. 6, p. 684-690, 2016.

AXELROD, J. The pineal gland: a neurochemical transducer. **Science**, v. 184, n. 4144, p. 1341-1348, 1974.

BAKHSHANI, NM. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and High Risk Behaviors. **International journal of high risk behaviors & addiction**, v. 2, n. 1, p. 1, 2013.

BALCIOGLU, A.; WURTMAN, R. J. Sibutramine, a serotonin uptake inhibitor, increases dopamine concentrations in rat striatal and hypothalamic extracellular fluid. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 12, p. 2352-2359, 2000.

BANERJEE, T. D.; MIDDLETON, F.; FARAONE, S. V. Environmental risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. **Acta paediatrica**, v. 96, n. 9, p. 1269-1274, 2007.

BARI, A.; ROBBINS, T. W. Animal models of ADHD. In: **Molecular and Functional Models in Neuropsychiatry**. Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 149-185.

BARKLEY, R. A. Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. **Psychological bulletin**, v. 121, n. 1, p. 65, 1997.

BARKLEY, R. A. Challenges in diagnosing adults with ADHD. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 69, n. 12, p. e36, 2008.

BARKLEY, R. L. A.; SMITH, K. M., FISCHER, M., & NAVIA, B. An examination of the behavioral and neuropsychological correlates of three ADHD candidate gene polymorphisms (DRD4 7+, DBH TaqI A2, and DAT1 40 bp VNTR) in hyperactive and normal children followed to adulthood. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 141, n. 5, p. 487-498, 2006.

BARRICKMAN, L. N. R.; KUPERMAN, S.; SCHUMACHER, E.; VERDA, M. Treatment of ADHD with fluoxetine: a preliminary trial. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 30, n. 5, p. 762-767, 1991.

BATTY, M. J.; LIDDLE, E. B.; PITOT, A.; TORO, R.; GROOM, M. J.; SCERIF, G.; LIOTTI, M.; LIDDLE, P.F.; PAUS, T.; HOLLIS, C. Cortical gray matter in attention-deficit/hyperactivity disorder: a structural magnetic resonance imaging study. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 49, n. 3, p. 229-238, 2010.

BAUERMEISTER, J. J.; SHROUT, P. E.; CHÁVEZ, L.; RUBIO-STIPEC, M.; RAMÍREZ, R.; PADILLA, L.; ANDERSON, A.; GARCÍA, P.; CANINO, G. ADHD and gender: are risks and sequela of ADHD the same for boys and girls?. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 48, n. 8, p. 831-839, 2007.

BEAULIEU, JM.; GAINETDINOV, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacological reviews**, v. 63, n. 1, p. 182-217, 2011.

BENSKEY, M.; BEHROUZ, B.; SUNRYD, J.; PAPPAS, S. S.; BAEK, S. H.; HUEBNER, M.; LOOKINGLAND, K. J.; GOUDREAU, J. L. Recovery of hypothalamic tuberoinfundibular dopamine neurons from acute toxicant exposure is dependent upon protein synthesis and associated with an increase in parkin and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase-L1 expression. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 3, p. 321-331, 2012.

BERQUIN, P. C.; GIEDD, J. N.; JACOBSEN, L. K.; HAMBURGER, S. D.; KRAIN, A. L.; RAPOPORT, J. L.; CASTELLANOS, F. X. Cerebellum in attention-deficit hyperactivity disorder A morphometric MRI study. **Neurology**, v. 50, n. 4, p. 1087-1093, 1998.

BHATARA, V.; LOUDENBERG, R.; ELLIS, R. Association of attention deficit hyperactivity disorder and gestational alcohol exposure: an exploratory study. **Journal of Attention Disorders**, v. 9, n. 3, p. 515-522, 2006.

BIANCHI, G.; FOX, U.; IMBASCIATI, E. The development of a new strain of spontaneously hypertensive rats. **Life sciences**, v. 14, n. 2, p. 339-347, 1974.

BIEDERMAN, J.; BOELLNER, S. W.; CHILDRESS, A.; LOPEZ, F. A.; KRISHNAN, S.; ZHANG, Y. Lisdexamfetamine dimesylate and mixed amphetamine salts extended-release in children with ADHD: a double-blind, placebo-controlled, crossover analog classroom study. **Biological psychiatry**, v. 62, n. 9, p. 970-976, 2007.

BIEDERMAN, J.; FARAONE, S. V.; PETTY, C.; MARTELON, M.; WOODWORTH, K. Y.; WOZNIAK, J. Further evidence that pediatric-onset bipolar disorder comorbid with ADHD represents a distinct subtype: results from a large controlled family study. **Journal of psychiatric research**, v. 47, n. 1, p. 15-22, 2013.

BIEDERMAN, J.; FARAONE, S. V.; SPENCER, T.; WILENS, T.; NORMAN, D.; LAPEY, KA.; MICK, E.; LEHMAN, BK.; DOYLE, A. Patterns of psychiatric comorbidity, cognition, and psychosocial functioning in adults with attention deficit hyperactivity disorder. **Am J Psychiatry**, v. 150, n.12, p. 1792-1798, 1993.

BIEDERMAN, J.; KWON, A.; ALEARDI, M.; CHOUINARD, V. A.; MARINO, T.; COLE, H.; FARAONE, S. V. Absence of gender effects on attention deficit hyperactivity disorder: findings in nonreferred subjects. **American Journal of Psychiatry**, v. 162, n. 6, p. 1083-1089, 2005.

BIEDERMAN, J.; SPENCER, T. Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. **Biological psychiatry**, v. 46, n. 9, p. 1234-1242, 1999.

BJÖRKLUND, A.; DUNNETT, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends in neurosciences**, v. 30, n. 5, p. 194-202, 2007.

BOOSTER, G. D. DUPAUL, G. J.; EIRALDI, R.; POWER, T. J. FUNCTIONAL impairments in children with ADHD: Unique effects of age and comorbid status. **Journal of Attention Disorders**, v. 16, n. 3, p. 179-189, 2012.

BOTVINICK, M. M.; BRAVER, T. S.; BARCH, D. M.; CARTER, C. S.; COHEN, J. D. Conflict monitoring and cognitive control. **Psychological review**, v. 108, n. 3, p. 624, 2001.

BOUCHARD, M. F.; BELLINGER, D. C.; WRIGHT, R. O.; WEISSKOPF, M. G. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. **Pediatrics**, v. 125, n. 6, p. e1270-e1277, 2010.

BRADLEY, C. The behavior of children receiving benzedrine. **American journal of Psychiatry**, v. 94, n. 3, p. 577-585, 1937.

BRANT, L. C.; CARVALHO, T. R. F. Methylphenidate: medication as a "gadget" of contemporary life/Metilfenidato: medicamento gadget da contemporaneidade/Metilfenidato: medicamento gadget de la contemporaneidad. **Interface: Comunicação Saúde Educação**, v. 16, n. 42, p. 623-637, 2012.

BRENNER, M.; KISSEBERTH, W. C.; SU, Y.; BESNARD, F.; MESSING, A. GFAP promoter directs astrocyte-specific expression in transgenic mice. **Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 3, p. 1030-1037, 1994.

BRIGGS-GOWAN, Margaret J. Carter, A. S., Clark, R., Augustyn, M., McCarthy, K. J., & Ford, J. D. Exposure to potentially traumatic events in early childhood: differential links to emergent psychopathology. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 51, n. 10, p. 1132-1140, 2010.

BRITTON, Gabrielle B.; BETHANCOURT, J. A. Characterization of anxiety-related responses in male rats following prolonged exposure to therapeutic doses of oral methylphenidate. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 93, n. 4, p. 451-459, 2009.

BRUNO, K. J. FREET, C. S.; TWINING, R. C.; EGAMI, K.; GRIGSON, P. S.; HESS, E. J. Abnormal latent inhibition and impulsivity in coloboma mice, a model of ADHD. **Neurobiology of disease**, v. 25, n. 1, p. 206-216, 2007.

BUCKETT, W. R.; THOMAS, P. C.; LUSCOMBE, G. P. The pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54 524), a new antidepressant which induces rapid noradrenergic down-regulation. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 12, n. 5, p. 575-584, 1988.

BUITELAAR, J.; MEDORI, R. Treating attention-deficit/hyperactivity disorder beyond symptom control alone in children and adolescents: a review of the potential benefits of long-acting stimulants. **European child & adolescent psychiatry**, v. 19, n. 4, p. 325-340, 2010.

BYMASTER, F. P.; KATNER, J. S.; NELSON, D. L.; HEMRICK-LUECKE, S. K.; THRELKELD, P. G.; HEILIGENSTEIN, J. H.; MORIN, S. M.; GEHLERT, D. R.; PERRY, K. W. Atomoxetine increases extracellular levels of norepinephrine and dopamine in prefrontal

cortex of rat: a potential mechanism for efficacy in attention deficit/hyperactivity disorder. **Neuropsychopharmacology**, v. 27, n. 5, p. 699-711, 2002.

CALLAHAN, P. M.; DE LA GARZA, R.; CUNNINGHAM, K. A. Mediation of the discriminative stimulus properties of cocaine by mesocorticolimbic dopamine systems. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 57, n. 3, p. 601-607, 1997.

CAN, A.; DAO, D. T.; TERRILLION, C. E.; PIANTADOSI, S. C.; BHAT, S.; GOULD, T. D.. The tail suspension test. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 59, p. e3769-e3769, 2012.

CARBONI, E.; TANDA, G. L.; FRAU, R.; CHIARA, G. D. Blockade of the noradrenaline carrier increases extracellular dopamine concentrations in the prefrontal cortex: evidence that dopamine is taken up in vivo by noradrenergic terminals. **Journal of neurochemistry**, v. 55, n. 3, p. 1067-1070, 1990.

CARNEIRO, L. M. V.; DIÓGENES, J. P. L.; VASCONCELOS, S. M.; ARAGÃO, G. F.; NORONHA, E. C.; GOMES, P. B.; VIANA, G. S. Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. **Neurotoxicology and teratology**, v. 27, n. 4, p. 585-592, 2005.

CARNEIRO, L. M. V.; DIÓGENES, J. P. L.; VASCONCELOS, S. M.; ARAGÃO, G. F.; NORONHA, E. C.; GOMES, P. B.; VIANA, G. S. Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. **Neurotoxicology and teratology**, v. 27, n. 4, p. 585-592, 2005.

CARNEIRO, S. G.; PRADO, A. S. T. DE JESUS, A. E. C.; MOURA, H. C.; STRAPASSON, J. F.; RABELO, N. F.; RIBEIRO, T. T. O uso não prescrito de metilfenidato entre acadêmicos de Medicina. **Cadernos UniFOA**, n. 1, p. 53-59, 2013.

CARREY, N. M. F. P.; SPARKES, S. J.; KHAN, S. C.; KUSUMAKAR, V. Glutamatergic changes with treatment in attention deficit hyperactivity disorder: a preliminary case series. **Journal of child and adolescent psychopharmacology**, v. 12, n. 4, p. 331-336, 2002.

CARREY, NORMAND; MCFADYEN, MELANIE P.; BROWN, RICHARD E. Effects of subchronic methylphenidate hydrochloride administration on the locomotor and exploratory behavior of prepubertal mice. **Journal of child and adolescent psychopharmacology**, v. 10, n. 4, p. 277-286, 2000.

