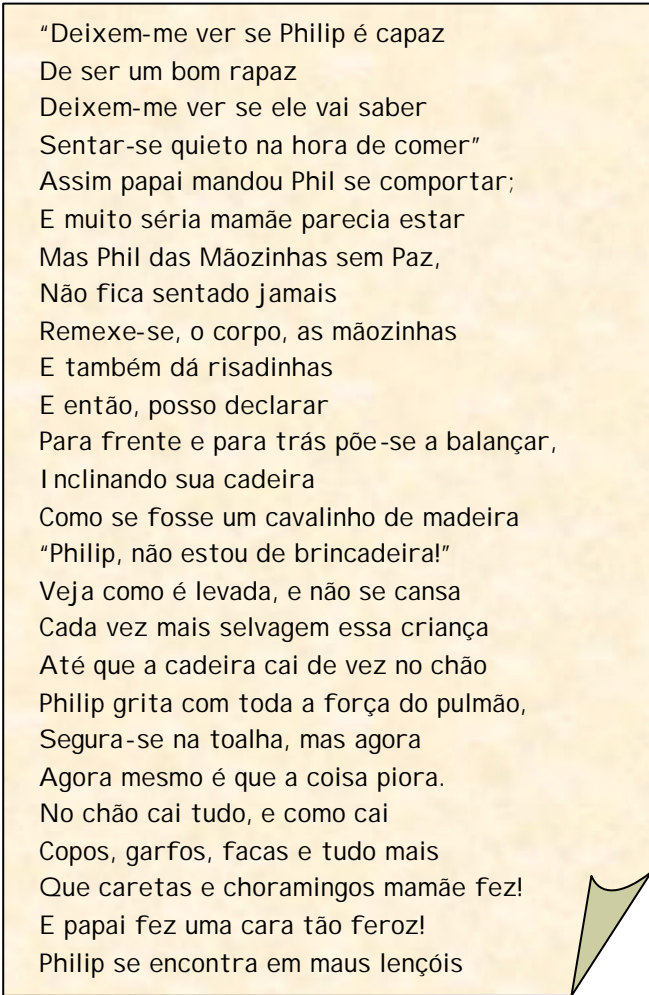


## 1) Aspectos históricos:

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) está entre os diagnósticos mais comuns da infância (Wilson et al., 2001). Os sintomas típicos desse transtorno foram descritos pela primeira vez em 1845 pelo médico Heinrich Hoffman em seu livro de poemas sobre crianças e seus comportamentos, *A estória do irriquieto Philip* (“The Story of Fidgety Philip” -Hallowell e Ratey, 1994; NIMH, 2003):



“Deixem-me ver se Philip é capaz  
De ser um bom rapaz  
Deixem-me ver se ele vai saber  
Sentar-se quieto na hora de comer”  
Assim papai mandou Phil se comportar;  
E muito séria mamãe parecia estar  
Mas Phil das Mãozinhas sem Paz,  
Não fica sentado jamais  
Remexe-se, o corpo, as mãozinhas  
E também dá risadinhas  
E então, posso declarar  
Para frente e para trás põe-se a balançar,  
Inclinando sua cadeira  
Como se fosse um cavalinho de madeira  
“Philip, não estou de brincadeira!”  
Veja como é levada, e não se cansa  
Cada vez mais selvagem essa criança  
Até que a cadeira cai de vez no chão  
Philip grita com toda a força do pulmão,  
Segura-se na toalha, mas agora  
Agora mesmo é que a coisa piora.  
No chão cai tudo, e como cai  
Copos, garfos, facas e tudo mais  
Que caretas e choramingos mamãe fez!  
E papai fez uma cara tão feroz!  
Philip se encontra em maus lençóis

A primeira descrição médica do TDAH foi feita em 1902 pelo médico inglês George Still que o definiu como “um defeito no controle da moral”. Still defendeu a

hipótese de que essa condição teria como base um substrato biológico que poderia ser hereditário e/ou relacionado à encefalopatia adquirida e não como consequência de uma má-educação ou depravação como até então se acreditava (Hallowell and Ratey, 1994; apud Morgan, 1999; Wender et al., 2001). A partir dessa descrição, várias denominações surgiram: *lesão cerebral mínima*, *disfunção cerebral mínima*, *síndrome da criança hiperativa*, *distúrbio primário da atenção e distúrbio do déficit de atenção com ou sem hiperatividade* (Barkley, 1998; Cabral, 1999). As freqüentes mudanças de nomes refletiam as incertezas dos pesquisadores acerca das causas e o critério diagnóstico preciso para este transtorno (Barkley, 1998).

O TDAH caracteriza-se por um conjunto de sintomas que envolve atividade motora, impulsividade e atenção, afetando em torno de 3% a 6% das crianças, tendo início antes da idade escolar (Klassen et al., 1999; Hawi et al. 2003; Wilens et al., 2002). A grande maioria dos estudos observa um predomínio de 2 a 3 vezes mais no sexo masculino (Milberger et al., 1996; Wender et al., 2001).

Acreditava-se que o TDAH estaria relacionado com maturação cerebral na infância e que desapareceria no início da vida adulta. Contudo nos anos de 1970 um grupo de pesquisadores entre eles Leopold Bellak, Hans Huessy, Dennis Cantwel, Paul Wender, por meio de observações clínicas, passaram a defender a idéia de que em alguns indivíduos que apresentaram TDAH durante a infância poderiam continuar a apresentar muitos dos sintomas do TDAH na vida adulta (Hallowel e Hatey, 1994). Pouco tempo depois, esses pesquisadores desenvolveram critérios clínicos específicos para o diagnóstico no adulto, sendo chamados Critérios de UTAH (Reimherr et al., 1979). Desde então, vários estudos vem confirmando e

reconhecendo a presença de TDAH no adulto (Faraone et al., 2000; Wilens and Dodson, 2004; Biederman e Faraone, 2005).

Estudos recentes têm observado que entre 30% a 70% das crianças com o TDAH continuam com sintomas ao longo da vida, suficientemente graves para causar prejuízo em seu desempenho diário (Murphy e Barkley, 1996; Roy-Byrne et al., 1997; Faraone e Biederman, 1998). Pesquisas populacionais com adultos encontraram uma prevalência estimada em torno de 1% a 2,5% na Holanda (Kooij et al., 2005) e 4,1% nos EUA (Kessler et al., 2005a). A preponderância do sexo masculino é menos dramática, em torno de 2:1 (Biederman et al., 1993) e as principais características sintomatológicas no adulto são déficit atencional, instabilidade emocional e desorganização. Comparando os sintomas na criança e no adulto, nota-se que a hiperatividade tende a diminuir e a desorganização ficar mais evidente no adulto (Biederman et al., 2000; Hesslinger et al., 2002).

O TDAH contribui negativamente no desenvolvimento global do indivíduo afetado, causando prejuízos funcionais em vários segmentos da vida. Estudos observaram que adultos com TDAH, comparados à população geral, têm menor nível sócio-econômico, mais dificuldade no trabalho (tanto em realizar tarefas ou se integrar às rotinas) e mais mudanças de emprego (conseqüência da dificuldade no trabalho), o que compromete a auto-estima e as suas relações interpessoais (Murphy e Barkley, 1996; Faraone e Biederman, 1998; Ram et al., 1999, Faraone et al., 2000).

## 2) Quadro clínico

Estabelecer o diagnóstico do TDAH no adulto não é fácil, principalmente pelo fato dos sintomas sobreporem-se a outras condições psiquiátricas que são frequentes, bem como pela dificuldade de obter informações precisas referentes ao período da infância do indivíduo (Pary et al., 2002). Em geral, relatos de pais ou outros familiares ajudam substancialmente na correta caracterização do quadro clínico.

Adultos com TDAH em situações monótonas ou quando pobremente motivados ou estimulados, queixam-se de dificuldade para focar a atenção e selecionar estímulos relevantes, então eles são, muitas vezes, considerados como sonhadores, distraídos, esquecidos ou até mesmo irresponsáveis (Hesslinger et al., 2002). Perda da persistência resulta em abandono de atividades; normalmente com um baixo rendimento profissional e acadêmico, ocasionando perda de trabalho que também pode ocorrer devido à dificuldade no controle dos impulsos, muitas vezes acarretando conflitos interpessoais em todas as áreas (Conners e Jett, 1999; Weiss e Murray, 2003):

Em algumas ocasiões, esses sintomas e suas conseqüências motivam a procura de ajuda profissional. O mais comum são os encaminhamentos aos psiquiatras e psicoterapeutas devido às frequentes comorbidades como depressão, ansiedade, distúrbio de sono ou abuso de substâncias (Faraone et al., 2000).

### **3) Comorbidades**

Comorbidades psiquiátricas podem dificultar o diagnóstico e conseqüentemente o tratamento efetivo para o TDAH no adulto (Spencer et al., 1998). Além disso, o tratamento apenas para o TDAH (por exemplo, uso de psicoestimulantes que são os medicamentos de escolha) podem exacerbar os sintomas de outros transtornos presentes, como ansiedade e transtornos afetivos (Horning,1998).

Observa-se também em adultos com TDAH aumento da prevalência para várias condições psiquiátricas como transtorno de ansiedade, transtorno do humor, abuso de substâncias psicoativas quando comparado à população geral (Manuzza et al., 1991; Biederman et al., 1993; Horning, 1998). Em um estudo retrospectivo com 3197 crianças com TDAH, Kessler et al. (2005b) encontraram 346 adultos que permaneceram com o diagnóstico de TDAH e com as seguintes comorbidades conforme descritas na tabela 1.

Tabela1: Frequência de Comorbidades (DSM-IV) entre 346 adultos que continuaram com diagnóstico de TDAH (Kessler et al., 2005- adaptado)

<b>Transtorno do Humor</b>	<b>Distribuição (%)<sup>a</sup></b>	<b>Prevalência (%)<sup>b</sup></b>
Depressão maior	15,0	39,2
Distímia	7,6	56,4
Transtorno Bipolar I-II	10,4	44,9
<b>Transtorno Ansioso</b>	<b>Distribuição (%)<sup>a</sup></b>	<b>Prevalência (%)<sup>b</sup></b>
Transt.Estresse pós-traumático	16,1	49,9
Transtorno do. Pânico	5,5	43,8
Ansiedade Generalizada	7,2	34,4
Fobia específica	29,5	42,4
Fobia social	38,0	41,2
Agorafobia	4,0	55,2
Transt.Obsessivo-compulsivo	1,4	73,8
<b>Transtono do Controle dos Impulsos</b>	<b>Distribuição (%)<sup>a</sup></b>	<b>Prevalência (%)<sup>b</sup></b>
Transt.Oposicional desafiante	33,9	34,3
Transtorno de conduta	28,6	37,5
Transt. Explosivo intermitente	25,6	41,2
<b>Trast. Abuso de substâncias</b>	<b>Distribuição (%)<sup>a</sup></b>	<b>Prevalência (%)<sup>b</sup></b>
Abuso ou dependência de álcool	2,8	40,2
Dependência de álcool	2,9	29,5
Abuso ou dependência de drogas	2,4	31,4
Dependência de drogas	0,3	10,0
Total	346	

<sup>a</sup> Distribuição dos transtornos comórbidos entre os respondedores com diagnóstico corrente de TDAH no adulto.

<sup>b</sup> Prevalência de TDAH atual no adulto entre os respondedores com história de TDAH na infância em subamostras definidas pelos transtornos comórbidos.

#### **4) Critérios diagnósticos**

Dois sistemas diagnósticos dominantes, um desenvolvido por Reimherr et al. (1979) e outro baseado em adaptações dos critérios do “Manual de Diagnóstico e Estatística para Transtornos Mentais”, da Associação Americana de Psiquiatria, 4ª edição (DSM-IV), são os mais utilizados para identificar e agrupar pacientes adultos com TDAH (McGough, 2004).

##### **4.1) Critérios do DSM IV:**

No DSM-IV (APA, 1994) os sintomas de hiperatividade/impulsividade e desatenção (total de 18 sintomas) na criança foram agrupados em 3 subtipos: 1) predominantemente desatento, 2) predominantemente hiperativo/impulsivo e 3) tipo combinado. Para cada subtipo, nota-se significativo comprometimento em todas as áreas (Dane et al., 2000). O subtipo combinado é o principal representante do grupo, atingindo cerca de 50% a 75% de todos os pacientes com TDAH, seguido pelo subtipo desatento (20% a 30%) e subtipo hiperativo/impulsivo (menos que 15%) (Wilens et al., 2002).

Há controvérsias existentes para a aplicação dos critérios do DSM-IV (APA, DSM-IV, 1994) para o TDAH no adulto, pois há dificuldade na qualidade das informações. A entrevista nesse grupo investiga sintomas retrospectivos (os sintomas devem estar presentes antes da idade escolar), além da sintomatologia atual. Devido ao próprio TDAH, esses indivíduos dificilmente conseguem lembrar-se da infância e a informação dos familiares, geralmente dos pais, podem contribuir pouco para a confirmação diagnóstica.

## **4.2) Critérios de UTAH**

Os critérios de UTAH foram desenvolvidos para atender a necessidade de diagnosticar TDAH nos adultos. Compreendem duas partes: a) história infantil (normalmente com informações de alguns dos pais ou outros adultos que cuidaram ou conviveram com o paciente) e b) critério diagnóstico no adulto, em que os próprios pacientes respondem a uma Escala de Avaliação de Wender Utah (WURS) que investiga o comportamento quando crianças (Wender, 1995; Ward et al., 1993).

## **5) Bases neurobiológicas do TDAH**

### **5.1) Estudos genético-epidemiológicos**

#### **5.1.1) Estudos de famílias**

O primeiro tipo de estudo com o objetivo de investigar a existência de um componente genético ou hereditário numa enfermidade é a demonstração de familiaridade.

Estudos em famílias têm confirmado o caráter familiar, isto é, uma agregação maior de familiaridade com TDAH em probandos com TDAH do que em familiares de probandos sem o diagnóstico de TDAH. No geral, o risco em parentes de primeiro grau para também apresentar TDAH é de 2 a 8 vezes em relação à população geral de apresentar o mesmo transtorno (Biederman et al., 1995; Murphy, 1996a; Faraone e Biederman, 1998).

Nesses estudos em famílias, tem-se observado aumento da frequência de outros transtornos mentais em familiares de crianças hiperativas comparados a famílias- controle de indivíduos sem TDAH. Em estudo de Milberger et al., (1996) observou-se que o pai de crianças com TDAH apresentavam mais sintomas psiquiátricos comparado a pais de crianças sem TDAH na seguinte frequência: 3,8 vs



1,7 para TDAH, 1,2 vs 0,76 para transtorno de conduta, 2,1 vs 1,6 para transtorno de personalidade. Em mães, observou-se um aumento para transtorno de conduta (0,45 vs 0,20), depressão (3,6 vs 2,0), transtorno de pânico(1,5 vs 0,43), ansiedade de separação (0,50 vs 0,36) e dificuldade de aprendizado (25% vs 9%). Em irmãos, particularmente do sexo masculino, observa-se aumento da frequência de hiperatividade e de sintomas de ansiedade e depressão (Hechtman, 1996; Murphy, 1996b).