CASTAGNÉ, V.; MOSER, P.; ROUX, S.; PORSOLT, R. D. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. **Curr Protoc Neurosci**, v. 55, n. 8.10, p. 1-8.10, 2011.

CASTELLANOS, F. X.; GIEDD, J.N.; ECKBURG, P.; MARCH, W.L.; VAITUZIS, A.C.; KAYSEN, D.; HAMBURGER, S.D.; RAPOPORT, J.L. Quantitative morphology of the caudate nucleus in attention deficit hyperactivity disorder. **American Journal of Psychiatry**, v. 151, n. 12, p. 1791-1796, 1994.

CASTELLANOS, F. X.; GIEDDY, J. N.; VAITUZIS, A. C.; DICKSTEIN, D. P.; SARFATTI, S. E.; VAUSS, Y. C.; SNELL, J. W.; LANGE, N.; KAYSEN, D.; KRAIN, A. L.; RITCHIE, G. F.; RAJAPAKSE, J. C.; RAPOPORT, J. L. Quantitative brain magnetic resonance imaging in attention-deficit hyperactivity disorder. **Archives of general psychiatry**, v. 53, n. 7, p. 607-616, 1996

CASTELLANOS, F. X.; LEE, P. P.; & SHARP, W. Developmental Trajectories of Brain Volume Abnormalities in Children and Adolescents With Attention-deficit/hyperactivity Disorder. **Year Book of Psychiatry & Applied Mental Health**, v. 2004, n. 1, p. 47-48, 2004

CATALANI, A.; SABBATINI, M.; CONSOLI, C.; CINQUE, C.; TOMASSONI, D.; AZMITIA, E.; ANGELUCCIA, L.; AMENTA, F. Glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in developing rat hippocampus. **Mechanisms of ageing and development**, v. 123, n. 5, p. 481-490, 2002.

CESAR, E L. D. R.; WAGNER, G. A., CASTALDELLI-MAIA, J. M., SILVEIRA, C. M., ANDRADE, A. G. D., & OLIVEIRA, L. G. D. Uso prescrito de cloridrato de metilfenidato e correlatos entre estudantes universitários brasileiros. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 39, n. 6, p. 183-188, 2012.

CHEON, K.; RYU, Y. H.; KIM, Y. K., NAMKOONG, K.; KIM, C. H.; LEE, J. Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [123 I] IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. **European journal of nuclear medicine and molecular imaging**, v. 30, n. 2, p. 306-311, 2003.

CHILDRESS, A. C.; BERRY, S. A. Pharmacotherapy of attention-deficit hyperactivity disorder in adolescents. **Drugs**, v. 72, n. 3, p. 309-325, 2012.

CHUDASAMA, H. P.; BHATT, P. A. Evaluation of anti-obesity activity of duloxetine in comparison with sibutramine along with its anti-depressant activity: an experimental study in obese rats. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 87, n. 11, p. 900-907, 2009.

COELHO, L; CHAVES, E; VASCONCELOS, S; FONTELES, M; DE SOUZA, F; VIANNA, G. Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) na criança: aspectos neurobiológicos, diagnóstico e conduta terapêutica. **Acta Médica Portuguesa**, v. 23, n. 4, p. 689-696, 2010.

COLI, A. C. M.; DE SOUSA, M. P.; NAKASU, M. V. P. Uso não Prescrito de Metilfenidato entre Estudantes de uma Faculdade de Medicina do Sul de Minas Gerais/Non-Medical use of Methylphenidate among Students of a Medical School in the Southern of Minas Gerais State. **REVISTA CIÊNCIAS EM SAÚDE**, v. 6, n. 3, p. 121-132, 2016.

CORBETTA, M.; AKBUDAK, E.; CONTURO, T. E.; SNYDER, A. Z.; OLLINGER, J. M.; DRURY, H. A.; LINEWEBER, M. R.; PETERSEN, S. E.; RAICHLE, M. E.; VAN ESSE, D. C.; SHULMAN, G. L. A common network of functional areas for attention and eye movements. **Neuron**, v. 21, n. 4, p. 761-773, 1998.

CORBETTA, M.; SHULMAN, G. L. Control of goal-directed and stimulus-driven attention in the brain. **Nature reviews neuroscience**, v. 3, n. 3, p. 201-215, 2002.

CORTESE, S. A.; ZOULAY, R.; CASTELLANOS, F. X.; CHALARD, F.; LECENDREUX, M.; CHECHIN, D.; DELORME, R.; SEBAG, G.; SBARBATT, A.; MOURE, M.C.; BERNARDINA, B.D.; KONOFAL, E. Brain iron levels in attention-deficit/hyperactivity disorder: a pilot MRI study. **The World Journal of Biological Psychiatry**, v. 13, n. 3, p. 223-231, 2012.

CRAWFORD, C. A.; DER-GHAZARIAN, T.; BRITT, C. E.; VARELA, F. A.; KOZANIAN, O. O. Novelty-induced conditioned place preference, sucrose preference, and elevated plus maze behavior in adult rats after repeated exposure to methylphenidate during the preweanling period. **Behavioural brain research**, v. 246, p. 29-35, 2013.

CRUZ, T. C. S. C.; BARRETO, J. E. P. D. S.; GAMA, M. L. M.; MAIA, L. C. D. M.; MELO FILHO, M. J. X. D.; MANGANOTTI, N., O.; COUTINHO, D. M. Uso não-prescrito de metilfenidato entre estudantes de Medicina da Universidade Federal da Bahia. **Gazeta Médica da Bahia**, n. 1, 2011.

DA SILVA FONTANA, R.; DE VASCONCELOS, M. M.; WERNER JR, J.; DE GÓES, F. V.; LIBERAL, E. F. Prevalência de TDAH em quatro escolas públicas brasileiras. **Arq neuropsiquiatr**, v. 65, n. 1, p. 134-137, 2007.

DALEY, D.; JONES, K.; HUTCHINGS, J.; THOMPSON, M. Attention deficit hyperactivity disorder in pre-school children: current findings, recommended interventions and future directions. **Child: care, health and development**, v. 35, n. 6, p. 754-766, 2009.

DALLEY, J.; THEOBALD, D.; PEREIRA, E.; LI, P. M. M. C.; ROBBINS, T. Specific abnormalities in serotonin release in the prefrontal cortex of isolation-reared rats measured during behavioural performance of a task assessing visuospatial attention and impulsivity. **Psychopharmacology**, v. 164, n. 3, p. 329-340, 2002.

DAMASIO, A. R.; ANDERSON, S. W. The frontal lobes. **Clinical neuropsychology**, v. 5, 1993.

DAY, C.; BAILEY, C. J. Effect of the antiobesity agent sibutramine in obese-diabetic ob/ob mice. **International journal of obesity**, v. 22, n. 7, p. 619-623, 1998.

DE FELIPE, J.; MARCO, P.; FAIREN, A.; JONES, E. G. Inhibitory synaptogenesis in mouse somatosensory cortex. **Cerebral Cortex**, v. 7, n. 7, p. 619-634, 1997.

DEACON, R. M.; RAWLINS, J. N. T-maze alternation in the rodent. **Nature Protocols-Electronic Edition**, v. 1, n. 1, p. 7, 2006.

DEHAENE, S.; CHANGEUX, JP. Experimental and theoretical approaches to conscious processing. **Neuron**, v. 70, n. 2, p. 200-227, 2011.

DEHAENE, S.; POSNER, M. I.; TUCKER, D. M. Localization of a neural system for error detection and compensation. **Psychological Science**, v. 5, n. 5, p. 303-305, 1994.

DELL'ANNA, M. E. L. J.; LINDQVIST, E.; OLSON, L. Development of monoamine systems after neonatal anoxia in rats. **Brain research bulletin**, v. 32, n. 2, p. 159-170, 1993.

DEMBER, W. N.; FOWLER, H. Spontaneous alternation behavior. **Psychological bulletin**, v. 55, n. 6, p. 412, 1958.

DOBBING, J.; SANDS, J. Comparative aspects of the brain growth spurt. **Early human development**, v. 3, n. 1, p. 79-83, 1979.

DOPHEIDE, J. A.; PLISZKA, S. R. Attention-deficit-hyperactivity disorder: an update. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 29, n. 6, p. 656-679, 2009.

DORVAL, K. M.; WIGG, K. G.; CROSBIE, J.; TANNOCK, R.; KENNEDY, J. L.; ICKOWICZ, A.; PATHARE, T.; MALONE, M.; SCHACHAR, R.; BARR, C. L. Association of the glutamate receptor subunit gene GRIN2B with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Genes, Brain and Behavior**, v. 6, n. 5, p. 444-452, 2007.

DOUGALIS, A. G.; MATTHEWS, G. A.; BISHOP, M. W.; BRISCHOUX, F.; KOBAYASHI, K.; UNGLESS, M. A. Functional properties of dopamine neurons and co-expression of vasoactive intestinal polypeptide in the dorsal raphe nucleus and ventro-lateral periaqueductal grey. **European Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 10, p. 3322-3332, 2012.

DOUGHERTY, D. D.; BONAB, A. A.; SPENCER, T. J.; RAUCH, S. L.; MADRAS, B. K.; FISCHMAN, A. J. Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. **The Lancet**, v. 354, n. 9196, p. 2132-2133, 1999.

DUDCHENKO, P. A. An overview of the tasks used to test working memory in rodents. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 28, n. 7, p. 699-709, 2004.

DUNCAN, J. The locus of interference in the perception of simultaneous stimuli. **Psychological review**, v. 87, n. 3, p. 272, 1980.

DURSTON, S.; DE ZEEUW, P.; STAAL, W. G. Imaging genetics in ADHD: a focus on cognitive control. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 33, n. 5, p. 674-689, 2009.

EISENBERGER, N. I.; LIEBERMAN, M. D.; WILLIAMS, K. D. Does rejection hurt? An fMRI study of social exclusion. **Science**, v. 302, n. 5643, p. 290-292, 2003.

ELIA, J.; GLESSNER, J. T.; WANG, K.; TAKAHASHI, N.; SHTIR, C. J.; HADLEY, D.; SLEIMAN, P. M. A.; ZHANG, H.; KIM, C. E.; ROBISON, R.; LYON, G. J.; FLORY, J. H.; BRADFIELD, J. P.; IMIELINSKI, M.; HOU, C.; FRACKELTON, E. C.; CHIAVACCI, R. M.; SAKURAI, T.; RABIN, C.; RABIN, C.; MIDDLETON, F. A.; THOMAS, K. A.; GARRUS, M.; MENTCH, F.; FREITAG, C. M.; STEINHAUSEN, H. C. Genome-wide copy number variation study associates metabotropic glutamate receptor gene networks with attention deficit hyperactivity disorder. **Nature genetics**, v. 44, n. 1, p. 78-84, 2012.

EPSTEIN, J. N.; ERKANLI, A.; CONNERS, C. K.; KLARIC, J.; COSTELLO, J. E.; ANGOLD, A. Relations between continuous performance test performance measures and ADHD behaviors. **Journal of abnormal child psychology**, v. 31, n. 5, p. 543-554, 2003.

ERINOFF, L.; MACPHAIL, R. C.; HELLER, A.; SEIDEN, L. S. Age-dependent effects of 6-hydroxydopamine on locomotor activity in the rat. **Brain research**, v. 164, n. 1, p. 195-205, 1979.

FANSELOW, M. S.; DONG, H. W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? **Neuron**, v. 65, n. 1, p. 7-19, 2010.

FARAONE, S. V. Lisdexamfetamine dimesylate: the first long-acting prodrug stimulant treatment for attention deficit/hyperactivity disorder. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 9, n. 9, p. 1565-1574, 2008.

FARAONE, S. V. The molecular genetics of ADHD: a view from the IMAGE Project. **Psychiatric Times**, v. 22, n. 9, p. 21-21, 2005.

FARAONE, S. V.; GLATT, S. J.; BUKSTEIN, O. G.; LOPEZ, F. A.; ARNOLD, L. E.; FINDLING, R. L. Effects of once-daily oral and transdermal methylphenidate on sleep behavior of children with ADHD. **Journal of attention disorders**, 2008.

FARAONE, S. V.; MICK, E. Molecular genetics of attention deficit hyperactivity disorder. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 33, n. 1, p. 159-180, 2010.

FELICIO, L. F.; FLORIO, J. C.; SIDER, L. H.; CRUZ-CASALLAS, P. E.; BRIDGES, R. S. Reproductive experience increases striatal and hypothalamic dopamine levels in pregnant rats. **Brain Research Bulletin**, v. 40, p. 253-256, 1996.

FERGUSON, S. A.; CADA, A. M. A longitudinal study of short-and long-term activity levels in male and female spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto, and Sprague-Dawley rats. **Behavioral neuroscience**, v. 117, n. 2, p. 271, 2003.

FILIPEK, P. A.; SEMRUD-CLIKEMAN, M.; STEINGARD, R. J.; RENSHAW, P. F.; KENNEDY, D. N.; BIEDERMAN, J. Volumetric MRI analysis comparing subjects having attention-deficit hyperactivity disorder with normal controls. **Neurology**, v. 48, n. 3, p. 589-601, 1997.

FINK, J. S.; SMITH, G. P. Mesolimbocortical dopamine terminal fields are necessary for normal locomotor and investigatory exploration in rats. **Brain research**, v. 199, n. 2, p. 359-384, 1980.

FLORENTIN, M.; LIBEROPOULOS, E. N.; ELISAF, M. S. Sibutramine-associated adverse effects: a practical guide for its safe use. **Obesity reviews**, v. 9, n. 4, p. 378-387, 2008.

FRANKE, B. H. M.; ARIAS VASQUEZ, A.; HEISTER, J. G. A. M.; SAVELKOUL, P. J.; NABER, M.; SCHEFFER, H.; KIEMENEY, L. A.; KAN, C.C.; BUITELAAR, J. K. Association of the dopamine transporter (SLC6A3/DAT1) gene 9–6 haplotype with adult ADHD. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 147, n. 8, p. 1576-1579, 2008.

FRANKE, B.; ASHERSON, P.; BUITELAAR, J.; BAU, C. H. D.; RAMOS-QUIROGA, J. A.; MICK, E.; GREVET, E.H.; JOHANSSON, S.; HAAVIK, J.; LESCH, K-P.; CORMAND, B.; REIF, A. The genetics of attention deficit/hyperactivity disorder in adults, a review. **Molecular Psychiatry**, v. 17, p. 960-987, 2012.

FRASSETTO, S. S., ALVES, I. O.; SANTOS, M. M.; SCHMIDT, A. E.; LOPES, J. J.; OLIVEIRA, P. A.; VINAGRE., A.S.; PEREIRA, P. Absence of sibutramine effect on spontaneous anxiety in rats. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 54, n. 4, p. 375-380, 2010

FREDERICK, A. L.; STANWOOD, G. D. Drugs, biogenic amine targets and the developing brain. **Developmental neuroscience**, v. 31, n. 1-2, p. 7-22, 2009.

FREDRIKSSON, A.; ARCHER, T. Neurobehavioural deficits associated with apoptotic neurodegeneration and vulnerability for ADHD. **Neurotoxicity research**, v. 6, n. 6, p. 435-456, 2004.

FREIRE, A. C. C.; PONDÉ, M. P. Estudo piloto da prevalência do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade entre crianças escolares na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 63, n. 2-B, p. 474-478, 2005.

FROELICH, T. E.; ANIXT, J. S.; LOE, I. M.; CHIRDKIATGUMCHAI, V.; KUAN, L.; GILMAN, R. C. Update on environmental risk factors for attention-deficit/hyperactivity disorder. **Current psychiatry reports**, v. 13, n. 5, p. 333, 2011.

FULTON, J. F. Frontal lobotomy and affective behavior: a neurophysiological analysis. **W.W. Norton**, v. 148, n. 16, p. 159, 1951.

FUSTER, J. M. The prefrontal cortex—an update: time is of the essence. **Neuron**, v. 30, n. 2, p. 319-333, 2001.

GAINETDINOV, R. R.; SOTNIKOVA, T. D.; CARON, M. G. Monoamine transporter pharmacology and mutant mice. **Trends in pharmacological sciences**, v. 23, n. 8, p. 367-373, 2002.

GAINETDINOV, R. R.; WETSEL, W. C.; JONES, S. R.; LEVIN, E. D.; JABER, M.; CARON, M. G. Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. **Science**, v. 283, n. 5400, p. 397-401, 1999.

GAINETDINOV, R. I. R.; CARON, Marc G.; LOMBROSO, P. J. Genetics of childhood disorders: XXIV. ADHD, part 8: hyperdopaminergic mice as an animal model of ADHD. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 40, n. 3, p. 380-382, 2001.

GATLEY, S. John Pan, D., Chen, R., Chaturvedi, G., & Ding, Y. S.. Affinities of methylphenidate derivatives for dopamine, norepinephrine and serotonin transporters. **Life sciences**, v. 58, n. 12, p. PL231-PL239, 1996.

GEBUREK, A. J.; RIST, F.; GEDIGA, G.; STROUX, D.; PEDERSEN, A. Electrophysiological indices of error monitoring in juvenile and adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)—a meta-analytic appraisal. **International Journal of Psychophysiology**, v. 87, n. 3, p. 349-362, 2013.

GEISLER, J.; LESCH, KP. A lifetime of attention-deficit/hyperactivity disorder: diagnostic challenges, treatment and neurobiological mechanisms. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 11, n. 10, p. 1467-1484, 2011.

GESSA, G. L.; PANI, L.; FADDA, P.; FRATTA, W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. **European Neuropsychopharmacology**, v. 5, p. 89-93, 1995.

GIBSON, M. A. S.; BUTTERS, N. S.; REYNOLDS, J. N.; BRIEN, J. F. Effects of chronic prenatal ethanol exposure on locomotor activity, and hippocampal weight, neurons, and nitric oxide synthase activity of the young postnatal guinea pig. **Neurotoxicology and teratology**, v. 22, n. 2, p. 183-192, 2000.

GIROS, B.; JABER, M.; JONES, S. R.; WIGHTMAN, R. M.; CARON, M. G. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. **Nature**, v. 379, n. 6566, p. 606, 1996.

GIZER, I. R.; FICKS, C.; WALDMAN, I. D. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. **Human genetics**, v. 126, n. 1, p. 51-90, 2009.

GOLDMAN-RAKIC, P. S. Circuitry of primate prefrontal cortex and regulation of behavior by representational memory. **Comprehensive Physiology**, 1987.

GOLDMAN-RAKIC, P. S.; COOLS, A. R.; SRIVASTAVA, K. The prefrontal landscape: implications of functional architecture for understanding human mentation and the central executive [and discussion]. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 351, n. 1346, p. 1445-1453, 1996.

GOMES, H.; DUFF, M.; RAMOS, M.; MOLHOLM, S.; FOXE, J. J.; HALPERIN, J. Auditory selective attention and processing in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Clinical Neurophysiology**, v. 123, n. 2, p. 293-302, 2012.

GONG, J.; XIE, J.; CHEN, G.; ZHANG, Y.; WANG, S. Neurological soft signs in children with attention deficit hyperactivity disorder: Their relationship to executive function and parental neurological soft signs. **Psychiatry research**, v. 228, n. 1, p. 77-82, 2015.

GOULART, B. K.; DE LIMA, M. N. M.; DE FARIAS, C. B.; Reolon, G. K.; Almeida, V. R.; Quevedo, J.; KAPCZINSKI, F.; SCHRÖDER, N.; ROESLER, R. Ketamine impairs recognition memory consolidation and prevents learning-induced increase in hippocampal brain-derived neurotrophic factor levels. **Neuroscience**, v. 167, n. 4, p. 969-973, 2010.

GRAMATTÉ, T.; SCHMIDT, J. The effect of early postnatal hypoxia on the development of locomotor activity in rats. **Biomedica biochimica acta**, v. 45, n. 4, p. 523-529, 1985.

GREENFIELD, B.; HECHMAN, L. Treatment of attention deficit hyperactivity disorder in adults. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 5, n. 1, p. 107-121, 2005.

GREENGARD, P. The neurobiology of slow synaptic transmission. **Science**, v. 294, n. 5544, p. 1024-1030, 2001.

HAMMOND, P.; HUTTON, T. J.; ALLANSON, J. E.; CAMPBELL, L. E.; HENNEKAM, R.; HOLDEN, S.; PATTON, M. A.; SHAW, A.; TEMPLE, I. K.; TROTTER, M.; MURPHY, K. C.; WINTER, R.; M. 3D analysis of facial morphology. **American journal of medical genetics Part A**, v. 126, n. 4, p. 339-348, 2004.

HAMPTON, Alan N.; O'DOHERTY, John P. Decoding the neural substrates of reward-related decision making with functional MRI. **Proceedings of the national Academy of sciences**, v. 104, n. 4, p. 1377-1382, 2007.

HANDEN, B. L.; FELDMAN, H.; GOSLING, A.; BREAU, A. M.; MCAULIFFE, S. Adverse side effects of methylphenidate among mentally retarded children with ADHD. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 30, n. 2, p. 241-245, 1991.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 327, n. 1, p. 1-5, 1984.

HANSEN, H. H.; SANCHEZ, C.; MEIER, E. Neonatal administration of the selective serotonin reuptake inhibitor Lu 10-134-C increases forced swimming-induced immobility in adult rats: a putative animal model of depression?. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 283, n. 3, p. 1333-1341, 1997.

HARSTAD, E.; LEVY, S.; COMMITTEE ON SUBSTANCE ABUSE. Attention-deficit/hyperactivity disorder and substance abuse. **Pediatrics**, v. 134, n. 1, p. e293-e301, 2014.

HARTER, M. R.; GUIDO, W. Attention to pattern orientation: Negative cortical potentials, reaction time, and the selection process. **Electroencephalography and clinical Neurophysiology**, v. 49, n. 5, p. 461-475, 1980.

HAUSKNECHT, K. A.; ACHESON, A.; FARRAR, A. M.; KIERES, A. K.; SHEN, R. Y.; RICHARDS, J. B.; SABOL, K. E. Prenatal alcohol exposure causes attention deficits in male rats. **Behavioral neuroscience**, v. 119, n. 1, p. 302, 2005.