Faraone (2000) sugere que crianças com TDAH que remitem antes da adolescência reforçariam o envolvimento do ambiente (condição socioeconômica desfavorável com maior exposição à substâncias psicoativas, como álcool e cocaína), enquanto aquelas que persistem na vida adulta teriam maior influência genética. Em estudo de quatro anos de seguimento, 85% dos meninos com TDAH persistiram com os sintomas e 15% remitiram; observou-se que a prevalência de TDAH entre os pais desses meninos foi maior para os que mantiveram os sintomas (16,3% vs 10,8%) e, para os irmãos, a prevalência foi de 24,4% e 4,6% respectivamente, diferença estatisticamente significativa (Faraone, 2000).

Apesar da confirmação de agregação familiar para o TDAH, os estudos em famílias não demonstram a existência do componente genético como principal fator em sua etiologia.

### 5.1.2) Estudos com gêmeos

Com gêmeos, os estudos ajudaram a discriminar entre fatores genéticos x fatores ambientais e estimar a contribuição do componente genético para a ocorrência de TDAH.

A utilização de pares de gêmeos com a finalidade de avaliar o valor relativo do genótipo na determinação do fenótipo tem-se baseado na aceitação das seguintes premissas: 1) os pares monozigóticos devem possuir o mesmo patrimônio genético (100% semelhantes) por serem oriundos de um mesmo zigoto (mesmo óvulo), enquanto que a similaridade genotípica dos pares dizigóticos deve ser semelhante àquela apresentada por pares de irmãos nascidos de gestações distintas (isto é, 50% de semelhança); 2) os elementos de cada par de gêmeos estão sujeitos à influências muito semelhantes do meio ambiente (Beiguelman, 1977).

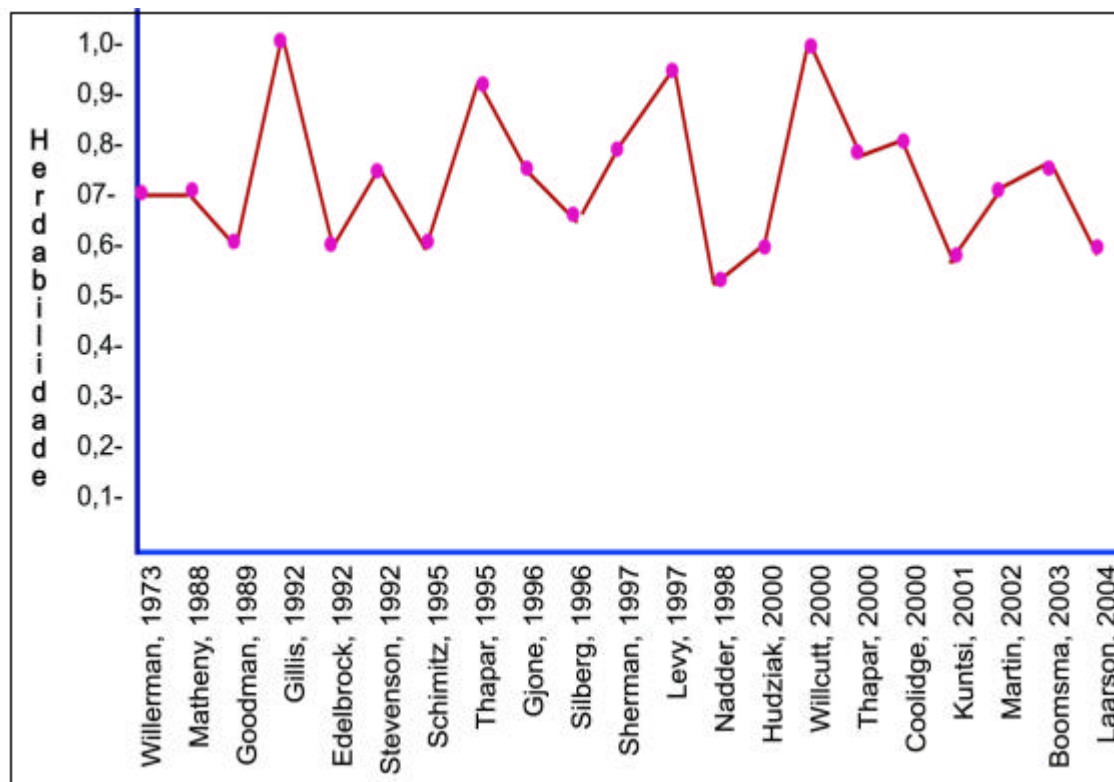
A herdabilidade do TDAH é estimada em torno de 80% entre monozigóticos e 30% entre dizigóticos (Hechtman, 1996; Eaves, 1997; Waldman et al.,1998; Faraone et al.,1998 Faraone et al.,1999; Thapar et al.,1999; Weiss, 2000). A herdabilidade ( $h^2$ ) é um conceito epidemiológico e o percentil por ela expresso apenas avalia a dependência de um traço ou transtorno a um componente genético e não o risco de sua repetição numa família e para seu cálculo deve-se relacionar a diferença entre os percentuais de concordância entre os pares monozigóticos ( $C_{MZ}$ ) e os dizigóticos ( $C_{DZ}$ ) e a diferença entre 100% e a concordância observada entre os pares dizigótico, ou seja:  $h^2 = C_{MZ} - C_{DZ}/100\% - C_{DZ}$ .

Goodman e Stevenson (1989) realizaram estudo com 213 gêmeos com 13 anos de idade (102 monozigóticos e 111 dizigóticos do mesmo sexo) e consideraram na classificação, quanto à similaridade, o reconhecimento dos pais (há pais que não

reconhecem os filhos como gêmeos monozigóticos mesmo sendo, bem como pelo fato de serem gêmeos, mesmo dizigóticos, são considerados idênticos pelos pais). Essa discriminação é importante, pois a identidade comportamental pode sofrer influência da resposta familiar ou expectativas culturais. Os resultados desse estudo sugeriram que efeitos genéticos estariam relacionados com TDAH e que adversidade familiar não seria consistente com TDAH, sendo pertinente a idéia de que a patologia familiar é consequência e não causa da hiperatividade; também não houve diferença entre os sexos e finalmente, complicações perinatais (comuns em se tratando de gemelaridade) foram irrelevantes para TDAH.

Eaves et al. (1997) estudaram 1412 pares de gêmeos entre 8 e 16 anos, selecionados ao acaso nas escolas de Virginia (EUA), sendo formados por 300 pares de meninos monozigóticos, 389 pares de meninas monozigóticas, 184 meninos dizigóticos, 187 meninas dizigóticas, 295 dizigóticos de ambos os sexos e 57 desconhecidos que responderam à entrevista semi-estruturada, assim como seus pais e professores para os seguintes transtornos: TDAH, ansiedade de separação, transtorno de conduta, transtorno depressivo e transtorno de ansiedade. Observou-se nesse estudo que os gêmeos dizigóticos apresentavam medidas muito mais baixas que os monozigóticos para TDAH, sugerindo a influência de fatores genéticos.

As taxas de herdabilidade em vários estudos realizados com gêmeos no período de 1973 a 2004 apresentam poucas alterações, com contribuições variando de 70% a 100%, conforme demonstrado na figura 1.



:

Figura 1 – Herdabilidade do TDAH (fonte: Biederman e Faraone, 2005).

### 5.1.3) Estudo com adotivos

Estudos com adotivos podem determinar se a psicopatologia de um adotivo é correlacionada com seu ambiente ou com sua genética (Wender, 1995).

Cunningham et al. (1975) concluíram que incidência de condições psiquiátricas que necessitavam de cuidado profissional foi maior no grupo experimental composto por 59 crianças adotivas nascidas de pais biológicos com distúrbios psiquiátricos do que no grupo-controle composto por crianças nascidas de pais biológicos sem transtornos mentais. Fato interessante é que a hiperatividade foi o diagnóstico mais freqüente no grupo experimental.

Thapar et al. (1999) encontraram aumento significativo (7,5%) de hiperatividade entre pais biológicos de crianças com hiperatividade, comparado com pais adotivos (2,1%).

## 5.2) Estudos neurobiológicos

A procura por fatores neurobiológicos responsáveis pelo TDAH levou à hipótese catecolaminérgica (sistema do qual faz parte a dopamina, norepinefrina e epinefrina) fundamentada a partir de observações coletadas ao longo de várias décadas. São elas:

- A) No início dos anos 20, os sobreviventes da encefalite de Von Economo (semelhante à encefalite letárgica, cujo agente etiológico é ainda desconhecido) apresentaram alteração de comportamento semelhante às observadas em pacientes com TDAH e transtorno de conduta, quando crianças, e os adultos apresentaram um quadro semelhante à doença de Parkinson. Após a morte dessas pessoas, observaram lesões em gânglios da base e *substância nigra* ao exame anatomopatológico; mais tarde, descobriu-se que essas áreas eram constituídas por neurônios dopaminérgicos (Wender, 2001).
  
- B) Charles Bradley em 1937, observou que benzedrina, um medicamento pertencente ao grupo das anfetaminas, induzia um efeito calmante quando usado em crianças hiperativas (Gainetdinov e Caron, 2001). Aproximadamente 75% dos pacientes com TDAH apresentam boa resposta ao metilfenidato, outro medicamento do grupo das anfetaminas (Solanto, 1998).

C) Modelos animais: Camundongo mutante *colboma*, que apresenta uma deleção no braço curto do cromossomo 2 manifesta espontaneamente um fenótipo hiperativo. Nesses animais, verificou-se elevação dos níveis de dopamina extracelular no *striatum*, a maior área motora cerebral. Verificou-se uma resposta aos psicoestimulantes similar à resposta observada em humanos com TDAH. (Hess, 1995; Gainetdinov e Caron, 2001).

O sistema dopaminérgico, particularmente a via mesolímbocortical-nigrostriatal, está relacionado com a atividade motora, função cognitiva como fluência verbal, aprendizado, sustentação e foco de atenção, modulação do comportamento e mecanismos de recompensa (Fisher, 1998; Missale, 1998; Stahl, 2000; Hahn, 2002).

O sistema noradrenérgico também tem sido relacionado a vários aspectos da atenção e na regulação do ciclo sono-vigília. Provavelmente, TDAH e transtornos cognitivos ocorrem devido a uma desregulação do metabolismo de noradrenalina (NE) no *locus ceruleus*, envolvendo receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos. O sistema noradrenérgico está intimamente associado com a modulação de funções corticais elevadas, incluindo atenção, alerta e função executiva (Biederman e Spencer, 1999; Pliszka et al., 1996).

A função dopaminérgica correlaciona-se com o que é observado clinicamente no TDAH, principalmente em hiperativos, como um problema de planejamento e flexibilidade mental, enquanto a noradrenalina, está relacionada com a habilidade de prestar atenção somente para o que é importante, correlacionando-se com os sintomas de desatenção. (Fischer, 1998).

## **6) Genes candidatos para o TDAH**

### **6.1) Genes dopaminérgicos:**

#### **6.1.1) Gene que codifica para o Transportador da Dopamina (DAT1)**

O transportador da dopamina (DAT) é uma proteína de membrana que possui 12 domínios transmembrânicos, cujo mecanismo de ação é dependente de NaCl (Sitte et al., 2004) (Figura2). O DAT é responsável pela recaptação pré-sináptica da dopamina e o principal sítio de ação para vários psicoestimulantes. Os psicoestimulantes como anfetaminas e cocaína inibem a atividade do DAT.

O gene SLC6A3, também denominado DAT1, está localizado na região cromossômica 5p15.3 e é constituído por 15 éxons (Vandenberg et al., 1992).

Vários polimorfismos do DAT1 têm sido descritos e um dos mais estudados é uma variável de repetição em tandem (em inglês: “variable number of tandem repeats=VNTR”) na região 3’ não codificadora (Vandenberg et al., 1992). Este polimorfismo consiste de uma seqüência de 40 pares de bases (pb) que mais freqüentemente ocorre com 9 ou 10 unidades de repetição em tandem (Figura 2). Também são encontradas outras apresentações que podem variar de 3 até 11 repetições (Mill et al., 2005).

Vários estudos de associação têm sido realizados, a fim de se determinar a correlação do polimorfismo VNTR da região 3’ não codificadora do gene DAT1 com o desenvolvimento de TDAH, em particular, o alelo 10 que apresenta 10 unidades de repetição e alguns de seus resultados estão listados na Tabela 2. Apenas um dos estudos foi realizado com adultos.

Tabela 2 - Estudos de associação entre transtorno déficit de atenção e hiperatividade e o polimorfismo da região 3' não codificadora do gene para o transportador de dopamina.

Estudo	Local	n.probandos	Sistema diagnóstico	Teste da associação	estatística	Valor p
Kirley et al.2003	Irlanda	119	DSM-IV	TDT	$X^2 = 7,9$	0,005
<b>Muglia et al. 2002*</b>	<b>Canadá</b>	<b>152 adultos</b>	<b>DSM-IV</b>	<b>FBAT</b>	<b>Z= 0,16</b>	<b>0,86</b>
Barr et al.2001	Canadá	102	DSM-IV	TDT	$X^2 = 2,6$	0,06
Roman et al.2001	Brasil	81	DSM-IV	HHRR	$X^2 = 0,02$	0,88
Curran et al. 2001	Turquia	111	DSM-IV	TDT	$X^2 = 0,93$	0,34
Todd et al. 2001	EUA	219	DSM-IV	TDT	$X^2 = 2,5$	0,12
Waldman et al. 1998	EUA	122	DSM-IV	TDT	OR = 1,63	0,06
Gill et al. 1997	Irlanda	40	DSM-III-R	HHRR	$X^2 = 6,07$	0,014
Cook et al. 1995	EUA	49	DSM-III-R	HHRR	OR = 3,17	0,01

TDT= teste de **desequilíbrio** de transmissão; HHRR risco relativo haplotipo baseado haplotipo

Em 1995, Cook *et al.* Observaram uma associação para o alelo 10 do DAT1 em 49 casos de TDAH usando o “haplotype relative risk” (HRR) ( $p < 0.01$ ). Waldman et al. (1998) avaliaram irmãos e pais de 122 crianças com problemas de comportamento e aprendizado e encontraram na análise de membros da mesma família, por meio do teste de desequilíbrio de transmissão (TDT), o alelo 10 (480 pb) associado ao risco de desenvolver TDAH. Além disso, correlacionando os níveis de sintomas hiperativo-impulsivos com o número de alelos do gene DAT1, foi novamente observado a correlação do alelo 10 do gene DAT1 com sintomas de hiperatividade. Barr et al., 2001a observou associação entre TDAH e o gene DAT1, sendo mais relacionada ao subtipo combinado



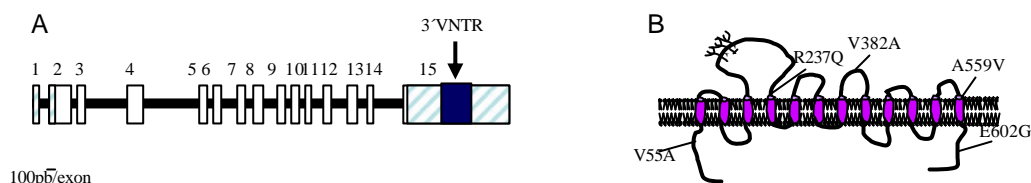



Figura 2. A) Representação estrutural do éxon/intrón do gene *DAT1* mostrando o VNTR localizado na região 3' não codificadora do éxon 15;  - regiões não codificantes.

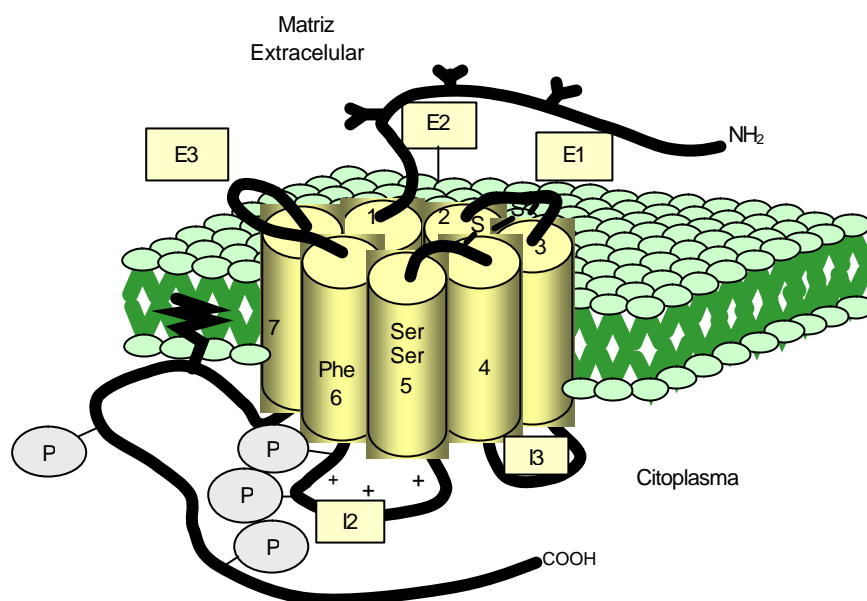
B) Variantes de aminoácidos identificados no *DAT1*. O número se refere à posição do aminoácido na proteína a qual é precedida por código de letra única para o aminoácido comumente encontrado naquela posição e seguido de única letra para a variante (modificado de Hahn e Blakely, 2002).

### 6.1.2) Genes que codificam para os receptores da dopamina

As diversas ações fisiológicas da dopamina são mediadas por cinco receptores distintos da dopamina agrupados em duas categorias:

**Grupo 1** - composto por receptores subtipo D1 e D5, que ativam a enzima adenilciclase e transmitem sinais excitatórios (Missale, 1998; Barr, 2001b);

**Grupo 2** - composto por receptores subtipo D2, D3 e D4 que inibem a adenilciclase e ativam canais de potássio e são inibitórios (Missale, 1998; Barr, 2001b) (Figura 3).



**Figura 3** – Representação da estrutura molecular de um receptor de dopamina (E= cadeia extracelular e I= cadeia intracelular). Modificado de Missale et al. (1998).

#### 6.1.2a) Gene que codifica para o receptor da dopamina subtipo D2 (DRD2)

O gene que codifica o receptor da dopamina subtipo 2 (DRD2) está localizado no cromossomo 11q22-11q23, sendo constituído por 7 éxons (Grandy et al., 1989). Este gene codifica duas formas do receptor denominadas D2L (forma longa) que agem, principalmente em sítios pós-sinápticos e a D2S (forma curta) que funciona como um auto-receptor pré-sináptico e na ausência da D2L, a D2S inibe as funções mediadas pelo receptor D1, demonstrando a existência de uma interferência de ação entre os receptores dopaminérgicos ( apud Lobo, 2005).

Mutações no gene DRD2 (alelo D<sub>2</sub>A1) foram observadas em 69% de indivíduos alcoólicos e em somente 20% de indivíduos não alcoólicos. A partir desta observação, vários estudos com outros fenótipos comportamentais passaram a ser investigados (Noble et al., 1990), entretanto ele não é um dos mais estudados para o TDAH.

### **6.1.2b) Gene que codifica para o receptor da dopamina subtipo 4 (DRD4)**

O gene que codifica para o receptor da dopamina subtipo 4 DRD4 está localizado próximo ao telômero do cromossomo 11p (11p.15.5) (Litcher et al., 1993). É constituído por 4 éxons e 3 íntrons (Ding et al., 2002).

Diferentes investigações têm encontrado associação entre alelos de regiões polimórficas desse gene e fenótipos comportamentais (La Hoste et al., 1996, Barr et al., 2001b).

A maioria dos estudos DRD4 tem focado num polimorfismo VNTR localizado no terceiro éxon, que consiste de uma repetição de 48pb que codifica para uma seqüência de aminoácidos localizado na terceira alça do receptor citoplasmático que é responsável por regular os níveis de AMPc (DiMaio et al., 2002; Lichter et al., 1993). Variações nas alças citoplasmáticas poderiam resultar em modificação de conformação de domínios da membrana citoplasmática, alterando sítios de ligação que afetariam os sinais de transdução.

Esse polimorfismo localizado no éxon 3 do gene DRD4 apresenta de 2 a 10 repetições de 48 pb e as mais encontradas são com 4 repetições (alelo 4), 7 repetições (alelo 7) e com 2 repetições (alelo 2) e com as respectivas frequências, 64,3%, 20,6% e 8,2% (DiMaio, 2002; Vieyra et al., 2003). Há grande heterogeneidade na frequência dos alelos em diferentes populações, o alelo 7 tem baixa incidência em populações asiáticas e alta frequência nas Américas, enquanto o alelo 2 tem alta incidência na Ásia (Ding et al., 2002). D'Souza et al. (2004) verificaram que os alelos longos (a partir de 6 repetições de 48 pb) têm baixa atividade de transcrição em comparação aos alelos curtos. É possível que genes dopaminérgicos possam contribuir para um “déficit de dopamina” e o alelo com 7 repetições de 48 pb do

gene DRD4 possa produzir um receptor que é pouco sensível à dopamina (Swanson et al., 2000).

Vários estudos de associação têm encontrado associação positiva entre o alelo 7 do gene DRD4 e TDAH (Sunohara et al, 2000; Muglia et al., 2000; Manor et al., 2002). Esta associação tem sido também apoiada pelas meta-análises realizadas por Faraone et al. (2001) e Maher et al. (2002). Tabela 3

Tabela 3 - Estudos de associação o alelo com 7 repetições de 48 pb do éxon 3 do gene DRD4 em TDAH.

Autor	Local	No. de probandos	Sistema diagnóstico	Estatística	Valor p
Grady et al. 2003	EUA	132	DSM-IV		0,0001
Mill et al. 2002	Reino Unido	132	DSM-IV	OR = 6,2	0,01
Colmes et al. 2002	Reino Unido	129	CID-10, DSM-IV, DSM-III-R	OR = 1.9	0,001
<b>Muglia et al. 2000*</b>	<b>Canadá</b>	<b>66</b>	<b>DSM-IV</b>	<b>OR = 2,5</b>	<b>0,01</b>
Sunohara et al., 2000	Canadá	88	DSM-IV	TDTX <sup>2</sup> =2,8	0,045
Cominos et al. 1999	EUA	52	DSM-IV, DSM-III-R	X <sup>2</sup> = 6,64	0,01
LaHoste et al., 1996	EUA	39	DSM-IV	X <sup>2</sup> = 10,03	0,01

- Estudo realizado em adultos.
- Pb= pares de bases

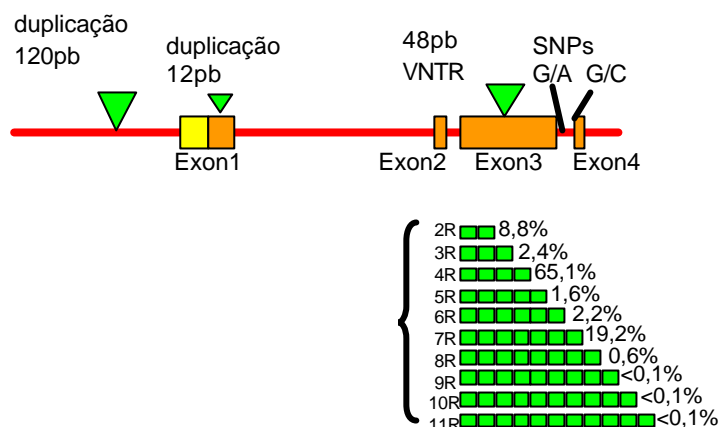


Figura 4 - Representação da estrutura do gene para o receptor da dopamina subtipo 4 (DRD4). Composto por 4 éxons codificantes. Os triângulos verdes representam o local de polimorfismos estudados. Destaca-se o polimorfismo (VNTR) no éxon 3 com repetições de 48 pares de bases (pb) com variações de 2 a 11 vezes e suas respectivas frequências na população geral.

## 6.2) Genes noradrenérgicos

Dados de tratamento farmacológico indicam que quase todas as medicações eficazes em crianças com TDAH afetam a transmissão e metabolismo noradrenérgico (Halperin et al., 1997). As ações fisiológicas da noradrenalina são mediadas por receptores distintos, sendo os mais estudados os receptores adrenérgicos alfa 2a e 2C.

### 6.2.1) Genes que codificam para os receptores $\alpha$ 2A adrenérgico (ADRA2A) e para o receptor $\alpha$ 2C (ADRA2C) –

Clonidina é um agente simpatomimético com predominante efeito pré-sináptico (receptores  $\alpha_2$ -adrenérgico no cortex frontal) que inibe a liberação de noradrenalina no *locus ceruleus* (Starke et al., 1974; Connor et al., 1999). Primariamente usado no tratamento da hipertensão arterial em adultos, tem sido

indicado para o tratamento de vários transtornos psiquiátricos, como TDAH, transtorno de conduta e agressão, transtorno pós-traumático e tic (Connor et al., 1999).

Park et al. (2002) em estudo com 177 famílias nucleares encontraram associação entre o gene ADRA2A e o subtipo combinado do TDAH, enquanto Roman et al., (2005) em estudo brasileiro com 128 crianças encontraram associação entre o gene ADRA2A e o subtipo desatento.

### **6.3) Genes do sistema Serotoninérgico**

O sistema serotoninérgico tem uma apresentação complexa: distribui-se difusamente no cérebro e apresenta vários subtipos de receptores em sete subclasses. O mais estudado até o momento na área de estudos de associação alélica, tem sido o gene que codifica para o transportador de serotonina. Essa proteína tem sido implicada, entre outras, no comportamento impulsivo e transtornos de conduta. Baixos níveis de serotonina foram correlacionados com impulsividade, transtorno oposicional desafiante e comportamento agressivo (Fisher, 1998). Desde 1994 Halperin e colaboradores sugerem o envolvimento da serotonina tanto em comportamento agressivo quanto em TDAH.

### **6.4) Genes que codificam enzimas metabolizadoras de neurotransmissores.**

#### **6.4.1) Gene que codifica para a enzima dopamina b -hidroxilase (DbH)**

A enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilase participa da etapa de produção de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) a partir da conversão da dopamina. O

gene que codifica essa enzima está localizado no cromossomo 9q34 e a enzima dopamina  $\beta$ -hidroxilase é responsável pela conversão da dopamina em noradrenalina. Estudos têm encontrado evidências do envolvimento do D $\beta$ H no TDAH (Daly et al., 1999; Wigg et al., 2002; Roman et al., 2002).

#### **6.4.2) Gene que codifica para a enzima Catecol-O-Metiltransferase (COMT)**

O gene que codifica a enzima catecol-O-metil-transferase está localizado no cromossomo 22q11 e é constituído por 6 éxons (Tenhunen et al., 1994). O gene da COMT tem sido de interesse nos estudos envolvendo TDAH dado que a enzima COMT está envolvida na degradação metabólica dos neurotransmissores catecolaminérgicos (Eisenberg et al., 1999; Barr et al., 1999). Além disso, são observados sintomas de TDAH em crianças com síndrome velocardiofacial, uma condição associada à microdeleção no cromossomo 22 (onde localiza-se a COMT). Isso tem despertado interesse para uma possível associação entre um polimorfismo funcional COMT e TDAH (DiMaio et al., 2002)

#### **6.4.3) Gene que codifica para a enzima Monoamina Oxidase A e B (MAO)**

A monoamina oxidase é uma enzima mitocondrial envolvida na degradação das aminas biogênicas. O gene que codifica a MAO está localizado no cromossomo Xp11.23. Em estudo de Jiang et al. (2001) observou-se uma ligação (*linkage*) entre TDAH e o polimorfismo do gene MAO A, porém há necessidade de confirmação desse achado

### **Conclusão da Revisão da Literatura e Justificativa para o Estudo**

Até o presente momento, os estudos genético-moleculares realizados com TDAH não identificaram um gene principal (também chamado de gene maior ou mendeliano), mas sim possíveis genes de efeito pequeno ou moderado, o que confere um mecanismo de transmissão complexo (Comings et al., 2000). Esses genes de risco ou vulnerabilidade apenas aumentariam as chances de uma criança vir a apresentar os sintomas de TDAH ou de uma criança continuar a apresentar sintomas de TDAH durante a vida adulta.

Os estudos genéticos de associação com o TDAH têm sido predominantemente avaliados na população infantil. Os adultos, pelo histórico recente do reconhecimento desta condição, representam um grupo importante de investigação, não só para confirmar os resultados positivos encontrados em crianças, mas também delimitar em termos nosológicos se o TDAH na criança e no adulto são variantes do mesmo transtorno ou a presença de dois subgrupos distintos (um que ocorre apenas durante a infância e outro que continua na vida adulta). O número de estudos ainda é pequeno e os resultados ainda inconclusivos.

Com o objetivo de contribuir para o entendimento do TDAH no adulto, o presente trabalho tem por finalidade selecionar pacientes adultos com o diagnóstico de TDAH e investigar nessa mesma amostra alguns dos principais genes descritos na literatura. Não há, até o momento, qualquer investigação, dessa ordem, em uma amostra de TDAH em adultos na população brasileira.



## OBJETIVOS

- 1) Descrever o perfil sociodemográfico de uma população de adultos com diagnóstico de TDAH atendido em um ambulatório especializado na cidade de São Paulo.
  
- 2) Avaliar a distribuição de variantes alélicas dos genes do sistema dopaminérgico entre os grupos de pacientes com TDAH e controles, e investigar a segregação desses alelos em trios (paciente, pai e mãe):
  - 2 a ) quatro polimorfismos do gene DAT1 (da região 3' não codificante, do intron 8, do exon 9 e intron 14).
  - 2 b) polimorfismo do gene DRD4 localizado no exon 3 com repetição em tandem de 48 pb.

## HIPÓTESES

$H_0$  = não há diferença na frequência dos alelos e ou dos genótipos dos genes que codificam para o transportador da dopamina (DAT1) e para o receptor da dopamina subtipo 4 (DRD4) entre os casos (pacientes com diagnóstico de TDAH) e os controles.

$H_1$  = diferenças nas frequências dos alelos e ou genótipos dos genes que codificam o DAT e ou DRD4 entre pacientes adultos com TDAH e indivíduos controles, sugerindo o envolvimento desses genes na susceptibilidade para desenvolver o TDAH.