HAWI, Z.; DRING, M.; KIRLEY, A.; FOLEY, D.; KENT, L.; CRADDOCK, N.; ASHERSIN, P.; CURRAN, S.; GOULD, A.; RICHARDS, S.; LAWSON, D.; PAY, H.; LANGLEY, K.; OWEN,

M.; O'DONOVAN, M.; THAPAR, A.; FITZGERALD, M.; GILL, M. Serotonergic system and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a potential susceptibility locus at the 5-HT1B receptor gene in 273 nuclear families from a multi-centre sample. **Molecular Psychiatry**, v. 7, n. 7, p. 718, 2002.

HEAL, D. J.; ASPLEY, S.; PROW, M. R.; JACKSON, H. C.; MARTIN, K. F.; CHEETHAM, S. C. Sibutramine: a novel anti-obesity drug. A review of the pharmacological evidence to differentiate it from d-amphetamine and d-fenfluramine. **International Journal of Obesity**, v. 22, p. S18-S28, 1998.

HERSCHKOWITZ, N.; KAGAN, J.; ZILLES, K. Neurobiological bases of behavioral development in the first year. **Neuropediatrics**, v. 28, n. 06, p. 296-306, 1997.

HESS, E. J.; COLLINS, K. A.; COPELAND, N. G.; JENKINS, N. A.; WILSON, M. C. Deletion map of the coloboma (Cm) locus on mouse chromosome 2. **Genomics**, v. 21, n. 1, p. 257-261, 1994.

HESS, E. J.; COLLINS, K. A.; WILSON, M. C. Mouse model of hyperkinesia implicates SNAP-25 in behavioral regulation. **Journal of Neuroscience**, v. 16, n. 9, p. 3104-3111, 1996.

HEYSER, C. J.; MCNAUGHTON, C. H.; VISHNEVETSKY, D.; FIENBERG, A. A. Methylphenidate restores novel object recognition in DARPP-32 knockout mice. **Behavioural brain research**, v. 253, p. 266-273, 2013.

HEYSER, C. J.; WILSON, M. C.; GOLD, L. H. Coloboma hyperactive mutant exhibits delayed neurobehavioral developmental milestones. **Developmental brain research**, v. 89, n. 2, p. 264-269, 1995.

HIKOSAKA, O.; TAKIKAWA, Y.; KAWAGOE, R. Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. **Physiological reviews**, v. 80, n. 3, p. 953-978, 2000.

HILL, DINA E.; YEO, R. A.; CAMPBELL, R. A.; HART, B.; VIGIL, J.; BROOKS, W. Magnetic resonance imaging correlates of attention-deficit/hyperactivity disorder in children. **Neuropsychology**, v. 17, n. 3, p. 496, 2003.

HINNEY, A.; SCHERAG, A.; JARICK, I.; ALBAYRAK, Ö.; PÜTTER, C.; PECHLIVANIS, S.; NGUYEN, T. T. Genome-wide association study in German patients with attention deficit/hyperactivity disorder. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 156, n. 8, p. 888-897, 2011.

HOHMANN, S.; HOHM, E.; TREUTLEIN, J.; BLOMEYER, D.; JENNEN-STEINMETZ, C.; SCHMIDT, M. H.; ESSER, G.; BANASCHEWSKI, T.; BRANDEIS, D.; LAUCHT, M. Association of norepinephrine transporter (NET, SLC6A2) genotype with ADHD-related phenotypes: Findings of a longitudinal study from birth to adolescence. **Psychiatry research**, v. 226, n. 2, p. 425-433, 2015.

HOLMES, J.; HILTON, K. A.; PLACE, M.; ALLOWAY, T. P.; ELLIOTT, J. G.; GATHERCOLE, S. E. Children with low working memory and children with ADHD: same or different?. 2014.

HORA, A. F.; SILVA, S.; RAMOS, M.; PONTES, F.; NOBRE, J. P. A prevalência do transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (tdah): uma revisão de literatura. **Psicologia**, v. 29, n. 2, p. 47-62, 2015.

HUANG-POLLOCK, C. L.; KARALUNAS, S. L.; TAM, H.; MOORE, A. N. Evaluating vigilance deficits in ADHD: a meta-analysis of CPT performance. **J Abnorm Psychol**, v.121, n. 2, p. 360-371, 2012.

HUGHES, R. N. Intrinsic exploration in animals: motives and measurement. **Behavioural Processes**, v. 41, n. 3, p. 213-226, 1997.

HUH, J. W.; RAGHUPATHI, R. Chronic cognitive deficits and long-term histopathological alterations following contusive brain injury in the immature rat. **Journal of neurotrauma**, v. 24, n. 9, p. 1460-1474, 2007.

HYTTEL, J; OVERO, K. F.; ARNT, J. Biochemical effects and drug levels in rats after long-term treatment with the specific 5-HT-uptake inhibitor, citalopram. **Psychopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 20-27, 1984.

IANNACCONE, RETO.; HAUSER, T. U.; BALL, J.; BRANDEIS, D.; WALITZA, S.; BREM, S. Classifying adolescent attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) based on functional and structural imaging. **European child & adolescent psychiatry**, v. 24, n. 10, p. 1279-1289, 2015.

IUVONE, L.; GELOSO, M. C.; DELL'ANNA, E. Changes in open field behavior, spatial memory, and hippocampal parvalbumin immunoreactivity following enrichment in rats exposed to neonatal anoxia. **Experimental neurology**, v. 139, n. 1, p. 25-33, 1996.

JANSSEN, T. WP.; HESLENFELD, D. J.; VAN MOURIK, R.; GELADÉ, K.; MARAS, A.; OOSTERLAAN, J. Alterations in the ventral attention network during the stop-signal task in children with adhd an event-related potential source imaging study. **Journal of attention disorders**, p. 1087054715580847, 2015.

JENSEN, P. S. A 14-month randomized clinical trial of treatment strategies for attention-deficit/hyperactivity disorder. **Archives of general psychiatry**, v. 56, n. 12, p. 1073-1086, 1999.

JENSEN, P. S. ARNOLD, L. E.; SWANSON, J. M.; VITIELLO, B.; ABIKOFF, H. B.; GREENHILL, L. L.; HECHTMAN, L.; HINSHAW, S. P.; PELHAM, W.; WELLS, K. C.; CONNERS, C. K.; ELLIOTT, G. R.; EPSTEIN, J. N.; HOZA, B.; MARCH, J.; MOLINA, B. S. G.; NEWCORN, J. H.; SEVERE, J. B.; WIGAL, T.; GIBBONS, R. D.; HUR. C. K. 3-year follow-up of the NIMH MTA study. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 46, n. 8, p. 989-1002, 2007.

JERUSSI, T. P.; SENANAYAKE, C. H.; FANG, Q. K. **Methods of using sibutramine metabolites in combination with a phosphodiesterase inhibitor to treat sexual dysfunction**. U.S. Patent n. 6,476,078, 5 nov. 2002.

JONES, B. E., HALARIS, A. E., MCILHANY, M.; MOORE, R. Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. I. Axonal transport in central noradrenaline neurons. **Brain Res.** 127, 1–21, 1977.

JONES, K. L.; SMITH, D. W. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. **The Lancet**, v. 302, n. 7836, p. 999-1001, 1973.

JONKMAN, L. M.; KEMMER, C.; VERBATEN, M. N.; KOELEGA, H. S.; CAMFFERMAN, G.; GAAG, R. J. V. D.; BUITELAAR, J. K.; ENGELAND, H. V. Event-related potentials and performance of attention-deficit hyperactivity disorder: children and normal controls in auditory and visual selective attention tasks. **Biological Psychiatry**, v. 41, n. 5, p. 595-611, 1997.

JORGE, S. D.; POBBE, R. L. H.; DE PAULA SOARES, V.; DE OLIVEIRA, A. M.; ZANGROSSI, H. Effects of sibutramine on anxiety-related behaviours in rats. **Pharmacological research**, v. 50, n. 5, p. 517-522, 2004.

KAMPE, K. KW; FRITH, C. D.; FRITH, U. "Hey John": signals conveying communicative intention toward the self activate brain regions associated with "mentalizing," regardless of modality. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 12, p. 5258-5263, 2003.

KATES, W. R.; FREDERIKSE, M.; MOSTOFSKY, S. H.; FOLLEY, B. S.; COOPER, K.; MAZUR-HOPKINS, P.; KOFMAN, O.; SINGER, H. S.; DENCKLA, M. B.; PEARLSON, G. D.; KAUFMANN, W. T. MRI parcellation of the frontal lobe in boys with attention deficit hyperactivity disorder or Tourette syndrome. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 116, n. 1, p. 63-81, 2002.

KEHOE, W. A. Treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children. **The Annals of Pharmacotherapy**, v. 35, 2001.

KELLY, P. H.; MOORE, K. E. Mesolimbic dopaminergic neurones in the rotational model of nigrostriatal function. **Nature**, v. 263, n. 5579, p. 695-696, 1976.

KIM, BN; KIM, J. W.; HONG, S. B.; CHO, S. C.; SHIN, M. S.; YOO, H. J. Possible association of norepinephrine transporter-3081 (A/T) polymorphism with methylphenidate response in attention deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and Brain Functions**, v. 6, n. 1, p. 57, 2010.

KING, D. J.; DEVANEY, N. Clinical pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54524), a new antidepressant, in healthy volunteers. **British journal of clinical pharmacology**, v. 26, n. 5, p. 607-611, 1988.

KIORTSIS, D.; TSOULI, S.; FILIPPATOS, T. D.; KONITSIOTIS, S.; ELISAF, M. S. Effects of sibutramine and orlistat on mood in obese and overweight subjects: a randomised study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 3, p. 207-210, 2008.

KIRSTEN, T. B.; CHAVES-KIRSTEN, G. P.; CHAIBLE, L. M.; SILVA, A. C.; MARTINS, D. O.; BRITTO, L. R.; DAGLI, M. L. Z.; TORRÃO, A. S.; PALERMO-NETO, J.; BERNARDI, M. M. Hypoactivity of the central dopaminergic system and autistic-like behavior induced by a single early prenatal exposure to lipopolysaccharide. **Journal of neuroscience research**, v. 90, n. 10, p. 1903-1912, 2012.

KISHIKAWA, Y.; KAWAHARA, Y.; YAMADA, M.; KANEKO, F.; KAWAHARA, H.; NISHI, A. The spontaneously hypertensive rat/Izm (SHR/Izm) shows attention deficit/hyperactivity disorder-like behaviors but without impulsive behavior: therapeutic implications of low-dose methylphenidate. **Behavioural brain research**, v. 274, p. 235-242, 2014.

KLIMEK, V.; SCHENCK, J. E.; HAN, H.; STOCKMEIER, C. A.; ORDWAY, G. A. Dopaminergic abnormalities in amygdaloid nuclei in major depression: a postmortem study. **Biological psychiatry**, v. 52, n. 7, p. 740-748, 2002.

KLINGBERG, T. **The learning brain: Memory and brain development in children**. Oxford University Press, USA, 2013.

KNOP, J.; PENICK, E. C.; NICKEL, E. J.; MORTENSEN, E. L.; SULLIVAN, M. A.; MURTAZA, S.; JENSEN, P.; MANZARDO, A. M.; GABRIELLI, W. F. L. Childhood ADHD and conduct disorder as independent predictors of male alcohol dependence at age 40. **Journal of Studies on Alcohol and Drugs**, v. 70, n. 2, p. 169-177, 2009.

KNOUSE, L. E.; SAFREN, S. A. Current status of cognitive behavioral therapy for adult attention-deficit hyperactivity disorder. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 33, n. 3, p. 497-509, 2010.

KOIKE, H. M.H.; NAGAI, T.; NITTA, A.; TAKUMA, K.; NABESHIMA, T.; YONEDA, Y.; YAMADA, K. Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. **Behavioural brain research**, v. 202, n. 1, p. 114-121, 2009.

KOTIMAA, A. J.; MOILANEN, I.; TAANILA, A.; EBELING, H.; SMALLEY, S. L.; MCGOUGH, J. J.; HARTIKAINEN, A. L.; JÄRVELIN, M. R. Maternal smoking and hyperactivity in 8-year-old children. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 42, n. 7, p. 826-833, 2003.

KRAUSE, KH; DRESEL, S. H.; KRAUSE, J.; KUNG, H. F.; TATSCH, K. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. **Neuroscience letters**, v. 285, n. 2, p. 107-110, 2000.

KUCZENSKI, R.; SEGAL, D. S. Dynamic changes in sensitivity occur during the acute response to cocaine and methylphenidate. **Psychopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 96-103, 1999

KUNTSI, J.; OOSTERLAAN, J.; STEVENSON, J. Psychological mechanisms in hyperactivity: I response inhibition deficit, working memory impairment, delay aversion, or something else?. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 42, n. 2, p. 199-210, 2001.

LASKY-SU, J.; NEALE, B. M.; FRANKE, B.; ANNEY, R. J.; ZHOU, K.; MALLER, J. B.; VASQUEZ, A.A.; CHEN, W.; ASHERSON, P.; BUITELAAR, J.; BANASCHEWSKI, T.B.; EBSTEIN, R.; GILL, M.; MIRANDA, A.; MULAS, F.; OADES, R. D.; ROYERS, H.; ROTHENBERGER, A.; SERGEANT, J.; SONUGA-BARKE, E.; STEINHAUSEN, H. C.; TAYLOR, E.; DALY, M.; LAIRD, N.; LANGE, C.; FARAONE, S. T. Genome-wide association scan of quantitative traits for attention deficit hyperactivity disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. **American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics**, v. 147, n. 8, p. 1345-1354, 2008.

LEGER, M. Q. A.; BOUET, V.; HAELEWYN, B.; BOULOUARD, M.; SCHUMANN-BARD, P.; FRERET, T. Object recognition test in mice. **Nature protocols**, v. 8, n. 12, p. 2531-2537, 2013.

LEIBSON, C. L.; KATUSIC, S. K.; BARBARESI, W. J.; RANSOM, J.; O'BRIEN, P. C. Use and costs of medical care for children and adolescents with and without attention-deficit/hyperactivity disorder. **Jama**, v. 285, n. 1, p. 60-66, 2001.

LEO, D.; SORRENTINO, E.; VOLPICELLI, F.; EYMAN, M.; GRECO, D.; VIGGIANO, D.; DI PORZIO, U.; PERRONE-CAPANO, C. Altered midbrain dopaminergic neurotransmission during development in an animal model of ADHD. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 27, n. 7, p. 661-669, 2003.

LI, J.; VESTERGAARD, M.; OBEL, C. Attention-deficit/hyperactivity disorder in the offspring following prenatal maternal bereavement: a nationwide follow-up study in Denmark. **European child & adolescent psychiatry**, v. 19, n. 10, p. 747-753, 2010.

LOPEZ-LARSON, P. R.; KING, J. B.; TERRY, J.; MCGLADE, E. C.; YURGELUN-TODD, D. Reduced insular volume in attention deficit hyperactivity disorder. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 204, n. 1, p. 32-39, 2012.

LOU, HANS C.; HENRIKSEN, L.; BRUHN, P.; BORNER, H.; NIELSEN, J. B. Striatal dysfunction in attention deficit and hyperkinetic disorder. **Archives of Neurology**, v. 46, n. 1, p. 48-52, 1989.

LYCETT, K.; MENSAH, F. K.; HISCOCK, H.; SCIBERRAS, E. A prospective study of sleep problems in children with ADHD. **Sleep Medicine**, v. 15, n. 11, p. 1354-1361, 2014.

MADRAS, B. K.; MILLER, G. M.; FISCHMAN, A. J. The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1397-1409, 2005.

MADUREIRA, D. Q.; CARVALHO, L. A.; CHENIAUX, Elie. Modelagem neurocomputacional do circuito tálamo-cortical. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 65, n. 4-A, p. 1043-1049, 2007.

MALCOLM, R. D.; ALKANA, R. L. Temperature dependence of ethanol lethality in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 35, n. 5, p. 306-311, 1983.

MALER, L.; FIBIGER, H. C.; MCGEER, P. L. Demonstration of the nigrostriatal projection by silver staining after nigral injections of 6-hydroxydopamine. **Experimental neurology**, v. 40, n. 2, p. 505-515, 1973.

MANNUZZA, S.; KLEIN, R. G. Long-term prognosis in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Child and adolescent psychiatric clinics of North America**, 2000.

MARIANI, M. A.; BARKLEY, R. A. Neuropsychological and academic functioning in preschool boys with attention deficit hyperactivity disorder. **Developmental neuropsychology**, v. 13, n. 1, p. 111-129, 1997.

MARTÍNEZ-FONG, D.; ROSALES, M. G.; GÓNGORA-ALFARO, J.; HERNÁNDEZ, S.; ACEVES, G. NMDA receptor mediates dopamine release in the striatum of unanesthetized rats as measured by brain microdialysis. **Brain research**, v. 595, n. 2, p. 309-315, 1992.

MARTINI, J.; KNAPPE, S.; BEESDO-BAUM, K.; LIEB, R.; WITTCHEN, H. U. Anxiety disorders before birth and self-perceived distress during pregnancy: associations with maternal depression and obstetric, neonatal and early childhood outcomes. **Early human development**, v. 86, n. 5, p. 305-310, 2010.

MATTSON, S. N.; RILEY, E. P. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 2, p. 279-294, 1998.

MATTSON, S. N.; SCHOENFELD, A. M.; RILEY, E. P. Teratogenic effects of alcohol on brain and behavior. **Alcohol Research and Health**, v. 25, n. 3, p. 185-191, 2001.

MCLAUGHLIN, K. A.; FOX, N. A.; ZEANAH, C. H.; SHERIDAN, M. A.; MARSHALL, P.; NELSON, C. A.. Delayed maturation in brain electrical activity partially explains the association between early environmental deprivation and symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 68, n. 4, p. 329-336, 2010.

MELDRUM, B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 4, p. 1007S-1015S, 2000.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of chronic fatigue syndrome**. U.S. Patent n. 6,376,551, 23 abr. 2002d.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of hyperactivity disorders**. U.S. Patent n. 6,372,798, 16 abr. 2002f.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of menstrual function**. U.S. Patent n. 6,372,797, 16 abr. 2002b.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of orthostatic hypotension**. U.S. Patent n. 6,365,632, 2 abr. 2002e.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of pulmonary hypertension**. U.S. Patent n. 6,403,650, 11 jun. 2002.

MENDEL, C. M.; SEATON, T. B.; WEINSTEIN, S. P. **Treatment of cardiovascular disease**. U.S. Patent n. 6,433,020, 13 ago. 2002c.

MESULAM, M. Large-scale neurocognitive networks and distributed processing for attention, language, and memory. **Annals of neurology**, v. 28, n. 5, p. 597-613, 1990.

MICHEVA, K. D.; BEAULIEU, C. Quantitative aspects of synaptogenesis in the rat barrel field cortex with special reference to GABA circuitry. **Journal of Comparative Neurology**, v. 373, n. 3, p. 340-354, 1996.

MICK, Eric; LEHMAN, B. K.; DOYLE, A. Patterns of psychiatric comorbidity, cognition, and psychosocial functioning in adults with attention deficit hyperactivity disorder. **Am J Psychiatry**, v. 1, n. 50, p. 1-2, 1993.

MILBERGER, S.; BIEDERMAN, J.; FARAONE, S. V.; JONES, J. ADHD is associated with early initiation of cigarette smoking in children and adolescents. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 36, n. 1, p. 37-44, 1997.

MILBERGER, S.; BIEDERMAN, J.; FARAONE, S. V.; JONES, J. Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings. **Journal of clinical child psychology**, v. 27, n. 3, p. 352-358, 1998.

MILL, J. Rodent models: utility for candidate gene studies in human attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Journal of neuroscience methods**, v. 166, n. 2, p. 294-305, 2007.

MILLER, S. R.; MILLER, C. J.; BLOOM, J. S.; HYND, G. W.; CRAGGS, J. G. Right hemisphere brain morphology, attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) subtype, and social comprehension. **Journal of child neurology**, v. 21, n. 2, p. 139-144, 2006.

MOHAMMAD-ZADEH, L. F.; MOSES, L.; GWALTNEY-BRANT, S. M. Serotonin: a review. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 31, n. 3, p. 187-199, 2008.

MOORE, C. M.; BIEDERMAN, J.; WOZNIAK, J.; MICK, E.; ALEARDI, M.; WARDROP, M.; DOUGHERTY, M.; HARPOLD, T.; HAMMERNESS, P.; RANDALL, E.; RENSCHAW, P.F. Differences in brain chemistry in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder with and without comorbid bipolar disorder: a proton magnetic resonance spectroscopy study. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 2, p. 316-318, 2006.

MOORE, C. M.; FRAZIER, J. A.; GLOD, C. A.; BREEZE, J. L.; DIETERICH, M.; FINN, C. T.; FREDERICK, B.D.; RENSCHAW, P. F. Glutamine and glutamate levels in children and adolescents with bipolar disorder: a 4.0-T proton magnetic resonance spectroscopy study of the anterior cingulate cortex. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 46, n. 4, p. 524-534, 2007.

MORECRAFT, R. J.; GEULA, C.; MESULAM, M. M. Architecture of connectivity within a cingulo-fronto-parietal neurocognitive network for directed attention. **Archives of Neurology**, v. 50, n. 3, p. 279-284, 1993.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. DE M. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 24-40, 1999.

MOSER, MB; MOSER, E. I.; WULTZ, B.; SAGVOLDEN, T. Component analyses differentiate between exploratory behaviour of spontaneously hypertensive rats and Wistar Kyoto rats in a two-compartment free-exploration open field. **Scandinavian journal of psychology**, v. 29, n. 3-4, p. 200-206, 1988.

MOSTOFSKY, S. H.; COOPER, K. L.; KATES, W. R.; DENCKLA, M. B.; KAUFMANN, W. E. Smaller prefrontal and premotor volumes in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 52, n. 8, p. 785-794, 2002.

NAGAI, Y.; CRITCHLEY, H. D.; FEATHERSTONE, E.; FENWICK, P. B. C.; TRIMBLE, M. R.; DOLAN, R. J. Brain activity relating to the contingent negative variation: an fMRI investigation. **Neuroimage**, v. 21, n. 4, p. 1232-1241, 2004.

NEDERGAARD, S.; BOLAM, J. P.; GREENFIELD, S. A. Facilitation of a dendritic calcium conductance by 5-hydroxytryptamine in the substantia nigra. **Nature**, v. 333, p. 174-177, 1988.