## **MATERIAL E MÉTODOS:**

### **1) Amostra**

Os pacientes foram selecionados do Projeto de Déficit de Atenção e Hiperatividade (PRODATH) do Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP. Trata-se de um ambulatório universitário criado para atender pacientes adultos com TDAH e poder compreender melhor esse transtorno. Para a inclusão de pacientes atendidos no PRODATH consideramos para o estudo atual os seguintes critérios:

- a.** Diagnóstico positivo para TDAH de acordo com os critérios do Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder- 4<sup>a</sup> Edition (DSM-IV) (AMP, 1995);
- b.** adultos dos gêneros masculino e feminino;
- c.** faixa etária entre 18 e 60 anos;
- d.** Consentimento formal assinado pelo paciente.

Foram excluídos pacientes com quadro psicótico, deficiência mental e/ou transtornos orgânicos associados aos sintomas de TDAH.

### **1.2) Controles**

Os controles foram selecionados a partir do Banco de DNA do Programa de Genética e Farmacogenética do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (PROGENE-IPq HCFMUSP). Esses controles têm sido utilizados em estudos de associação alélica, envolvendo diferentes transtornos psiquiátricos. Os controles utilizados foram obtidos de indivíduos doadores de sangue do Banco de Sangue do HC-FMUSP (Fundação Pró-

Sangue). Todos os indivíduos, no ato da doação, responderam a uma curta entrevista sobre antecedentes psiquiátricos (Messas, 2001). Doadores com sinais de alguma condição psiquiátrica, na ocasião da investigação, com história de internação psiquiátrica ou uso de medicamentos psiquiátricos em algum momento da vida foram excluídos do estudo. Além disso, um *screening* para doenças infecciosas e uso de drogas foi realizado pelo próprio serviço do Banco de Sangue (descrição mais detalhada em Messas, 2001).

## **2) Procedimentos**

A inclusão de pacientes se deu no período de 2002 a 2005. Os dados foram colhidos pela própria autora e inseridos no prontuário do IPq- HC-FMUSP. Os pacientes compareceram ao Projeto de Déficit de Atenção e Hiperatividade (PRODATH) do Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP, sob coordenação do Dr Mário R. Louzã, encaminhados de ambulatórios do próprio hospital ou espontaneamente por meio de informações obtidas na mídia (rádio, TV, revistas e jornais). Os pacientes que preenchiam critérios para a pesquisa foram convidados a participar do estudo de forma sistemática até atingir um número mínimo de 100 probandos. O tamanho do grupo experimental foi implementado de acordo com:

a) por comparação com trabalhos da literatura que desenvolveram estudos associação com TDAH (trabalhos realizados no período de 1996 a 2002 variaram de 39 a 152 probandos, sendo os dois únicos trabalhos adultos, o de Muglia et al.(2002) que utilizaram 66 probandos e investigou o gene DRD4 e o segundo também de Muglia et al (2002) com 152 probandos e o gene DAT1.

b) uma análise do poder estatístico da nossa amostra, considerando 100 probandos e 300 controles.

Além disso, os pais de cada paciente foram também convidados a participar do estudo, de forma a compor os trios, isto é paciente, pai e mãe. Esse tipo de estudo também é chamado de estudo de associação com controles internos e contribuirá para eliminar resultados falso positivos, devido à estratificação populacional.

A classificação racial foi feita utilizando características fenotípicas tais como forma do cabelo, naso, cor de pêlo etc., além de perguntar diretamente ao paciente se conhecia sua ancestralidade (Krieger et al., 1965).

Os indivíduos que integraram esse estudo concordaram em participar voluntariamente e, após explicação da pesquisa, assinaram o termo de consentimento. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética de Análise de Projetos de Pesquisa do HC- FMUSP (CAPPesq) sob o número 671/02.

### **3) Métodos**

#### **3.1) Extração de DNA**

Cerca de 10 ml de sangue venoso periférico foram coletados em tubos com anticoagulantes (etilenodiaminotetracético-EDTA) dos casos selecionados e daqueles parentes (pai e mãe) que aceitaram também participar da pesquisa.

O DNA genômico foi extraído de sangue total, utilizando-se o método “salting out”, descrito por Miller et al. (1988), e realizado pela autora e outros integrantes do PROGENE. Após a extração, a qualidade e quantidade do DNA foram analisadas visualmente em gel de agarose (concentração entre 0,8% a 1,050. A concentração de DNA foi obtida por leitura em espectrofotômetro Gene Quant

(Pharmacia Biotech). As amostras dos controles já se encontravam preparadas para as análises genético- moleculares.

### **3.2) Análise do polimorfismo do gene SLC6A3 (DAT1)**

*Análise do polimorfismo VNTR na região 3' não codificadora do exon 15 do gene DAT1*

A amplificação da região do DAT1 foi feita por reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando-se 100ng de DNA genômico, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 500mM KCl, 100mM Tris-HCl (pH=8,0), 20 pmol de cada oligonucleotídeo (Gill *et al.*, 1997), 200µM de cada deoxinucleotídeo trifosfato e 0,5U Taq DNA polimerase. Os oligonucleotídeos utilizados para a amplificação foram: foward-5'TGT GGT GTA GGG AAC GGC CTG AG3' e reverse 5'CTT CCT GGA GGT CAC GGC TCA AGG3'.

A amplificação foi realizada em termociclador Peltier Thermal Cycler – 200 (MJ Research) utilizando-se as seguintes condições: 1 ciclo de 95°C por 3 minutos para a denaturação inicial do material genômico, 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, 58°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos para os ciclos de denaturação, hibridação e extensão do segmento gênico de interesse, mais 1 ciclo de 72°C por 7 minutos para a extensão final do fragmento. Após amplificação, os segmentos foram analisados em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Alelos para o polimorfismo da região 3' não codificadora foram denominados de acordo com seus relativos tamanhos: 4 repetições- 200 pb

(alelo4), 7 repetições – 360 (alelo 7), 8 repetições- (alelo 8), 9 repetições-440 pb (alelo 9), 10 repetições -480 pb (alelo 10) e 11 repetições- 520 pb (alelo 11).

#### *Análise do polimorfismo no exon 9 do gene DAT1*

A análise deste polimorfismo foi realizada por meio de amplificação PCR, seguida da digestão do produto amplificado com enzimas de restrição.

A reação de amplificação foi realizada utilizando-se: 100ng de DNA genômico, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 500mM KCl, 100mM Tris-HCl (pH=8,0), 20 pmol de cada oligonucleotídeo (Baar *et al.*, 2001), 200µM de cada deoxinucleotídeo trifosfato e 0,5U Taq DNA polimerase. Os oligonucleotídeos específicos para a amplificação do segmento foram descritos por Baar et al. 2001 e são: forward 5'-GGT GGA AGG AAC CCA ACT G3' e reverse5' - CAC AGC GTG GGC TCT GTG3'.

A amplificação foi realizada em termociclador Peltier Thermal Cycler – 200 (MJ Research) utilizando-se as seguintes condições: 1 ciclo de 94°C por 4 minutos para a denaturação inicial do material genômico, 35 ciclos de 94°C por 40 segundos, 62°C por 40 segundos, 72°C por 30 segundos para a amplificação do segmento gênico de interesse e 1 ciclo de 72°C por 10 minutos para a extensão final do fragmento. O produto resultante da amplificação foi digerido com a enzima de restrição *DdeI* conforme instruções do fabricante. Após digestão, o produto obtido foi analisado em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Os tamanhos dos fragmentos gerados foram de 209 pb (alelo 1) e 110+ 99 pb (alelo 2).

#### *Análise do polimorfismo do íntron 8 do DAT1*

A reação de PCR foi realizada utilizando-se 40-100ng de DNA genômico. Primers utilizados para a reação de cadeia da polimerase para os polimorfismos em estudo estão listados na tabela 4. A mistura da reação incluiu 40-100ng de DNA genômico, 10 pM de primer, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,25 mM dNTP, 10mM x PCR buffer. Os oligonucleotídeos específicos para a amplificação do segmento foram: forward-5'-TTGGCGCGCCGCTTGGGGAAGGAAGGG-3' e reverse 5'-TTGGCGCGCCGTGTGCGTGTCATGTGG-3'. Os produtos foram analisados em gel de agarose 3%. Alelos para o íntron 8 foram chamados de acordo com seus relativos tamanhos: 4 repetições- 309 pb (alelo 1), 5 repetições- 339 pb (alelo 2), 6 repetições-369pb (alelo 3), 7 repetições-399 (alelo 4), 10 repetições -489pb (alelo 5).

#### *Análise do íntron 14 do DAT*

Esta genotipagem foi realizada pelo laboratório K-Biosciences (Cambridge, UK; <http://www.kbioscience.co.uk/>).

### **3.3) Análise do polimorfismo do gene DRD4**

#### *Análise do polimorfismo VNTR no exon 3 do gene DRD4*

A análise do polimorfismo do gene DRD4 foi realizada pela técnica de PCR para o VNTR localizado no exon 3 deste gene. A reação de amplificação foi realizada utilizando-se: 100ng de DNA genômico, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 500mM KCl, 100mM Tris-HCl (pH=8,0), 20 pmol de cada oligonucleotídeo (Baar *et al.*, 2001),



200 $\mu$ M de cada deoxinucleotídeo trifosfato (50% 7 deasadGTP), 10% DMSO e 0,5U Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen Life Technologies). A amplificação foi realizada em termociclador Peltier Thermal Cycler – 200 (MJ Research), utilizando-se as seguintes condições: 1 ciclo de 95°C por 3 minutos para a denaturação inicial do material genômico, 40 ciclos de 95°C por 1 minuto, 53°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto para a amplificação do segmento gênico de interesse e 1 ciclo de 72°C por 7 minutos para a extensão final do fragmento. Após amplificação, os segmentos foram analisados em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo. Primers utilizados: forward5'- CGC ACT ACG TGG TCT ACT CG3' e reverse5'- AGG ACC CTC ATG GCC TTG3'.

#### 3.4) Análise estatística

Foram analisadas as variáveis: idade atual, sexo, estado civil, raça, escolaridade, reprovação escolar, diagnóstico prévio de TDAH, ocupação, genótipos dos pacientes com TDAH, genótipos do grupo- controle, alelos dos pacientes e alelos do grupo- controle.

Os dados foram analisados através do programa SPSS (“Statistical Program for the Social Sciences 10.0”). A análise descritiva foi realizada para as variáveis categóricas e contínuas, a saber:

- a. **Nominal:** gênero (masculino e feminino); estado civil (casado, separado, solteiro, viúvo e outros); ocupação (empregado, desempregado, estudante, do lar e aposentado); raça (branca, negra, pardo, amarelo); diagnóstico prévio de TDAH.

- b. Ordinal:** faixa etária (18 a 25; 26 a 32; 33 a 40; 41 a 48 e acima de 48 anos de idade); escolaridade (analfabeto, primeiro grau incompleto, primeiro grau completo, segundo grau incompleto, segundo grau completo, terceiro grau incompleto e terceiro grau completo), genótipos e alelos.

### **Estudos de Associação Genética**

Estudos de associação alélica são estudos equivalentes aos estudos epidemiológicos do tipo caso-controle. Por meio do programa estatístico SPSS-“Statistical Package for the Social Sciences 10.0” foram calculadas as médias que foram aplicadas ao teste do  $\chi^2$  para verificar a diferença entre genótipos de acordo com gênero e raça. Além disso, foi utilizado o CLUMP versão 2.2 (Sham and Curtis, 1996), um programa estatístico desenvolvido para a análise genética dos alelos, especialmente útil quando há presença de vários alelos em um locus particular (mais do que três).

As diferenças entre as frequências genotípicas observadas e esperadas no equilíbrio de Hardy-Weinberg foram realizadas por meio do programa HWE de Ott (1988).

O cálculo do Poder da Amostra foi realizado, utilizando o programa estatístico EpiInfo (versão 6). Obtivemos um poder de 80% ( $1-\beta$ ), sob as seguintes condições hipotéticas: uma amostra de 100 pacientes e 300 controles, um intervalo de confiança de 95% ( $1-\alpha$ ), a presença do alelo de risco na população-controle em 30%, resultando em um efeito de duas vezes maior para o alelo de risco na susceptibilidade para desenvolver o transtorno (“odds ratio”=2). Esses resultados nos orientam quanto

ao efeito que podemos detectar nos estudos de associação genética sob os parâmetros descritos acima.

### **Estudos de Trios- “Linkage Disequilibrium Test” (TDT)**

“O TDT foi introduzido por Spielman et al. (1993)” e examina se um determinado alelo de um marcador polimórfico é transmitido, preferencialmente, dos pais para os filhos. De acordo com esses autores, um polimorfismo está em associação (desequilíbrio de ligação) com a doença quando os pais heterozigotos (informativos) transmitem para os filhos afetados uma determinada variante do gene mais frequentemente do que seria esperado pelo acaso, ou seja, em mais de 50% das ocasiões aquele alelo é transmitido para afetados pela doença.

Uma extensão desse teste, o ETDT (“Extended Transmission Disequilibrium Test”), desenvolvida por Sham e Curtis (1995), permite a utilização de marcadores polimórficos com mais de duas apresentações.

## RESULTADOS

### 1) Descrição sócio-demográfica dos casos

Participaram do estudo um total de 102 adultos com diagnóstico de TDAH. A inclusão dos pacientes foi feita de acordo com o critério de entrada de cada paciente para tratamento no ambulatório (todos os pacientes do ambulatório foram convidados a participar e todos aceitaram). Os pacientes foram predominantemente do sexo masculino (n= 63, 61,2%) com idade média de 33 anos (amplitude de 20 a 56 anos e desvio padrão de 9,21). Com relação ao estado civil, havia um predomínio de solteiros (48%) -faixa etária que correspondia dos 18 aos 25 anos (Tabela 4), seguido de casados, 39% e separados 11%. Quanto à escolaridade, 90,2% tinham no mínimo 2º grau completo (55 homens e 36 mulheres) e 41,2%, curso universitário (Tabela 5). Não houve diferença quanto à escolaridade e sexo ( $\chi^2=2,89$ , g.l= 4, p=0,57)

Tabela 4 – Estado civil no grupo de pacientes (n=102) conforme a faixa etária.

Faixa etária	Estado civil				
	Solteiro	Casado	separado	Viúvo	Outros
18-25	26	1	0	0	0
26-32	07	5	2	0	0
33-40	10	09	1	0	1
41-48	6	20	6	0	0
>49	0	5	2	1	0
Total	49	40	11	1	1

Tabela 5 – Dados sociodemográficos dos 102 pacientes com TDAH

<i>Variáveis</i>	<i>N</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
<b><i>Estado Civil</i></b>		
Solteiro	49	48
Casado	41	40
Separado	11	11
Viúvo	1	1
<b><i>Sexo</i></b>		
Masculino	63	61,8
Feminino	39	38,2
<b><i>Escolaridade</i></b>		
1º grau incompleto	4	3,9
2º grau incompleto	6	5,9
2º grau completo	27	26,5
3º grau incompleto	23	22,5
3º grau completo	42	41,2
<b><i>Reprovação Escolar</i></b>		
Sim	48	52,2
Não	44	47,8
<b><i>Raça</i></b>		
Branco	88	86,3
Pardo	4	3,9
Negro	6	5,9
Amarelo	4	3,9

Quando ao índice de reprovação escolar, obtivemos informações de 92 informantes, 48 deles (52,17%) foram reprovados no mínimo 1 vez ao longo da vida acadêmica.

No momento do atendimento em nosso serviço, 57% (58/102) dos pacientes estavam empregados e 22,5% (23/102) estavam desempregados (Tabela 6). Mesmo naqueles indivíduos empregados, pode-se observar queixas de alguma dificuldade na vida profissional, bem como em outras áreas de relacionamento como atividades sociais e familiares. Isso motivou 42 pacientes dos 96 com informações sobre essas dificuldades a procurarem, em algum momento ao longo da vida, por ajuda profissional (psicoterápica e/ou psiquiátrica). Destes 42 pacientes, apenas 18 pacientes

receberam diagnóstico de TDAH previamente ao atendimento no PRODATH (Tabela 7).

Tabela 6 – Condição profissional dos 102 pacientes com TDAH.

	<i>N</i>	<i>Percentagem (%)</i>
Empregado	58	56,9
Desempregado	23	22,5
Estudante	15	14,7
Do Lar	5	4,9
Aposentado	1	1,0
<b>Total</b>	102	100

Tabela 7 –Frequência de atendimento psiquiátrico/psicoterápico prévio ao tratamento no PRODATH em 42 pacientes (54 pacientes não procuraram ajuda anteriormente)..

	<i>N</i>	<i>Percentagem (%)</i>
Sim	42	43,8
Não	54	56,3
<b>Total</b>	96	100

## 2. Controles: Descrição do gênero e da raça

Selecionamos 481 controles (de um total de 866 indivíduos). Destes 323 eram do sexo masculino (67%) e 87% classificados como brancos. Comparando as duas amostras, confirmamos não haver diferenças estatisticamente significantes para raça e sexo (etnia  $p= 0,822$  e sexo  $p=0,425$ ).



## 2) Análise Genético-Molecular – Estudo de Associação Alélica

### 2.1) Gene DAT1

*Análise do polimorfismo VNTR na região não codificadora do éxon 15 do gene DAT1*

A análise do polimorfismo do tipo VNTR na região 3' não codificadora do éxon 15 do gene DAT1 foi realizada pela técnica de PCR em 102 pacientes com TDAH e 481 controles. As amostras estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (casos:  $X^2=1,449$  e  $p= 0,999$ ; controles:  $X^2= 21,018$  e  $p= 0,13$ ). O gel representativo desta análise está apresentado na Figura 5. Dos pacientes analisados, 5,9% (6/102) foram homozigotos para o alelo 9; 40,2% (41/102) foram heterozigotos para os alelos 9/10; 51% (52/102) foram homozigotos para o alelo 10; 2,9% (3/102) foram heterozigotos para os alelos 10/11.

O alelo encontrado com maior frequência nos pacientes portadores de TDAH foi o alelo 10 (72,5%), seguido pelo alelo 9 (26%). Os alelos 4,7 e 8 não foram observados nos pacientes com TDAH. Um resumo da frequência genotípica do gene DAT1 observada nos pacientes portadores de TDAH estudados está apresentado na Tabela 8. Quanto ao gênero, não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição alélica entre os pacientes com TDAH e grupo controle ( $p= 0,120$ ). Não houve diferença, no grupo de pacientes, quanto à distribuição do alelo 10 e gênero (que possuíam o alelo 10: 60 homens e 36 mulheres e que não possuíam: 3 homens e 3 mulheres),  $p=0,418$ .

Dos controles analisados, não houve informação dos genótipos de 2 controles. Do total de 479 controles, 10,2% (49/479) foram homozigotos para o alelo 9; 33% (161/479) foram heterozigotos para os alelos 9/10; 51,3% (246/479) foram



homozigotos para o alelo 10. O alelo encontrado com maior frequência nos controles foi o alelo 10 (70%), seguido pelo alelo 9 (27,5%). Encontrado os alelo 4, 7, 8 e 11 numa frequência menor que 2%. Um resumo da frequência genotípica e alélica do gene DAT1 observada nos pacientes portadores de TDAH estudados estão apresentados nas Tabela 8 e 9.

Tabela 8 - Frequências dos genótipos em pacientes e controles para os polimorfismos da região 3' não codificadora, íntron 8 e íntron 14 do gene DAT1.

Genótipo	Controle	Pacientes	$X^2$	P
<b>VNTR 3'UTR</b>				
4/10	4	0	7,207	0,616
7/10	3	0		
8/9	1	0		
8/10	3	0		
9/9	49	6		
9/10	161(33%)	41 (40%)		
9/11	4	0		
10/10	246 (51%)	52 (51%)		
10/11	7	3		
11/11	1	0		
Total	479	102		
<b>Íntron 8</b>				
1/3	3	1	19,884	0,006
2/2	38 (8%)	5 (5%)		
2/3	230 (48%)	32 (34%)		
2/4	0	1		
2/5	1	0		
3/3	203 (42%)	54 (53%)		
3/4	0	1		
3/5	6	0		
Total	481	94		
<b>Íntron14</b>				
1/1	344	84	7,340	0,025
1/2	97	9		
2/2	15	3		
Total	456	96		
<b>Éxon 9</b>				
1/1	8	14	2,290	0,318
1/2	39	35		
2/2	56	48		
Total	103	97		

Íntron 8: alelo 1= 4 repetições de 30pb; alelo 2= 5 repetições de 30pb; alelo3= 6 repetições de 30pb; alelo4= 7 repetições de 30pb e alelo 5= 10 repetições de 30pb.

#### *Análise do polimorfismo do íntron 8 do gene DAT1*

A análise do polimorfismo do íntron 8 do gene DAT1 foi realizada em 94 pacientes com diagnóstico de TDAH e 481 controles. As amostras analisadas para este polimorfismo estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (casos:  $X^2=0,135$ ,  $p=0,709$  e controles:  $X^2=0,087$ ,  $p=0,767$ ). Distribuições alélica e genotípica estão demonstradas nas tabelas 9 e 10. Houve uma diferença significativa para os genótipos e alelos relacionado ao alelo 3 (6 repetições de 30 pb). Não houve diferença entre pacientes e controles para os indivíduos que carregavam o alelo 2 (excluído da análise o genótipo 2/3):  $X^2=0,324$  e  $p=0,569$ .

#### *Análise do polimorfismo do íntron 14 do gene DAT1*

A análise do polimorfismo do íntron 14 do gene DAT1 foi realizada em 96 pacientes e 456 controles. Distribuição alélica e genotípica estão demonstradas nas tabelas 9 e 10. Houve uma diferença estatisticamente significativa para os genótipos e alelos entre pacientes e controles relacionados ao alelo 1.

#### *Análise do polimorfismo no éxon 9 do gene DAT1*

A análise do polimorfismo no éxon 9 do gene DAT1 foi realizada pela técnica de PCR em 97 pacientes portadores de TDAH e 103 controles. O gel representativo desta análise está apresentado na Figura 6. Dos pacientes analisados, 14% (14/97) foram homozigotos para o alelo 1; 49% (48/97) foram homozigotos para o alelo 2, 36% (35/97) foram heterozigotos. O alelo encontrado com maior frequência nos pacientes portadores de TDAH foi o alelo 2 (67,5%). Na população

de indivíduos controle foram genotipados 103 indivíduos, dos quais 8% (8/103) foram homocigotos para o alelo 1, 54% (56/103) foram homocigotos para o alelo 2 e 38% (39/103) foram heterocigotos. O alelo encontrado com maior frequência nos indivíduos controle foi o alelo 2 (73%). Um resumo da frequência dos alelos do gene DAT1 observada nos pacientes e nos controles está apresentado na Tabela 9.

Tabela 9: Frequência dos alelos do gene DAT1: região 3' não codificadora, íntron 8 e íntron14 e éxon 9.

Alelos	Controles	Casos	$X^2$	gl	P
VNTR região 3' não codificadora					
4	4	0	2,67	5	0,75
7	3	0			
8	4	0			
9	264 (27,5%)	53 (26%)			
10	670 (70%)	148 (72,5%)			
11	13 (1,35%)	3 (1,5%)			
Total	958	204			
VNTR íntron 8					
1	3	1	17,69	4	0,001
2	307 (32%)	43 (23%)			
3	645 (67%)	142 (75,5%)			
4	0	2			
5	7	0			
Total	962	188			
Íntron 14					
1	785 (86%)	177 (87%)	5,28	1	0,021
2	127	15			
Total	12	192			
Éxon 9					
1	55	63	1,60	1	0,205
2	151	131			
Total	206	194			

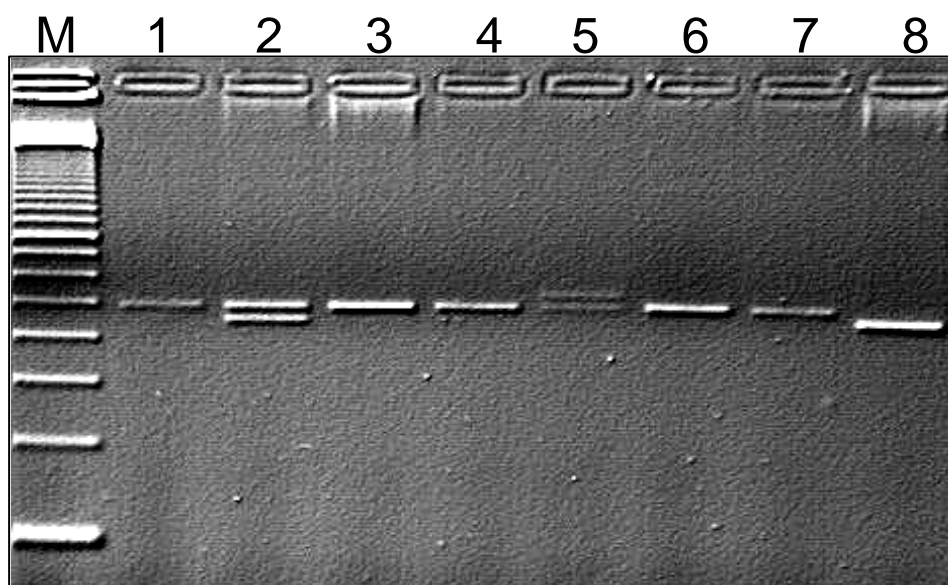


Figura 5 – A) Gel representativo da análise do polimorfismo do tipo VNTR da região 3' não codificadora do éxon 15 do gene DAT1 em pacientes portadores de TDAH. **M**- marcador de peso molecular 100pb; **1,3,4,6,7** – indivíduos homocigotos para o alelo 10; **8** – indivíduo homocigoto para o alelo 9; **2** – indivíduo heterocigoto para os alelos 9/10; **5** – indivíduo heterocigoto para os alelos 10/11; do éxon 15)

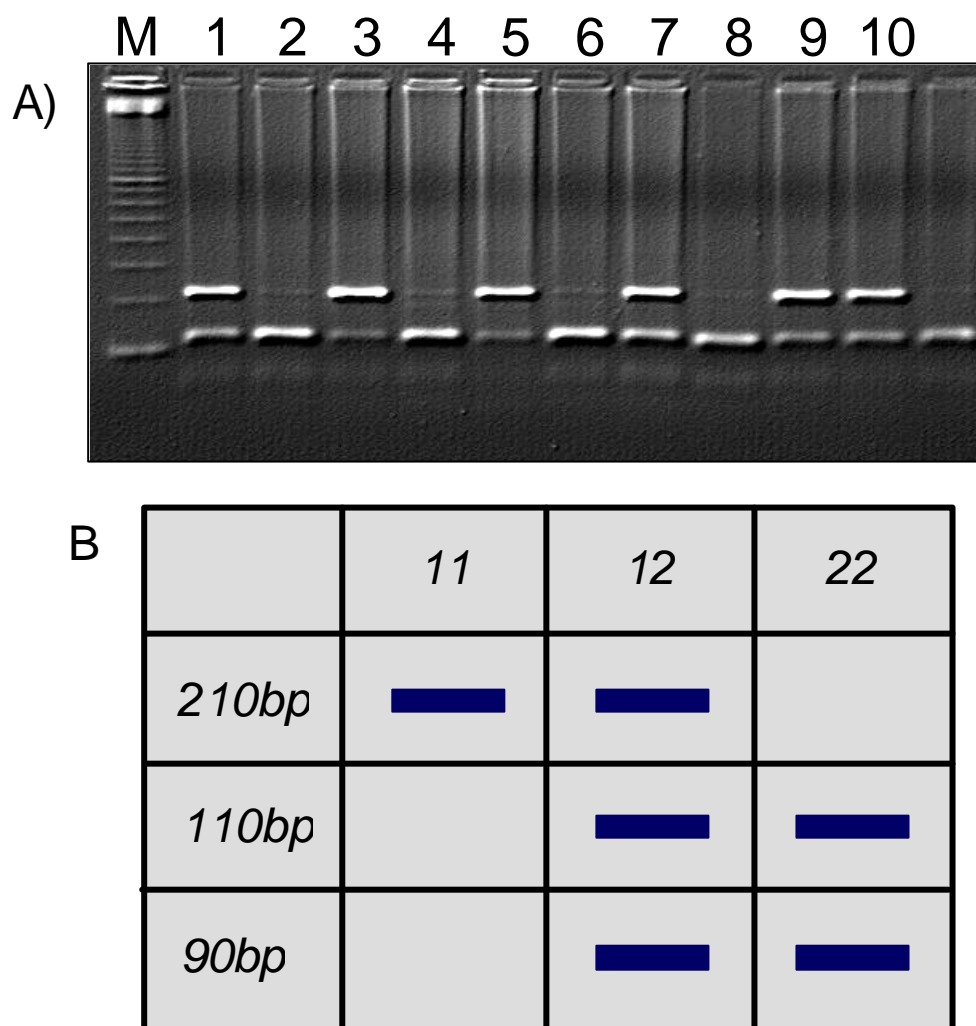


Figura 6 – Gel representativo da análise do polimorfismo do éxon 9 do gene DAT1 em pacientes portadores de TDAH. M- marcador de peso molecular 100pb;

## 2.2) Análise do polimorfismos do DRD4

A análise do polimorfismo do tipo VNTR do éxon 3 foi realizada pela técnica de PCR em 54 pacientes portadores de TDAH e 104 controles. A raça, tanto para grupo de pacientes com TDAH como para grupo controle, foi predominantemente branca (83,3% e 81,7% respectivamente) e maioria do sexo masculino, sendo 67 (64%) nos controles e 37 (68%) nos casos.

### *Análise do polimorfismo do éxon 3 do gene DRD4*

As amostras analisadas estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo do éxon 3 do DRD4 (controles:  $X^2 = 2,95$ ;  $p = 0,73$  e casos:  $X^2 = 4,72$ ;  $p = 1,0$ ).

Não foi verificado diferença para distribuição genotípica na amostra total ( $p = 0,243$ ), mas sim para a distribuição alélica ( $X^2 = 7,215$  e  $p = 0,007$ ) em que o responsável por este valor foi o alelo 2. A frequência dos alelos 2, 4 e 7 para os pacientes foi de 12%, 62% e 20,37% respectivamente e para os controles, 5,6%, 61,05% e 21,6%. Verificado uma diferença alélica significativa entre as duas populações. Não houve diferenças de gêneros para as distribuições genotípicas (sexo feminino:  $X^2 = 9,729$  e  $p = 0,555$  e sexo masculino:  $X^2 = 15,823$  e  $p = 0,259$ ) Tabela 10.