NELSON, C. A. A neurobiological perspective on early human deprivation. **Child development perspectives**, v. 1, n. 1, p. 13-18, 2007.

NIGG, J.; NIKOLAS, M.; BURT, S. Alexandra. Measured gene-by-environment interaction in relation to attention-deficit/hyperactivity disorder. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 49, n. 9, p. 863-873, 2010.

NIIJIMA-YAOITA, F.; Nagasawa, Y.; Tsuchiya, M.; Arai, Y.; Tadano, T.; Tan-No, K. (Effects of methylphenidate on the impairment of spontaneous alternation behavior in mice intermittently deprived of REM sleep. **Neurochemistry international**, v. 100, p. 128-137, 2016.

NISOLI, E.; CARRUBA, M. O. An assessment of the safety and efficacy of sibutramine, an anti-obesity drug with a novel mechanism of action. **obesity reviews**, v. 1, n. 2, p. 127-139, 2000.

NUTT, D.; KING, L. A.; SAULSBURY, W.; BLAKEMORE, C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. **The Lancet**, v. 369, n. 9566, p. 1047-1053, 2007.

OECD. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals test nº 407: repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents**. Organization for Economic, 2008.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese circulation journal**, v. 27, n. 3, p. 282-293, 1963.

OKEN, B. S.; SALINSKY, M. C.; ELSAS, S. M. Vigilance, alertness, or sustained attention: physiological basis and measurement. **Clinical neurophysiology**, v. 117, n. 9, p. 1885-1901, 2006.

OLDENHOF, J.; VICKERY, R.; ANAFI, M.; OAK, J.; RAY, A.; SCHOOTS, O.; PAWSON, T.; MARK, Z.; VAN TOL, H. H. SH3 binding domains in the dopamine D4 receptor. **Biochemistry**, v. 37, n. 45, p. 15726-15736, 1998.

ONNINK, A.; MARTEN H.; FRANKE, B.; VAN HULZEN, K.; ZWIERS, M. P.; MOSTERT, J. C.; SCHENE, A. H.; HESLENFELD, D. J.; OOSTERLAAN, J.; HOEKSTRA, P. J. HARTMAN, C. A.; VASQUEZ, A. A.; KAN, C. C.; BUITELAAR, J.; HOOGMAN, M. Enlarged striatal volume in adults with ADHD carrying the 9-6 haplotype of the dopamine transporter gene DAT1. **Journal of Neural Transmission**, v. 123, n. 8, p. 905-915, 2016.

ONNINK, A.; MARTEN, H.; FRANKE, B.; VAN HULZEN, K.; ZWIERS, M. P.; MOSTERT, J. C.; SCHENE, A. H.; HESLENFELD, D. J.; OOSTERLAAN, J.; HOEKSTRA, P. J.; HARTMAN, C. A.; VASQUEZ, A. A.; KAN, C. C.; BUITELAAR, H. M. Enlarged striatal volume in adults with ADHD carrying the 9-6 haplotype of the dopamine transporter gene DAT1. **Journal of Neural Transmission**, v. 123, n. 8, p. 905-915, 2016.

PARK, P.; CABALLERO, J.; OMIDIAN, H. Use of serotonin norepinephrine reuptake inhibitors in the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder in pediatrics. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 48, n. 1, p. 86-92, 2014.

PASQUINI, N. C. Uso de metilfenidato (MFD) por estudantes universitários com intuito de "turbinar" o cérebro. **Biofar, Rev. Biol. Farm**, v. 9, n. 2, p. 107-2013, 2013.

PASTURA, G.; MATTOS, P. Efeitos colaterais do metilfenidato. **Rev Psiq Clín**, v. 31, n. 2, p. 100-4, 2004.

PAUS, T. Location and function of the human frontal eye-field: a selective review. **Neuropsychologia**, v. 34, n. 6, p. 475-483, 1996.

PEADON, E.; ELLIOTT, E. J. Distinguishing between attention-deficit hyperactivity and fetal alcohol spectrum disorders in children: clinical guidelines. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 6, p. 509-515, 2010.

PELHAM, W. E.; BURROWS-MACLEAN, L.; GNAGY, E. M.; FABIANO, G. A.; COLES, E. K.; TRESCO, K. E.; CHACKO, A.; WYMBS, B. T.; WIENKE, A. L.; WALKER, K. S.; HOFFMAN, M. T. Transdermal methylphenidate, behavioral, and combined treatment for children with ADHD. **Experimental and clinical psychopharmacology**, v. 13, n. 2, p. 111, 2005.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985.

PETERSEN, S. E.; POSNER, M. I. The attention system of the human brain: 20 years after. **Annual review of neuroscience**, v. 35, p. 73-89, 2012.

PHELPS, M. E. **PET: molecular imaging and its biological applications**. Springer Science & Business Media, 2004.

PLISZKA, S. R. Pharmacologic treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder: efficacy, safety and mechanisms of action. **Neuropsychology review**, v. 17, n. 1, p. 61-72, 2007b.

PLISZKA, S.; AACAP WORK GROUP ON QUALITY ISSUES. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 46, n. 7, p. 894-921, 2007

POLLIER, F.; SARRE, S.; AGUERRE, S.; EBINGER, G.; MORMÈDE, P.; MICHOTTE, Y.; CHAOULOFF, F. Serotonin reuptake inhibition by citalopram in rat strains differing for their emotionality. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 1, p. 64-76, 2000.

POLTYREV, T.; KESHET, G. I.; KAY, G.; WEINSTOCK, M. Role of experimental conditions in determining differences in exploratory behavior of prenatally stressed rats. **Developmental psychobiology**, v. 29, n. 5, p. 453-462, 1996.

PRAKASH, N.; WURST, W. Development of dopaminergic neurons in the mammalian brain. **Cellular and molecular life sciences**, v. 63, n. 2, p. 187-206, 2006.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European journal of pharmacology**, v. 463, n. 1, p. 3-33, 2003.

QUIST, J. F.; BARR, C. L.; SCHACHAR, R.; ROBERTS, W.; MALONE, M.; TANNOCK, R.; BEITCHMAN, J.; KENNEDY, J. L. The serotonin 5-HT_{1B} receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. **Molecular Psychiatry**, v. 8, n. 1, p. 98-102, 2003.

RAINVILLE, P.; DUNCAN, G. H.; PRICE, D. D.; CARRIER, B.; BUSHNELL, M. C. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. **Science**, v. 277, n. 5328, p. 968-971, 1997.

RAPPORT, M. D.; CHUNG, K. M.; SHORE, G.; DENNEY, C. B.; ISAACS, P. Upgrading the science and technology of assessment and diagnosis: Laboratory and clinic-based assessment of children with ADHD. **Journal of clinical child psychology**, v. 29, n. 4, p. 555-568, 2000.

RETZ, W.; RETZ-JUNGINGER, P.; SUPPRIAN, T.; THOME, J.; RÖSLER, M. Association of serotonin transporter promoter gene polymorphism with violence: relation with personality disorders, impulsivity, and childhood ADHD psychopathology. **Behavioral sciences & the law**, v. 22, n. 3, p. 415-425, 2004.

RETZ, W.; THOME, J.; BLOCHER, D.; BAADER, M.; RÖSLER, M. Association of attention deficit hyperactivity disorder-related psychopathology and personality traits with the serotonin transporter promoter region polymorphism. **Neuroscience Letters**, v. 319, n. 3, p. 133-136, 2002.

RHEE, S. H.; WALDMAN, I. D.; HAY, D. A.; LEVY, F. Sex differences in genetic and environmental influences on DSM-III-R attention-deficit/hyperactivity disorder. **Journal of Abnormal Psychology**, v. 108, n. 1, p. 24, 1999.

RIBASES, M.; RAMOS-QUIROGA, J. A.; HERVAS, A.; BOSCH, R.; BIELSA, A.; GASTAMINZA, X.; ARTIGAS, J.; RODRIGUEZ-BEN, S.; ESTIVIL, X.; CASAS, M.; CORMAND, B.; BAYÉS, M. Exploration of 19 serotonergic candidate genes in adults and children with attention-deficit/hyperactivity disorder identifies association for 5HT_{2A}, DDC and MAOB. **Molecular psychiatry**, v. 14, n. 1, p. 71-85, 2009.

RICE, D.; BARONE JR, S. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. **Environmental health perspectives**, v. 108, n. Suppl 3, p. 511, 2000.

RICHARDSON, A. J.; PURI, B. K. A randomized double-blind, placebo-controlled study of the effects of supplementation with highly unsaturated fatty acids on ADHD-related symptoms in children with specific learning difficulties. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 26, n. 2, p. 233-239, 2002.

RILEY, E. P. The long term behavioral effects of prenatal alcohol exposure in rats. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 14, n. 5, p. 670-673, 1990.

RILEY, E. P.; MCGEE, C. L.; SOWELL, E. R. Teratogenic effects of alcohol: a decade of brain imaging. In: **American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics**. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2004. p. 35-41.

ROHDE, L. A.; HALPERN, Ricardo. Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade: atualização. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 2, p. 61-70, 2004.

ROMMELSE, N. NJ; FRANKE, B.; GEURTS, H. M.; HARTMAN, C. A.; BUITELAAR, J. K. Shared heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder. **European child & adolescent psychiatry**, v. 19, n. 3, p. 281-295, 2010.

RUCKLIDGE, J. J. Gender differences in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 33, n. 2, p. 357-373, 2010.

RUSSEL VA, SAGVOLDEN T, JOHABSEN EB. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and Brain functions**, v. 1, n. 9, 2005.

RUSSELL, V. A. Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Current protocols in neuroscience**, p. 9.35. 1-9.35. 25, 2011.

RUSSELL, V. A.; SAGVOLDEN, T.; JOHANSEN, E. B. Animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. **Behavioral and Brain functions**, v. 1, n. 1, p. 9, 2005.

RUSSELL, V.; ALLIE, S.; WIGGINS, T. Increased noradrenergic activity in prefrontal cortex slices of an animal model for attention-deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. **Behavioural brain research**, v. 117, n. 1, p. 69-74, 2000.

RUTTER, M. L.; KREPPNER, J. M.; O'CONNOR, T. G. (2001). Specificity and heterogeneity in children's responses to profound institutional privation. **The British Journal of Psychiatry**, v. 179, n. 2, p. 97-103, 2001.

RYAN, D. H. Use of sibutramine and other noradrenergic and serotonergic drugs in the management of obesity. **Endocrine**, v. 13, n. 2, p. 193-199, 2000.

RYAN, D. H.; KAISER, P.; BRAY, G. A. Sibutramine: a novel new agent for obesity treatment. **Obesity**, v. 3, n. S4, 1995.

SAGVOLDEN, T.; AASE, H.; ZEINER, P.; BERGER, D. Altered reinforcement mechanisms in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Behavioural brain research**, v. 94, n. 1, p. 61-71, 1998.

SAGVOLDEN, T.; PETTERSEN, M. B.; LARSEN, M. C. Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesia: SHR behavior compared to four other rat strains. **Physiology & behavior**, v. 54, n. 6, p. 1047-1055, 1993.

SANDFORD, J. J.; ARGYROPOULOS, S. V.; NUTT, D. J. The psychobiology of anxiolytic drugs: Part 1: Basic neurobiology. **Pharmacology & therapeutics**, v. 88, n. 3, p. 197-212, 2000.

SANTOS, R. O., Assunção, G. L.; Medeiros, D.; Sousa Pinto, Í. A.; Barros, K. S.; Soares, B. L.; ANDRÉ, E.; GAVIOLI, E.C.; Soares-Rachetti, P. V. Evaluation of the Effect of Acute Sibutramine in Female Rats in the Elevated T-Maze and Elevated Plus-Maze Tests. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 114, n. 2, p. 181-187, 2014

SATTERFIELD, J. H.; SCHELL, A. M.; NICHOLAS, T. W. SATTERFIELD, E. T.; FREESE, T. E.; Ontogeny of selective attention effects on event-related potentials in attention-deficit hyperactivity disorder and normal boys. **Biol. Psychiatry**, v. 28, p. 879-903, 1990.

SCHRIMSHER, Gregory W., Billingsley, R. L., Jackson, E. F., & Moore, B. D. Caudate nucleus volume asymmetry predicts attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptomatology in children. **Journal of Child Neurology**, v. 17, n. 12, p. 877-884, 2002.

SEARLE, A. G. New Mutants: Coloboma. **Mouse News Letters**, v. 2, p. 27, 1966.

SEIDEN, Lewis S.; SABOL, Karen E.; RICAURTE, George A. Amphetamine: effects on catecholamine systems and behavior. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 33, n. 1, p. 639-676, 1993.

SEMPLE, B. D.; BLOMGREN, K.; GIMLIN, K.; FERRIERO, D. M.; NOBLE-HAEUSSLEIN, L. J. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. **Progress in neurobiology**, v. 106, p. 1-16, 2013.

SEMRUD-CLIKEMAN, M.; ELLISON, P. A. T. **Child neuropsychology: Assessment and interventions for neurodevelopmental disorders**. Springer Science & Business Media, 2009.

SEMRUD-CLIKEMAN, M.; FILIPEK, P. A.; BIEDERMAN, J.; STEINGARD, R.; KENNEDY, D.; RENSHAW, P.; BEKKEN, K. Attention-deficit hyperactivity disorder: magnetic resonance

imaging morphometric analysis of the corpus callosum. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 33, n. 6, p. 875-881, 1994.

SEMRUD-CLIKEMAN, M.; PLISZKA, S. R.; BLEDSOE, J.; LANCASTER, J. Volumetric MRI differences in treatment naive and chronically treated adolescents with ADHD-combined type. **Journal of attention disorders**, v. 18, n. 6, p. 511-520, 2014.

SHARMA, A.; COUTURE, J. A review of the pathophysiology, etiology, and treatment of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Annals of Pharmacotherapy**, v. 48, n. 2, p. 209-225, 2014.

SHAW, P., ECKSTRAND, K.; SHARP, W.; BLUMENTAHL, J.; LERCH, J. P.; GREENSTEIN, D.; CLASEN, D.; EVANS, A.; GIEDD, J.; RAPOPORT, J. L. Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 49, p. 19649-19654, 2007.

SHAYWITZ, B. A.; KLOPPER, J. H.; GORDON, J. W. Methylphenidate in 6-hydroxydopamine-treated developing rat pups: Effects on activity and maze performance. **Archives of Neurology**, v. 35, n. 7, p. 463-469, 1978.

SHAYWITZ, B. A.; KLOPPER, J. H.; YAGER, R. D.; GORDON, J. W. Paradoxical response to amphetamine in developing rats treated with 6-hydroxydopamine. **Nature**, v. 261, n. 5556, p. 153-155, 1976.

SHEKIM, W. O.; ASARNOW, R. F.; HESS, E.; ZAUCHA, K.; WHEELER, N. A clinical and demographic profile of a sample of adults with attention deficit hyperactivity disorder, residual state. **Comprehensive psychiatry**, v. 31, n. 5, p. 416-425, 1990.

SHIER, Anna C., Reichenbacher, T., Ghuman, H. S., & Ghuman, J. K. Pharmacological treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: clinical strategies. **Journal of central nervous system disease**, v. 5, p. 1, 2013.

SILVERS, J. M.; HARROD, S. B.; MACTUTUS, C. F.; BOOZE, R. M. Automation of the novel object recognition task for use in adolescent rats. **Journal of neuroscience methods**, v. 166, n. 1, p. 99-103, 2007.

SOLANTO, M. V. Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. **Behavioural brain research**, v. 94, n. 1, p. 127-152, 1998.

SON, G. H.; CHUNG, S.; GEUM, D.; KANG, S. S.; CHOI, W. S.; KIM, K.; CHOI, S. Hyperactivity and alteration of the midbrain dopaminergic system in maternally stressed

male mice offspring. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 352, n. 3, p. 823-829, 2007.

SONTAG, T. A.; TUCHA, O.; WALITZA, S.; LANGE, K. W. Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a critical review. **ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2010.

SOWELL, E. R.; THOMPSON, P. M.; WELCOME, S. E.; HENKENIUS, A. L.; TOGA, A. W.; PETERSON, B. S. Cortical abnormalities in children and adolescents with attention-deficit hyperactivity disorder. **The Lancet**, v. 362, n. 9397, p. 1699-1707, 2003.

SPEISER, Z.; AMITZI-SONDER, J.; GITTER, S.; COHEN, S. Behavioral differences in the developing rat following postnatal anoxia or postnatally injected AF-64A, a cholinergic neurotoxin. **Behavioural brain research**, v. 30, n. 1, p. 89-94, 1988.

SPEISER, Z.; KORCZYN, A. D.; TEPLITZKY, I.; GITTER, S. Hyperactivity in rats following postnatal anoxia. **Behavioural brain research**, v. 7, n. 3, p. 379-382, 1983.

SPENCER, T. J.; ABIKOFF, H. B.; CONNOR, D. F.; BIEDERMAN, J.; PLISZKA, S. R.; BOELLNER, S.; READ, S. C.; PRATT, R. Efficacy and safety of mixed amphetamine salts extended release (adderall XR) in the management of oppositional defiant disorder with or without comorbid attention-deficit/hyperactivity disorder in school-aged children and adolescents: A 4-week, multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo-controlled, forced-dose-escalation study. **Clinical therapeutics**, v. 28, n. 3, p. 402-418, 2006.

SPENCER, T. J.; BIEDERMAN, J.; MADRAS, B. K.; FARAONE, S. V.; DOUGHERTY, D. D.; BONAB, A. A.; FISCHMAN, A. J. In vivo neuroreceptor imaging in attention-deficit/hyperactivity disorder: a focus on the dopamine transporter. **Biological psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1293-1300, 2005.

SPENCER, T.; BIEDERMAN, J.; WILENS, T. Nonstimulant therapies for attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children and adults. **Psychiatr. Clin. North. Am.**, v. 27, p. 373-383, 2004)

SPRICH-BUCKMINSTER, S.; BIEDERMAN, J.; MILBERGER, S.; FARAONE, S. V.; LEHMAN, B. K. Are perinatal complications relevant to the manifestation of ADD? Issues of comorbidity and familiarity. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 32, n. 5, p. 1032-1037, 1993.

SRIPADA, C. S.; KESSLER, D.; ANGSTADT, M. Lag in maturation of the brain's intrinsic functional architecture in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 39, p. 14259-14264, 2014.

STERGIAKOULI, E.; HAMSHERE, M.; HOLMANS, P.; LANGLEY, K.; ZAHARIEVA, I.; HAWI, Z.; KENT, L.; GILL, M.; WILLIAMS, N.; OWEN, M. J. Investigating the contribution of common genetic variants to the risk and pathogenesis of ADHD. **American Journal of Psychiatry**, v. 169, n. 2, p. 186-194, 2012.

STERU, L.; CHERMAT, R.; THIERRY, B.; SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367-370, 1985.

STEVENSON, R. D.; WOLRAICH, M. L. Stimulant medication therapy in the treatment of children with attention deficit hyperactivity disorder. **Pediatric Clinics of North America**, v. 36, n. 5, p. 1183-1197, 1989.

STREISSGUTH, A. P. The behavioral teratology of alcohol: Performance, behavioral, and intellectual deficits in prenatally exposed children. In: **Alcohol and brain development**. Oxford University Press New York, p. 3-44, 1986.

STROHMEIER, C. Adult ADHD and the relationship between self-reported frequency of cognitive distortions, anxiety, and depression. 2013.

STROHMEIER, C. W.; ROSENFELD, B.; DITOMASSO, R. A.; RAMSAY, J. R. Assessment of the relationship between self-reported cognitive distortions and adult ADHD, anxiety, depression, and hopelessness. **Psychiatry research**, v. 238, p. 153-158, 2016.

STURM, W.; WILLMES, K. On the functional neuroanatomy of intrinsic and phasic alertness. **Neuroimage**, v. 14, n. 1, p. S76-S84, 2001.

SULLIVAN, R. M.; BRAKE, W. G. What the rodent prefrontal cortex can teach us about attention-deficit/hyperactivity disorder: the critical role of early developmental events on prefrontal function. **Behavioural brain research**, v. 146, n. 1, p. 43-55, 2003.

SUNAHARA, R. K.; HONG-CHANG, G. Cloning of the gene for a human dopamine D (5) receptor with higher affinity for dopamine than D (1). **Nature**, v. 350, n. 6319, p. 614, 1991.

SWANSON, J.; ARNOLD, L. E.; KRAEMER, H.; HECHTMAN, L.; MOLINA, B.; HINSHAW, S.; VITIELLO, B.; JENSEN, P.; STEINHOFF, K.; LEMES, M.; GREENHIL, L. A.; WELLS, K.; EPSTEIN, J.; ELLIOTT, G.; NEWCOM, J.; HOZA, B.; WIGAL, T. Evidence, interpretation, and qualification from multiple reports of long-term outcomes in the Multimodal Treatment Study of Children with ADHD (MTA) Part II: Supporting details. **Journal of Attention Disorders**, v. 12, n. 1, p. 15-43, 2008.

SZATMARI, P.; OFFORD, D. R.; BOYLE, M. H. Ontario Child Health Study: prevalence of attention deficit disorder with hyperactivity. **Journal of child psychology and psychiatry**, v. 30, n. 2, p. 219-223, 1989.

TAKAMATSU, Y.; Hagino, Y.; Sato, A.; Takahashi, T.; Nagasawa, S. Y.; Kubo, Y.; MIZUGUCHI, M.; UHI, G.R.; SORA, I.; Ikeda, K. Improvement of learning and increase in dopamine level in the frontal cortex by methylphenidate in mice lacking dopamine transporter. **Current molecular medicine**, v. 15, n. 3, p. 245-252, 2015.

TAMM, L.; JURANEK, J. Fluid reasoning deficits in children with ADHD: Evidence from fMRI. **Brain research**, v. 1465, p. 48-56, 2012.

TARVER, J.; DALEY, D.; SAYAL, K. Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): an updated review of the essential facts. **Child: care, health and development**, v. 40, n. 6, p. 762-774, 2014.

THAPAR, A. F.; T., RICE, F.; SCOURFIELD, J.; VAN DEN BREE, M.; THOMAS, H.; HAROLD, G.; HAY, D. Maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. **American Journal of Psychiatry**, v. 160, n. 11, p. 1985-1989, 2003.