Tabela 10 – Distribuição alélica e genotípica do gene para o receptor da dopamina subtipo 4 (DRD4) éxon 3.

Genótipo DRD4	Controles			Casos		
	Fem	mas	%	Fem	mas	%
2/2	0	2	2	0	0	
2/3	1	1	2	0	0	
2/4	1	2	3	3	7	17
2/7	0	3	3	0	3	
3/3	1	0		0	0	
3/4	2	4	5	0	1	
3/6	1	0		0	0	
3/7	0	1		0	0	
4/4	16	25	39	6	13	36
4/5	2	2		1	0	
4/6	0	3	3	1	1	
4/7	9	19	27	4	10	26
4/8	1	0		0	1	
5/7	1	1	2	0	0	
7/7	2	3	5	2	0	
7/8	0	1		0	1	
Total	37	67		17	37	
<b>Alelos</b>						
2	12		6	13		12
3	12		06	1		0
4	<b>127</b>		<b>61</b>	<b>67</b>		<b>62</b>
5	6		3	1		1
6	4		2	2		2
7	<b>45</b>		<b>21</b>	<b>22</b>		<b>21</b>
8	2		1	2		2

Frequência alélica  $X^2 = 7,215$ ;  $p = 0,007$

Frequência genotípica:  $X^2 = 18,377$   $p = 0,243$

## DISCUSSÃO

O presente estudo procurou selecionar e investigar do ponto de vista genético-molecular uma amostra de pacientes com diagnóstico de TDAH em adultos.

Passaremos agora a comentar os nossos resultados e comparar com a literatura internacional dentro de tópicos específicos. São eles:

### 1) Perfil sócio-demográfico:

Verificamos que nos pacientes atendidos no PRODATH há um predomínio do sexo masculino (1,6:1), mas não tão dramático como descrito na população infantil, corroborando resultados que indicam sintomas clinicamente significantes e igualmente prevalentes em homens e mulheres (Wender, 2001; Wilens, 2002). Para Weiss e Murray (2003) esta perda de diferença pode refletir um viés, porque não há dados para sugerir padrões diferentes de remissão específicos para sexo, provavelmente as meninas não são adequadamente diagnosticadas ou então procurem menos os serviços médicos, pois esta razão maior entre meninos e meninas ocorre mais em estudos clínicos do que em estudos na comunidade (Biederman and Faraone, 2005).

A elevada escolaridade da população estudada (90,2% da amostra possui no mínimo o 2º grau completo) contrasta com a realidade da população brasileira em que 39% têm no mínimo o 2º grau, de acordo com pesquisa do IBOPE (2003). Uma das hipóteses para este dado pode ser um provável viés de seleção, pois, embora se tratando de uma instituição pública, a maioria dos pacientes tomou conhecimento por meio da mídia (jornais, revistas, internet).



Apesar da alta escolaridade, uma das principais queixas desses pacientes foi a dificuldade no aprendizado e o baixo rendimento escolar que se comprovaram pelo histórico de reprovações ao longo da vida acadêmica, com 52% deles tendo sido reprovado pelo menos uma vez. Tal achado é consistente com o corpo da literatura que mostra alto risco de repetições e pobre rendimento acadêmico em crianças com TDAH (Biederman et al. 1990). Comparado com pares de crianças sem TDAH, Brakley (1998) observou reprovação escolar em 42% das crianças com TDAH vs. 13% sem TDAH.

No presente estudo, separações conjugais ocorreram em 11% dos paciente, inferior ao verificado por Biederman et al (1993) que encontrou 28% de separações conjugais comparado ao controle (15%); a falta de um grupo controle não permite inferir, contudo, qual o impacto dessa frequência neste grupo.

Em nossa observação clínica, a larga amplitude de idade (20 a 56 anos) mostrou preocupações de ordens diferentes nos pacientes: os mais jovens ambicionavam finalização de projetos e estabilidade de vários segmentos da vida, como vida acadêmica, relacionamentos afetivos e trabalho; os mais velhos, mostraram muito mais lamentosos acerca das perdas ao longo da vida, entretanto uma busca permanente por estabilidade no emprego e vida familiar. Muitos destes adultos já haviam procurado algum tipo de ajuda no passado (psicoterapia, atendimento psiquiátrico e outras abordagens), mas sem muitos resultados, houve apenas melhora de alguns sintomas, mas o funcionamento global continuava prejudicado por conta da desorganização, impulsividade e inquietação.

A procura por ajuda médica na população com TDAH ocorreu em 43% dos pacientes, entretanto mais da metade não recebeu o diagnóstico. O TDAH no adulto

ainda é tratado por muitos como uma condição órfã, pois nem todos os profissionais fazem uma investigação detalhada quanto a aspectos da infância e outro fator é a presença elevada de comorbidades que podem mascaram o TDAH, mas essa situação vem se modificando. Com a explosão na mídia, sobre TDAH, o interesse popular no diagnóstico cresceu acentuadamente e muitos pais, além de identificarem em seus filhos a presença de sintomas sugestivos do TDAH, puderam observar que vários de seus comportamentos, antes criticados e motivos de problemas ao longo da vida eram semelhantes aos de seus filhos e, deste modo, passaram a buscar auxílio profissional

A caracterização fenotípica do TDAH no adulto tem importante papel para várias investigações e tem sido sistematicamente discutida na comunidade científica, afinal os critérios do DSM-IV foram “emprestados” da infância e não se aplicam integralmente ao adulto. A investigação, por exemplo, do seguinte comportamento: “correr ou escalar em demasia em situações nas quais isto é inapropriado” não é adequado para o adulto. Também é questionável a validade quanto aos subtipos, pois em estudo de Lahey et al., (2005) crianças apresentaram, em avaliações subsequentes, mudanças quanto aos subtipos. São várias as fragilidades dos critérios do DSM-IV, por exemplo, no critério A: dimensão desatencional (sintoma d): “freqüentemente não segue instruções e falha em terminar tarefas escolares...”, há a presença de 2 sintomas sendo que o indivíduo pode não seguir instruções, mas terminar tarefas, ou seja fica muito restritivo.

Em nossos atendimentos, observamos que há adultos que não preenchem todos os critérios para TDAH de acordo com o DSM, mas que apresentavam queixas e prejuízos de forma que seria possível enquadrá-los naqueles critérios. Kooij et al. (2004), em estudo de correlação de sintomas de desatenção e hiperatividade em

adultos com TDAH e prejuízo psicossocial, verificaram que indivíduos a partir de quatro ou mais sintomas hiperativo/impulsivo e de desatenção foram significativamente mais prejudicados que indivíduos com dois, um ou nenhum sintoma. Destarte, vários pacientes estão deixando de ser diagnosticados e conseqüentemente tratados para o TDAH.

Apesar de várias controvérsias quanto à aplicação dos critérios diagnósticos do DSM-IV para o adulto, ele vem sendo utilizado em numerosos estudos com TDAH: condições comórbidas, prejuízos psicossociais, resposta terapêutica, estudo de genética molecular, entre outros (McGough et al., 2004) e por este motivo ele foi empregado em nosso trabalho.

Revisões subseqüentes têm demonstrado que TDAH no adulto é um transtorno válido, não obstante as discussões geradas em torno dos critérios diagnósticos (McGough et al., 2004).

## 2) Estudo genético-molecular

Faraone et al. (2000), sugerem que o TDAH que persiste na adolescência e vida adulta deva ter uma influência genética maior do que para aqueles que remitem, visto que o risco relativo do TDAH é maior em familiares de pacientes com a forma persistente do transtorno do que em familiares de crianças que remitem. Então, a variante persistente do TDAH parece surgir como um fenótipo promissor para a detecção de alelos de susceptibilidade (Muglia et al. 2002).

### *Gene DAT1*

Neste estudo, examinamos 102 pacientes com TDAH e 481 controles e verificamos que não houve diferença entre a distribuição alélica do polimorfismo localizado na região 3' não codificadora para os pacientes com TDAH e os controles. Por se tratar de uma população miscigenada, provavelmente as frequências alélicas pudessem ser diferentes, entretanto para os alelos com distribuição mais altas (alelos 9 e 10) a distribuição foi semelhante à população européia (72% para o alelo 10 e 26% para o alelo 9) (Vieyra et al., 2003).

Nosso trabalho foi semelhante ao único estudo realizado com adultos com TDAH e o gene DAT1 (Muglia et al., 2002), em que não se encontrou associação entre TDAH e o polimorfismo localizado na região 3' não codificadora. O polimorfismo que consiste de uma repetição em tandem de 40 pb, o alelo com 10 repetições (alelo10) tem sido considerado de risco para TDAH e preferencialmente para sintomas de hiperatividade (Waldman et al., 1998), mas conforme estudo de Biederman et al.(2000) em cerca de 80% das crianças os sintomas de hiperatividade desaparecem na vida adulta, o que poderia ser uma hipótese plausível para não ser encontrada associação entre o alelo 10 e TDAH.

O mecanismo para a associação entre o TDAH e o polimorfismo localizado dentro da região 3' não codificadora ainda não é muito bem compreendido. Estudos propõem que essa região possa estar envolvida na regulação da eficiência da transcrição, na estabilidade do RNA mensageiro ou na localização subcelular do RNA mensageiro (Mignone et al., 2002). Em estudo de Mill et al (2005) não foi observado efeito desse polimorfismo sobre a expressão e sugerem que as

associações observadas com fenótipos psiquiátricos possam ser mediadas via *linkage disequilibrium* com outros polimorfismos funcionais. Esse estudo corrobora observações de outros pesquisadores (Barr et al. 2001a; Barr et al 2001b).

A região próxima ao polimorfismo da região 3' não codificadora, mais especificamente nas extremidades do DAT1 (regiões 5' e 3'), apresenta um forte desequilíbrio de ligação, conforme relataram Greenwood et al (2003), e nas regiões intermediárias, chamadas "*hot spot*", pouco desequilíbrio de ligação. Baseado nestes resultados, avaliamos mais outros 3 polimorfismos do DAT1: um com uma variação de até 6 cópias de 30 pb no íntron 8 (Vandenbergh et al, 2000; Guindalini et al, submetido), troca de base A/G no éxon 9 (Barr et al, 2001) e inserção/deleção no íntron 14 (Greenwood et al, 2003).

Para o polimorfismo localizado no éxon 9, nenhuma associação foi observada, mas identificamos uma associação positiva com alelos e genótipos do polimorfismo analisado no íntron 8 do DAT1, relacionado à repetição de 30 pb (alelo 3). Até o momento, nenhum estudo evidenciou associação entre este polimorfismo e TDAH, mas em estudo de Guindalini et al com dependentes de cocaína houve uma associação positiva. Ainda nesse mesmo estudo com análise de expressão, verificou-se que o alelo está relacionado à modificação na expressão gênica, enquanto o alelo 2 (considerado protetor) não exhibe qualquer alteração. Entretanto, há necessidade de replicação tanto para a associação genética quanto para o aspecto funcional deste polimorfismo.

O resultado positivo observado com o polimorfismo no íntron 14 pode ser devido a não estar em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A associação entre TDAH e o gene DAT1 foi confirmada em estudo de meta-análise (Maher et al., 2002) encorajando a continuidade de pesquisas em busca de possíveis associações na população adulta. A evidência de conflitos em estudos de associação representa uma tendência comum em doenças complexas (Muglia et al. 2002), em que vários fatores podem contribuir para não se encontrar associação genética, como por exemplo, o envolvimento de vários genes e heterogeneidade clínica, daí a importância de amostras maiores, de forma a obter-se poder estatístico.

### ***Gene DRD4***

#### 1. Polimorfismo do VNTR do éxon 3

Em nosso trabalho, encontramos associação significativa entre o alelo com 2 repetições de 48 pb (alelo 2) e pacientes com TDAH. A maioria dos estudos, realizados com caucasianos, encontrou associação positiva com TDAH e o alelo de 7 repetições de 48 pb no éxon 3 do DRD4, conforme estudo de meta-análise (Faraone et al., 2001). O alelo 2 (2 repetições de 48pb) é encontrado em maior frequência em população asiática, e em estudo com 32 crianças chinesas com diagnóstico de TDAH observou-se aumento da prevalência do alelo 2 nesta população (33%) comparado a controles normais (20%) ( $p=0,015$ ) (Leung et al., 2004).

Na linha evolutiva do gene DRD4, o alelo de 4 repetições (>300.000 anos de idade) é o mais antigo e dele derivaram todos os demais, como o alelo 7 que é 5 a 10 vezes mais jovem, e seu aumento, provavelmente, ocorreu com o aparecimento de novas tecnologias e ou pelo desenvolvimento da agricultura, em que indivíduos com certos traços de personalidade - como busca de novidade, perseverança, etc

lançaram-se explorando outras regiões e reproduzindo-se (Ding et al, 2002). Então, é possível especular que um alelo que foi importante no processo evolutivo possa predispor o indivíduo que, possui esse mesmo alelo nos dias atuais, a comportamentos considerados impróprios e diagnosticado como TDAH.

Wang (2004) propõe que indivíduos com alelo 2 apresentariam fenótipos de comportamentos intermediários entre os manifestos pelo alelo 4 e alelo 7; a alta frequência do alelo 2 na Ásia dever-se-ia, portanto, à substituição com o alelo 7, influenciado por fatores ambientais e/ou culturais.

Muglia et al(2000) num estudo de caso-controle com adultos com o TDAH encontraram associação entre este transtorno e o alelo com 7 repetições de 48pb do gene DRD4. Esse foi o único trabalho descrito, até o momento, com TDAH no adulto e investigação do DRD4; portanto, nosso resultado positivo com o alelo 2 e TDAH necessita de uma observação cuidadosa, pois o polimorfismo com 2 repetições de 48 pb não é o mais encontrado na população ocidental.

Manor et al (2002) estudaram o efeito dos alelos do DRD4 em probandos israelenses com TDAH sobre *Test of Variables of Attention (TOVA)* e observaram um pequeno, mas significativo excesso de repetições de alelos curtos (de 2 a 5 repetições) comparados aos controles ( $X^2= 4,57$ ,  $p= 0.032$ , 1 gl) e, de modo intrigante, aquelas crianças carregando alelos longos (de 6 a 8 repetições) tiveram melhor desempenho para as medidas de impulsividade do que as que possuíam alelos curtos (o alelo 2 com pior desempenho e alelo 7 com os melhores resultados), contrariando demais estudos que encontraram associação de TDAH com o alelo de 7 repetições de 48 pb do gene DRD4 (seria o esperado, visto tratar-se de um alelo relacionado a traços de impulsividade).

Entretanto para melhor interpretação desta associação positiva em nosso trabalho, o aumento da casuística faz-se necessário, bem como o estudo de outras variáveis como comorbidades e traços de personalidade que poderiam auxiliar na melhor discriminação deste transtorno.

### 3) Limitações Metodológicas

A discussão relacionada às limitações metodológicas serão abordadas em dois tópicos:

#### 3.1) Dos dados clínicos:

O início do atendimento ambulatorial a pacientes adultos com TDAH foi predominantemente clínico, em que a inclusão conforme critérios do DSM era obrigatória; contudo a criação de um protocolo de atendimento foi ocorrendo ao longo do tempo, o que acarretou perda de várias informações clínicas passíveis de mensurações, tais como comorbidades, doenças mentais na família e outras. A elaboração de um protocolo para os pacientes com TDAH foi feita ao longo do estudo, sob supervisão do coordenador do PRODATH- Dr Mário R. Louzã e atualmente em fase de conclusão.