THAPAR, A.; COOPER, M.; EYRE, O.; LANGLEY, K. Practitioner review: what have we learnt about the causes of ADHD?. **Journal of Child Psychology and Psychiatry**, v. 54, n. 1, p. 3-16, 2013.

THAPAR, A.; LANGLEY, K.; OWEN, M. J.; O'DONOVAN, M. C. Advances in genetic findings on attention deficit hyperactivity disorder. **Psychological medicine**, v. 37, n. 12, p. 1681-1692, 2007.

THOMAS, J. D.; LA FIETTE, M. H.; QUINN, V. R.; RILEY, E. P. Neonatal choline supplementation ameliorates the effects of prenatal alcohol exposure on a discrimination learning task in rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 22, n. 5, p. 703-711, 2000.

THOMPSON, K. G.; BISCOE, K. L.; SATO, T. R. Neuronal basis of covert spatial attention in the frontal eye field. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 41, p. 9479-9487, 2005.

TRAYNELIS, S. F.; WOLLMUTH, L. P.; MCBAIN, C. J.; MENNITI, F. S.; VANCE, K. M.; OGDEN, K. K.; HANSEN, K. B.; YUAN, H.; MYERS, S. J.; DINGLEDINE, R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. **Pharmacological reviews**, v. 62, n. 3, p. 405-496, 2010.

TROMMER, B. L.; HOEPPNER, J. A. B.; LORBER, R.; ARMSTRONG, K. Pitfalls in the use of a continuous performance test as a diagnostic tool in attention deficit disorder. **Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics**, v. 9, n. 6, p. 339-345, 1988.

TSIBULSKY, W. L.; AMIT, Z. Tolerance to effects of high doses of ethanol: 1. Lethal effects in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 45, n. 2, p. 465-472, 1993.

TUCHA, L.; TUCHA, O.; WALITZA, S.; SONTAG, T. A.; LAUFKÖTTER, R.; LINDER, M.; LANGE, K. W. Vigilance and sustained attention in children and adults with ADHD. **Journal of Attention Disorders**, v. 12, n. 5, p. 410-421, 2009.

TURIC, D.; LANGLEY, K.; MILLS, S.; STEPHENS, M.; LAWSON, D.; GOVAN, C.; WILLIAMS, N.; VAN DEN BREE, M.; CRADDOCK, N.; KENT, L.; OWEN, M.; O'DONOVAN, M.; THAPAR, A. Follow-up of genetic linkage findings on chromosome 16p13: evidence of association of N-methyl-D aspartate glutamate receptor 2A gene polymorphism with ADHD. **Molecular psychiatry**, v. 9, n. 2, p. 169-173, 2004.

TURIC, D.; LANGLEY, K.; WILLIAMS, H.; NORTON, N.; WILLIAMS, N. M.; MOSKVINA, V.; VAN DER BREE, M.B.; OWEN, M.J.; THAPAR, A.; O'DONOVAN, M. C. A Family Based Study Implicates Solute Carrier Family 1-Member 3 (SLC1A3) Gene in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. **Biological psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1461-1466, 2005.

UKAI, K.; MASUDA, C.; KUBO, S.; MUKAI, T.; NAKAGAWA, T. **Use of N, N-dimethyl-1-[1-(4-chlorophenyl) cyclobutyl]-3-methylbutylamine**. U.S. Patent n. 4,939,175, 3 jul. 1990.

VALENZUELA, C. F.; PUGLIA, M. P.; ZUCCA, S. Focus on: neurotransmitter systems. **Alcohol Res Health**, v. 34, n. 1, p. 106-120, 2011.

VALERA, E. M.; FARAONE, S. V.; MURRAY, K. E.; SEIDMAN, L. J. Meta-analysis of structural imaging findings in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 61, n. 12, p. 1361-1369, 2007.

VALERA, E. M.; FARAONE, S. V.; MURRAY, K. E.; SEIDMAN, L. J. Meta-analysis of structural imaging findings in attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological psychiatry**, v. 61, n. 12, p. 1361-1369, 2007.

VAN DONGEN, P. A. The central noradrenergic transmission and the locus coeruleus: a review of the data, and their implications for neurotransmission and neuromodulation. **Prog. Neurobiol.** V. 16, 117-143, 1981.

VASCONCELOS, M. M.; WERNER JR, J.; MALHEIROS, A. F. D. A.; LIMA, D. F. N.; SANTOS, I. S. O.; BARBOSA, J. B. Prevalência do transtorno de déficit de

atenção/hiperatividade numa escola pública primária. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 61, n. 1, p. 67-73, 2003.

VISSER, S. N.; BITSKO, R. H.; DANIELSON, M. L.; GHANDOUR, R. M.; BLUMBERG, S. J.; SCHIEVE, L. A.; HOLBROOK, J.R.; WOLRAICH, M.L.; CUFFE, S. P. Treatment of attention deficit/hyperactivity disorder among children with special health care needs. **The Journal of pediatrics**, v. 166, n. 6, p. 1423-1430. e2, 2015.

VOLKOW, N. D.; CHANG, L.; WANG, G. J.; FOWLER, J. S.; FRANCESCHI, D.; SEDLER, M.; GATLEY, S. J.; MILLER, E.; HITZEMANN, R.; DING, Y.; LOGAN, J. Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 23, p. 9414-9418, 2001.

VOLKOW, N. D.; WANG, G. J.; KOLLINS, S. H.; WIGAL, T. L.; NEWCORN, J. H.; TELANG, F.; FOWLER, J.S.; ZHU, W.; LOGAN, J.; MA, Y.; PRADHAN, K.; WONG., M.S.; SWANSON, J.M. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. **Jama**, v. 302, n. 10, p. 1084-1091, 2009.

VOLKOW, N. D.; WANG, G. J.; KOLLINS, S. H.; WIGAL, T. L.; NEWCORN, J. H.; TELANG, F.; FOWLER, J. S.; ZHU, W.; LOGAN, J.; MA, Y.; PRADHAN, K.; WONG, C.; SWANSON, J. M. Pradhan, K.. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. **Jama**, v. 302, n. 10, p. 1084-1091, 2009.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: A critical review. **Psychological bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.

WALTER, W. The convergence and interaction of visual, auditory, and tactile responses in human nonspecific cortex. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 112, n. 1, p. 320-361, 1964.

WARTON, F. L.; HOWELLS, F. M.; RUSSELL, V. A. Increased glutamate-stimulated release of dopamine in substantia nigra of a rat model for attention-deficit/hyperactivity disorder—lack of effect of methylphenidate. **Metabolic brain disease**, v. 24, n. 4, p. 599, 2009.

WASSERMAN, R. C.; KELLEHER, K. J.; BOCIAN, A.; BAKER, A.; CHILDS, G. E.; INDACOCHEA, F.; STULP, C.; GARDNER, W. P. Identification of attentional and hyperactivity problems in primary care: a report from pediatric research in office settings and the ambulatory sentinel practice network. **Pediatrics**, v. 103, n. 3, p. e38-e38, 1999.

WATANABE, T.; MORIMOTO, K.; NAKAMURA, M.; SUWAKI, H. Modification of behavioral responses induced by electrical stimulation of the ventral tegmental area in rats. **Behavioural brain research**, v. 93, n. 1, p. 119-129, 1998.

WAXMONSKY, J. G. Nonstimulant therapies for attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children and adults. **Essent. Psychopharmacol.**, v. 6, p. 262-276, 2005.

WEISS, G.; HECHTMAN, L. The hyperactive child syndrome. **Science**, v. 205, n. 4413, p. 1348-1354, 1979.

WEISSMAN, M. M.; WARNER, V.; WICKRAMARATNE, P. J.; KANDEL, D. B. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 38, n. 7, p. 892-899, 1999.

WENDER, P. H.; EPSTEIN, R. S.; KOPIN, I. J.; GORDON, E. K. Urinary monoamine metabolites in children with minimal brain dysfunction. **American Journal of Psychiatry**, v. 127, n. 10, p. 1411-1415, 1971.

WERMTER, A. K.; WERMTER, A. K.; LAUCHT, M.; SCHIMMELMANN, B. G.; BANASCHWESKI, T.; SONUGA-BARKE, E. J.; RIETSCHEL, M.; BECKER, K. From nature versus nurture, via nature and nurture, to gene-environment interaction in mental disorders. **European child & adolescent psychiatry**, v. 19, n. 3, p. 199-210, 2010.

WIESEL, F. A.; FUXE, K.; HÖKFELT, T.; AGNATI, L. F. Studies on dopamine turnover in ovariectomized or hypo-physsectomized female rats. effects of 17 β -estradiol benzoate, ethynodioldiacetate and ovine prolactin. **Brain research**, v. 148, n. 2, p. 399-411, 1978.

WIGGINS, R. C. Myelination: a critical stage in development. **Neurotoxicology**, v. 7, n. 2, p. 103-120, 1985.

WILENS, T. E.; MCBURNETT, K.; BUKSTEIN, O.; MCGOUGH, J.; GREENHILL, L.; LERNER, M.; BAILEY, C. E.; KRATOCHVIL, J.; COURY, D.; CASAT, C.; DENISCO, M. J. C.; HALSTEAD, P.; BLOOM, L.; ZIMMERMAN, B. A.; GU, J.; COOPER, K. M.; LYNCH, J. M. Multisite controlled study of OROS methylphenidate in the treatment of adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 160, n. 1, p. 82-90, 2006.

WILSON, M. C. Coloboma mouse mutant as an animal model of hyperkinesia and attention deficit hyperactivity disorder. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 1, p. 51-57, 2000.

WOZNIAK, D. F.; HARTMAN, R. E.; BOYLEB, M. P.; VOGTB, S. K.; BROOKSB, A. R.; TENKOVAA, T.; YOUNGA, C.; OLNEYA, J. W.; MUGLIAB, L. J. Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults. **Neurobiology of disease**, v. 17, n. 3, p. 403-414, 2004.

WU, J.; XIAO, H.; SUN, H.; ZOU, L.; ZHU, L. Q. Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. **Molecular neurobiology**, v. 45, n. 3, p. 605-620, 2012.

YAMAMOTO, B. K.; NOVOTNEY, S. Regulation of extracellular dopamine by the norepinephrine transporter. **Journal of neurochemistry**, v. 71, n. 1, p. 274-280, 1998.

YOSHIDA, M., NAGATSUKA, Y.; MURAMATSU, S.; NIIJIMA, K. Differential roles of the caudate nucleus and putamen in motor behavior of the cat as investigated by local injection of GABA antagonists. **Neuroscience research**, v. 10, n. 1, p. 34-51, 1991.

ZHANG, K.; TARAZI, F. I.; DAVIDS, E.; BALDESSARINI, R. J. Plasticity of dopamine D4 receptors in rat forebrain: temporal association with motor hyperactivity following neonatal 6-hydroxydopamine lesioning. **Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 5, p. 135-138, 2002.

ZHANG, L. C.; S., LI, Z.; ZHANG, K.; DU, Y.; OTT, J.; WANG, J. ADHDgene: a genetic database for attention deficit hyperactivity disorder. **Nucleic acids research**, v. 40, n. D1, p. D1003-D1009, 2012.

ZHU, N.; WEEDON, J.; DOW-EDWARDS, D. L. The multifaceted effects of oral administration of methylphenidate in juvenile rats: anxiety, activity, and attention. **European Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 4, p. 236-244, 2010.