#### 3.2) Da parte laboratorial

Em consequência do aprendizado da autora nas técnicas laboratoriais, muitas genotipagens realizadas por ela foram descartadas por essas não apresentarem clareza quanto aos alelos/genótipos. Outra dificuldade é a reação de PCR no



polimorfismo éxon 3 DRD4, dificuldade esta relatada por vários outros grupos internacionais. Dessa forma, genotipagens não claras não foram incluídas, o que diminuiu o poder estatístico da amostra para detectar alelos de susceptibilidade.

O tamanho da amostra representa também uma limitação metodológica. Apesar de procurarmos colher pelo menos cem pacientes, observamos na literatura que os estudos iniciais que relataram associação positiva tanto para o DRD4 quanto para o DAT1 foram realizados em amostras menores (p.ex. Cook et al. 1995).

Um outro fator de controvérsia seria a nossa classificação de raça baseada no fenótipo: um fator de interferência para os estudos de associação é a miscigenação, devido às diferentes distribuições dos alelos em populações distintas. Estratificação populacional é a causa mais comum para conflitos de resultados em estudos genéticos, em que investigações comparando diferentes populações raciais têm mostrado significativas variações alélicas, com isso, o poder estatístico para se detectar associação pode estar reduzido em amostras miscigenadas (Kang et al., 1999); desta forma os estudos de genética realizados no Brasil frequentemente fazem ressalvas quanto a este fator. Além disso, Parra et colaboradores (2003), investigando uma população brasileira, concluíram que características como pigmentação da pele, textura e cor de cabelo, forma de nariz e lábios, são preditores pobres para a ancestralidade genômica. O fato de a presente amostra estar em equilíbrio de Hardy-Weinberg exceto para o polimorfismo do íntron 14 do grupo-controle, indica que nossa amostra pode não ter problema significativo quanto à estratificação populacional (Weiss et al., 2001). Além disso, Guindalini demonstrou na amostra controle do PROGENE que não havia grandes diferenças entre a classificação do fenótipo na totalidade da amostra comparado com marcadores para grupos raciais.

Por fim, podemos observar que as análises de trios, realizadas em 32 trios para o DAT1(3' VNTR) e 23 trios para o DRD4 (éxon 3), apresentaram uma distribuição dos alelos de forma semelhante à amostra na análise do tipo caso-control.e não evidenciado transmissão preferencial de seus alelos.

**CONCLUSÕES:**

Os principais achados desse trabalho são:

- 1) **Dados sóciodemográficos:** as informações obtidas em nossa amostra com TDAH são semelhantes aos outros estudos da literatura, sugerindo que este transtorno se comporta de modo parecido em diferentes países. Apesar dessas observações não serem de uma amostra de base populacional e, portanto, não podem ser generalizadas. Muitos dos estudos internacionais também apresentam um desenho de investigação semelhante ao nosso com resultados também semelhantes, apesar das diferenças culturais e raciais. Ainda por nossa amostra ser composta por indivíduos mais graves, podemos avaliar, de modo mais objetivo, os prejuízos e sofrimentos causados pelo TDAH nesses indivíduos.
- 2) **DAT1:** observamos uma associação alélica do intron 8 (alelo 3 com 6 repetições de 30 pb) do gene que codifica o transportador da dopamina na população adulta com TDAH quando comparada com um grupo-controle ( $p=0,001$ ), sugerindo uma possível participação desse alelo na vulnerabilidade para desenvolver o TDAH.
- 3) **DRD4:** Embora tenhamos encontrado uma associação positiva da variante alélica do polimorfismo com repetição de 48 pb do gene que codifica o receptor dopaminérgico subtipo 4 para o TDAH ( $p=0,007$ ), devemos ser cuidadosos na interpretação dessa associação, pois pode ser um resultado falso-positivo, devido ao tamanho da amostra investigada.

**Trabalhos científicos originados a partir desta dissertação:****CARTA:**

**Maria Aparecida Silva**, Quirino Cordeiro, Elisabete Cristina Miracca, Camila Guindalini, Homero Vallada. Distribución de alelos del polimorfismo VTR em la región 3' no codificante del gen del DAT1 (SLC6A3) em São Paulo/Brasil y su importancia para los estudios genéticos de los trastornos neuropsiquiátrico em poblaciones mixtas". *Revista Médica de Chile* in press.

**PÔSTER:**

Maria Aparecida Silva, Camila Guindaline, Mario R.Louzã, Cathy L.Barr, Gerome Breen, Homero Vallada. Dopamine Transporter Gene Polymorphisms and Adult ADHD. World Congress Psychiatry Genetic. 2005.

**ARTIGO:**

Submetido: Maria Aparecida da Silva, Mário R. Louzã, Homero P. Vallada. Attention déficit hiperactivity disorder in adults: social-demographic profile. *Arquivos de Neuropsiquiatria*

## Critérios diagnósticos para TDAH do DSM-IV

### A. Ou (1) ou (2)

1. Seis (ou mais) dos seguintes sintomas de desatenção persistiram por pelo menos seis meses, em grau mal adaptativo e inconsistente com o nível de desenvolvimento:

#### Desatenção

- a) Frequentemente deixa de prestar atenção a detalhes ou comete erros por descuido em atividades escolares, de trabalho ou outras;
  - b) Com frequência tem dificuldades para manter a atenção em tarefas ou atividades lúdicas;
  - c) Com frequência parece não escutar quando lhe dirigem a palavra;
  - d) Com frequência não segue instruções e não termina deveres de casa, tarefas domésticas ou deveres profissionais (não devido a comportamento de oposição ou incapacidade de compreender instruções);
  - e) Com frequência tem dificuldade para organizar tarefas e atividades;
  - f) Com frequência evita, antipatiza ou reluta em envolver-se em tarefas que exijam esforço mental constante (como tarefas escolares ou deveres de casa);
  - g) Com frequência perde coisas necessárias para tarefas ou atividades (p.ex. brinquedos, tarefas escolares, lápis, livros ou outros materiais);
  - h) É facilmente distraído por estímulos alheios à tarefa;
  - i) Com frequência apresenta esquecimento em atividades diárias;
2. Seis (ou mais) dos seguintes sintomas de hiperatividade persistiram por pelo menos seis meses, em grau mal adaptativo e inconsistente com o nível de desenvolvimento.

#### Hiperatividade

- a) Frequentemente agita as mãos ou os pés ou se remexe na cadeira;
- b) Frequentemente abandona sua cadeira em sala de aula ou outras situações nas quais se espera que permaneça sentado;
- c) Frequentemente corre ou escala em demasia, em situações nas quais isto é inapropriado (em adolescentes ou adultos pode estar limitado a sensações subjetivas de inquietação);
- d) Com frequência tem dificuldade para brincar ou se envolver silenciosamente em atividades de lazer;
- e) Esta frequentemente “a mil” ou muitas vezes age como se estivesse “a todo vapor”;
- f) Frequentemente fala em demasia;

## Impulsividade

- g) Frequentemente as respostas precipitadas antes de as perguntas terem sido completadas;
  - h) Com frequência tem dificuldade para aguardar sua vez;
  - i) Frequentemente interrompe ou se intromete em assuntos dos outros (p.ex. intromete-se em conversas ou brincadeiras).
- B. Alguns sintomas de hiperatividade-impulsividade ou desatenção que causaram prejuízo estavam presentes antes dos sete anos de idade.
- C. Algum prejuízo causado pelos sintomas está presente em dois ou mais contextos (p.ex. na escola [ou trabalho] e em casa).
- D. Deve haver claras evidências de prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, acadêmico ou ocupacional.
- E. Os sintomas não ocorrem exclusivamente durante o curso de um Transtorno Invasivo de Desenvolvimento, Esquizofrenia ou outro Transtorno Psicótico e não são mais bem explicados por outro transtorno mental (p.ex. Transtorno de Humor, Transtorno de Ansiedade, Transtorno Dissociativo ou um Transtorno de Personalidade).

Codificar com base no tipo:

- Tipo combinado se tanto o critério A1 quanto o critério A2 são satisfeitos durante os últimos seis meses;
- Tipo predominantemente desatento se o critério A1 é satisfeito, mas o critério A2 não é satisfeito durante os últimos seis meses;
- Tipo predominantemente hiperativo-impulsivo se o critério A2 é satisfeito, mas o critério A1 não é satisfeito durante os últimos seis meses;

Nota: para indivíduos (em especial adolescentes e adultos) que atualmente apresentam sintomas que não satisfazem todos os critérios, especifica “em remissão parcial”.

American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4<sup>th</sup> e.). Washington, DC: Author. 1994

Barkley RA. Attention-Deficit/hyperactivity Disorder: A clinical Workbook. New York, NY: Guilford Press; 1998.

Barr CL, Wigg K, Malone M, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Kennedy JL. Linkage study of catechol-O-methyltransferase and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Medical Genetics*. 1999; 88:710-713.

Barr C.L, Xu C, Kroft J, Feng Y, Wigg K, Zai G e col., Haplotype Study of Three Polymorphisms at the Dopamine Transporte Locus Confirm Linkage to Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biol. Psychiatry*. 2001a; 49:333-339.

Barr CL, Feng Y, Wigg K, Schachar R, Tannock R, Roberts W e col., 5'-Untranslated Region of the Dopamine D4 Receptor Gene and Attention-Deficit Hypercativity Disorder. *Am.J.Medical Genetics*. 2001b; 105: 84-90.

Beiguelman B. Genética Médica. São Paulo, EDART, Editora da Universidade de São Paulo, 1977. 2v.

Biederman J, Faraone SV, Keenan K, Knee D, Tsuang MT. Family-genetic and psychosocial risk factors in DSM-III attention deficit disorder. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, 1990; 29:526-533.

Biederman J, Faraone SV, Spencer T, Wilens T, Norman D, Lapey KA e col., Patterns of Psychiatric Comorbidity, Cognition, and Psychosocial Functioning in Adults With Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry*. 1993; 150 (12) 1792-1798.

Biederman J, Faraone SV, Mick E, Spencer T, Wilens T, Kiely K, Guite J e col., High Risk for Attention Deficit Hyperactivity Disorder Among of Parents wWith Childhood Onset of the Disorder: A Pilot Study. *Am J Psychiatry*. 1995; 152 (3):431-435.

Biederman J and Spencer T. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) as a Noradrenergic Disorder. *Biological Psychiatry* 1999; 46: 1234-1242.

Biederman J, Mick E, Faraone SV. Age-dependent decline of symptoms of attention deficit hyperactivity disorder: Impact of remission definition and symptom type. *Am J Psychiatry*. 2000; 157(5): 816-818.

Biederman J and Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. 2005; 366 (16): 237-248.

Cabral, S.B. Distúrbio do déficit de atenção (DDA)- Uma revisão. *Rev. Bras. Neurol. Psiquiátrica*. 1999; 3 (2): 53-58.

Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH, Gade R, Ahn C e col., Polygenic Inheritance of Tourette Syndrome, Stuttering, Attention Deficit Hyperactivity, Conduct, and Oppositional Defiant Disorder: The Additive and Subtractive Effect of the Three Dopaminergic Genes- DRD2, DBH, and DAT1. *Am J Med Genet (Neuropsychiatric Genetics)*.1996; 67:264-288.

Comings D.E.e col., Studies of the 48 bp Repeat Polymorphism of the DRD4 Gene in Impulsive, Compulsive, Addictive Behaviors: Tourette Syndrome, ADHD, Pathological Gambling, and Substance Abuse. *Am J Med Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*. 1999; 88(4) 358-368.

Comings D.E E COL., Additive effect of three noradrenergic genes (ADRA2A, ADRA2C, DBH) on attention deficit hyperactivity disorder and learning disabilities in Tourette syndrome subjects. *Clinical Genetics*.2000; 55(3):160-172.

Conners CK and Jett JL. Attention Deficit Hyperactivity Disorder (in Adults and Children), The latest Assessment and Treatment Strategies, 1999.

Connor DF, Fletcher KE, Swanson JM. A meta-analysys of clonidine receptors: from structure to function. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1999; 38 (12): 1551-1559.

Cook EH, Stein MA, Krasowisk MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE, Leventhal BL. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 1995; 56:993–998

Cunningham L,Cadoret RJ,Loftus R. and Edwards JE. Studies of adoptees from Psychiatrically Disturbed Biological Parents: Psychiatric Conditions in Childhood and Adolescence. *Brit J Psychiatry*. 1975; 126: 534-49.

Curran S, Mill J, Sham P, Rijdsijk F, Marusic K, Taylor E e col., QTL association analysi of the DRD4 exon 3 VNTR polymorphism in a population sample of children screened with a parent rating scale for ADHD symptoms. *Am J Genet*. 2001; 105: 387-393.

Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M and Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affect children. *Mol Psychiatry*.1999 4:192-6.

Dane AV; Schachar RJ, Tannock R. Does Actigraphy Differentiate ADHD Subtypes in a Clinical Research Setting? *J Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*. 2000; 39:6, 752-760.



D'Souza UM, Russ C, Tahir E, Mill J, McGuffin P, Asherson PJ, Crai IW. Functional effects of a tandem duplication polymorphism in the 5' flanking region of the DRD4 gene. *Biol Psychiatry*. 2004; 56:691-697.

DiMaio S, Grizenko N and Jooper R. Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *J Psychiatry Neurosciense*. 2002; 28 (1): 27-38.

Ding Y-C, Chi H-C, Grady D.L e col., Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus. *PNAS*. 2002; 99(1): 309-314. Acesso <[www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.012464099](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.012464099)>

Ding YC, Chi HC, Grady DL, Morishima A, Kidd JR, Kid KK, Flodman P *et al*. Evidence of positive selection actino at the human dopamine receptor D4 ge locus. *PNAS*. 2002; 99(1):309-314.

Eaves L.J, Silberg JL, Meyer JM, Maes HH. Genetics and Developmental Psychopatology:2. The Main Effects of Genes and Environment on Behavioral Problems in the Virginia Twin Study of Adolescent Behavioral development. *J Child Psych Psychiatry*. 1997; 38(8): 965-980.

Eisenberg J, Mei-Tal G, Steinberg A, Tartakovsky E, Zohar A, Gritsenko I, Nemanov L, Ebstein RP. Haplotype relative risk study of catechol-O-methyltransferase (COMT) and attention déficit hyperactivity disorder (ADHD): association of the high-enzyme activity VAL allele qith ADHD impulsive-hyperactive phenotype. *Am J Med Genet*. 1999; 88 (5); 497-502

Faraone SV, BiedermanJ, Weinffebach B, Keith T, Weaver A, Spencer T e col., . Dopamine D<sub>4</sub> Gene 7- repeat Allele and Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry*. 1999; 156(5):768-770.

Faraone SV, Biederman J. Neurobiology of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *A Journal of Psychiatric Neuroscience* (Review article).1998; 144 (10):951-958.

Faraone, S.V e col., Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Adults: An Overview. *Biol Psychiatry*. 2000; 48: 9-20.

Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J. Meta-Analysis of the Association Between the 7-Repeat Allele of the Dopamine D<sub>4</sub> Receptor Gene and Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry*. 2001; 158: 1052-1057

Fisher BC. Attention deficit Disorder Misdiagnosis. Approaching ADD from a Brain-Behavior/Neuropsychological Perspective for Assessment and Treatment.CRC Press LLC.1998.

Gainetdinov RR, Caron MG. Genetics of Childhood Disorders: XXIV. ADHD, part 8: Hyperdopaminergic Mice as an Animal Model of ADHD. *J Am Child Adolesc Psychiatry*. 2001; 40 (3):380-382.

Gill M, Daly G, Heron S, Hawi Z, Fitzgerald M. Confirmation of association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter polymorphism. *Mol Psychiatry*. 1997; 2: 311-313.

Goodman R., Stevenson J. A Twin Study of Hyperactivity- I. An Examination of Hyperactivity Scores and Categories Derived from Rutter Teacher and Parent Questionnaires. *J Clin Psychol Psychiatry*. 1989; 30 (5) 671-689.

Grandy DK, Litt M, Alle L, Bunzow JR, Marchionni M, Makan H e col., The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqIRFPL. *Am Hum Genet*. 1989; 45 (5):778-85.

Grady D.I, Chi H-C, Ding Y-C, Smith M e col., High prevalence of rare dopamine receptor D4 alleles in children diagnosed with attention-deficit hyperactivity disorder. *Molecular Psychiatry*. 2003; 8: 536-545.

Grenwood TA and Kelsoe JR. Promoter and intronic variants affect the transcriptional regulation of the human dopamine transporter gene. *Genomics*. 2003; 82: 511-19.

Guindalini C, Howard M, Laranjeira R, Collier D, Amman N, Craig I e col., Transporter Gene Functional Variant Associated with Cocaine Abuse in a Brazilian Sample. *PNAS submitted*.

Hallowell EM, Ratey JJ. Tendência à Distração: identificação e gerência do distúrbio do déficit de atenção da infância à vida adulta. Rio de Janeiro: Editora Rocco. 1994.

Halperin JM, Sharma V, Siever LJ, Scwartz ST, Matier K, Wornell G, Newcorn JH. Serotonergic function in aggressive and nonaggressive boys with attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry*. 1994; 151(2):243-8

Halperin JM, Newcorn JH, Koda VH, Pick L, McKay KE, Knott P. Noradrenergic Mechanisms in ADHD Children With and Without Reading Disabilities: A Replication and Extension. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*. 1997; 36 (12): 1688-1697.

Hahn M.K and Blakey R.D. Monoamine transporter gene structure and polymorphism in relation to psychiatric and other complex disorders. *Pharmacogenomics*. 2002; 2: 217-235.

Harvard Health Publication. Attention deficit disorder in adults. Harvard Health Online. November 2002. Disponível em <http://www.health.harvard.edu/medline/Mental/M1102b.html> Acesso em 21 de janeiro de 2003.

Hawi Z, Kirley A, Lowe N, Fitzgerald M and Gill M. recent genetic advances in ADHD and diagnostic and therapeutic prospects. *Expert Rev Neurotherapeutics*. 2003; 3 (4): 453-464.

Hechtman L. Families of Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Review. *Can J Psychiatry*. 1996; 41: 350-360.

Hess EJ, Rogan PK, Domoto M, Tinker DE, Ladda RL, Ramer JC. Absence of Linkage of Apparently Single Gene Mediated ADHD With the Human Syntenic Region of the Mouse Mutant *Coloboma*. *Am J Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*. 1995; 60: 573-579.

Hesslinger, B, Tebartz van Elst L, Nyberg E, Dykieriek P, Richter H, Berner M, Ebert D. Psychoterapyerner of attention deficit hyperactivity disorder in adults. A pilot study using a structured skills training program. *Eur. Arch Psychiatry Clin Neurosc. Freiburg*. 2002; 252:177-184.

Holmes J, Payton A, Barret JH, Hever T, Fitzpatrick H, Trumper AL e col., A family-based and case-control association study of the dopamine D4 receptor gene and dopamine transporter gene in attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*. 2000; 5: 523-530.

Holmes J, Payton A, Barrett J, Harrington R. e col., Association of DRD4 in Children With ADHD and Comorbid Conduct Problems. *Am. J. Medical Genetics*. 2002; 114: 150-3.

Horning M. Addressing Comorbidity in Adults With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Clin Psychiatry*. 1998; 59 (17): 69-75.

IBOPE-Instituto Brasileiro de Pesquisas Estatísticas. Censo Escolaridade, 2003. Disponível <[http://www](http://www.noticias_2003_tgi_escolaridade_no.htm). notícias\_2003\_tgi\_escolaridade\_no.htm>

Jiang S, Xin R, Lin S, Qian Y, Tang G, Wang D, Wu X. Linkage studies between attention-deficit hyperactivity disorders and the monoamine oxidase genes. *Am J Medical Genetics*. 2001; 105:783-788.

Kang AM, Palmatier MA, Kidd KK. Global Variation of a 40 –bp VNTR in the 3' –Untranslated Region of the Dopamine Transporter Gene (SLC6A3). *Biol.Psychiatry*. 1999; 46: 151-160.

Kessler RC, Adler LA, Barkley R, Biederman J, Conners CK, Faraone SV e col., Patterns and Predictors of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Persistence into Adulthood: Results from the National Comorbidity Survey Replication. *Biol Psychiatry*. 2005a; 57: 1442-1451.

Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR, Walters EE. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Ach Gen Psychiatry*. 2005b; 62: 617-27.

Kirley A, Lowe N, Hawi Z, Mullins C, Daly G, Waldman I, McCarron M, O'Donnell D, Fitzgerald M, Gill M. Association of the 480 bp DAT1 allele with methylphenidate response in a sample of Irish children with ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2003; 121(1):50-4.

Klassen A, Miller A, Raina P, Lee SK, Olsen L. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in Children and Youth: A Quantitative Systematic Review of the Efficacy of Different Management Strategies. *Can J Psychiatry*. 1999; 44:1007-1016.

Kooij JJ, Buitelaar JK, van den Oord EJ, Furer JW, Rijnders CA and Hodiament PP. Internal and external validity of attention-deficit hyperactivity disorder in a population-based sample of adults. *Psychol Med*. 2005; 35 (6):817-27.

Krieger H, Morton NE, Mi MP, Azevedo E, Freire-Maia A, Yasuda N. Racial admixture in north-eastern Brazil. *Ann Hum Genet*. 1965; 29 (2); 113-25.

Lahey BB, Pelham WE, Loney J, Lee SS, Willcutt E. Instability of the DSM-IV Subtypes of ADHD from preschool through elementary school. *Arch Gen Psychiatry*. 2005; 62 (8):896-902.

LaHoste GJ, Swanson JM, Wigal SB, Glabe C, Wigal T, King N e col., Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*. 1996; 1: 21-24.

Leung PWL, Lee CC, Hung SF, Ho TP, Tang CP, Kwong SL e col., Dopamine receptor D4 (DRD4) gene in Han Chinese children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Increased prevalence of the 2-repeat allele. *Am Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2004; 133 (1): 54-56.

Litcher JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kid KK, Livak KJ. A hyper variable segment in the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene. *Human Mol Gen*. 1993; 2 (6): 767-73.

Lobo, DSS. Características de personalidade e jogo patológico: análise comparativa de jogadores patológicos e seus irmãos. Tese (doutorado) *Universidade de São Paulo*. 2005.

Manor I, Tyano S, Eisenberg J, Bachner-Melman R, Kotler M, Ebstein RP. The short DRD4 repeats confer risk to attention deficit hyperactivity disorder in a family-based design and impair performance on a continuous performance test (TOVA). *Mol Psychiatry*. 2002; 7:790-794.

Mannuzza S, Klein RG, Addalli KA: Young adult mental status of hyperactivity boys and their brothers : a prospective follow-up study. *J Am Acad Chil Adoles Psychiatry*. 1991; 30:743-751.

Maher BS, Marazita ML, Ferrell RE, Vanyukov MM. Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychiatr Genet*. 2002;12:207-215.

McGough J.J and Barkley R.A . Diagnostic Controversies in Adult Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psiquiatry*. 2004; 161: 1948-1956.

Messas G.P. Análise do papel do polimorfismo Bal I (Ser9Gly) do gene do receptor dopaminérgico subtipo 3 (DRD3) na dependência de cocaína. Dissertação (Doutorado). *Universidade de São Paulo*, São Paulo, 2001.

Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol*. 2003; 3(3):REVIEW S0004.

Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Chen L, Jones J. New Phenotype Definition of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Relatives for Genetic Analyses. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)*, 1996; 67:369-377.

Mill J.S, McClay J., Sugden K., Purcell S. e col., The dopamine D4 receptor and the hyperactivity phenotype: a developmental-epidemiological study. *Mol Psychiatry*. 2002; 7: 383-391.

Mill J, Asherson P, Craig I and D'Souza UM. Transient expression analysis of allelic variants of a VNTR in the dopamine transporter gene (DAT1). *BMC Genetics*, 2005; 6 (3). Disponível <[www. Biomedcentral.com/147-2156/6/3](http://www.Biomedcentral.com/147-2156/6/3)>

Miller SA; Dykes DD, Polesky, H.F. A Single Salting Out Procedure for Extracting DNA from Human Nucleated Cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.

Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews*. 1998; 78 (1): 189-225.

Muglia P, Jain U, Macciardi F, Kennedy JL. Adult attention deficit hyperactivity disorder and the dopamine D4 receptor gene. *Am J Genetic*. 2000; 96:273-277.

Muglia P, Jain U, Inkster B, Kennedy JL. A quantitative trait locus analysis of the dopamine transporter gene in adults with ADHD. *Neuropsychopharmacology*. 2002; 655-662.

Murphy KR , Barkley R.A Parents of Children with attention-deficit/hyperactivity disorder: Psychological and Attentional Impairment. *Am J Orthopsychiatry* .1996a; 93-102.

Murphy KR, Barkley RA. Attention Deficit Hyperactivity Disorder Adults: Comorbidities and Adaptive Impairments. *Comprehensive Psychiatry*. 1996b;37 (6):393-401.

Morgan A M. *The Pediatric Clinics of North America*. 1999; 46 (5):831-843.

Noble EP, Blum K, Ritchie T, Montgomery A, Sheridan PJ. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics and alcoholism. *Arch Gen Psychiatry*. 1991; 48:648-54.

Ott J. *Utility Programs for Analysis of Genetic Linkage*. 1988.

Parra CF, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM and Pena SDJ. Color and genomic ancestry in Brazilians. *PNAS*. 2003; 100 (1); 177-182.

Park L, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rappley M and Friderici KH. Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphism with childhood ADHD. *Mol. Psychiatry*. 2005, 10(6):572-80.

Pary R, Lewis S, Matuschka PR, Lippmann S. Attention-Deficit/hyperactivity Disorder: an update. *Southern Medical Journal*. 2002; 95 (7): 743-749.

Pliska SR; McCracken JT, Maas J.W. Catecholamines in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Current Perspectives. *J.Am. Child Adolesc.Psychiatry*. 1996; 35(3):264-272.

Ram Ranga, Schindler KM, Bauer A, Pato CN, Pato MT. The Genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *CNS Spectrums*. 1999; 5(4):49-52

Reimherr FW, Wood DR, Wender P.H. An Open Clinical Trial of L-Dopa and Carbidopa in Adults with Minimal Brain Dysfunction. *Am J Psychiatry*. 1979; 137 (1): 73-75.

Roy-Birne P, Scheele L, Brinkley J, Ward N, Wiatrak C, Russo J, Townes B. Adult Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Assessment Guidelines Based on Clinical Presentation to a Specialty Clinic. *Comprehensive Psychiatry*. 1997; 38 (3): 133-140.

Roman T, Schmitz M, Polanczyk G, Eisirik M, Rhode LA, Hutz MH. Attention-deficit hyperactivity disorder: a study of association with both the dopamine transporter gene and the dopamine D4 receptor gene. *Am J Med Genet*.2001; 105:471-478.

Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence for the association between attention deficit/hyperactivity disorder and the dopamine- $\beta$ -hidroxylase gene. 2002. *Am J. Medical Genetics*. 2002; 114: 154-158.

Roman T, Polanczyk GV, Zeni C, Genro JP, Rhode LA and Hutz MH. Further evidence of the involvement of alpha-2A-adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional scores of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Mol. Psychiatry*. 2005 ( Epub ahead of print).

Sham PC, Curtis D. An extended transmission/disequilibrium test (TDT) for multi-allele marker loci. *Annals of Human Genetics*. 1995a; 59:323-336.

Sham PC, Curtis D. Monte Carlos tests for associations between disease and alleles at highly polymorphic loci. *Ann. Hum. Genet*. 1995b; 59: 97-105.

Sitte HH, Farhan H and Javitch JA. Sodium-Dependent Neurotransmitter Transporters: Oligomerization as a determinant of transporter function trafficking. *Molecular Interventions*. 2004, 4: 38-47.Disponível <molinterv.aspetjournals.org/cgi/content/full/4/1/38>

Spencer T, Biederman J, Wilens TE, Faraone SV. Adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: a controversial diagnosis.*J Clin Psychiatry*. 1998; 59 Suppl 7:59-68. Review.

Solanto, MV. Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. *Behav Brain Res.* 1998; 94(1):127-52

Stahl SM. Essential Psychopharmacology. Neuroscientific Basis and Practical Applications. Second edition. Cambridge University Press. 2000; p.460.

Starke K, Montel H, Gayk W, Merker R. Comparison of the Effects of Clonidine on Pre and Postsynaptic Adrenoceptors in the Rabbit Pulmonary Artery. *Arch. Pharmacol.* 1974; 285: 138-150.

Swanson JM, Flodman P, Kennedy J, Spence MA, Moyzis R, Schuck S e col., Dopamine genes and ADHD. *Neurosci Biobehav Rev.* 2000; 24:21-25.

Sunohara GA, Roberts W, Malone M, Schachar R, Tannock R, Basile V e col., Linkage of the Dopamine D4 Receptor Gene and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J.Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 2000; 39(12): 1537-1542.

Tenhunen J, Salminen M, Lundstron K, Kiviluoto T, Savolainen R, Ulmanen I. Genomic organization of the human catechol O-methyltransferase gene and its expression from two distinct promoters. *Eur J Biochem.* 1994; 223 (3):1049-59.

Thapar A, Colmes J, Poulton K, Harrington R. Genetic basis of attention deficit and hyperactivity. *British Journal of Psychiatry.* 1999; 174: 105-111.

Tood RD, Jong Y-JI, Lobos EA, Reich W, Heath AC, Neuman RJ. No association of the Dopamine Transporter Gene 3' VNTR Polymorphism With ADHD subtypes in a Population Sample of Twins. *Am J. Med. Genetics.* 2001; 105: 745-748.

Vandenberg DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X, Jabs EW, Uhl GR. Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics.* 1992; 14:1104-1106.

Waldman D, Rowe DC, Abramowitz A, Kozel ST, Mohr JH, Sherman SL e col., Association Linkage of the Dopamine transporter Gene and Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children: heterogeneity owing to Diagnostic Subtype and Severity. *American Journal of Human Genetics.* 1998;63(6):1767-1776.

Ward MF; Wender PH, Einher FW. The Wender Utah Rating Scale: An Aid in the Retrospective Dianosis of Childhood Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J. Psychiatry.* 1993; 150:885-890.

Weiss ST, Silverman EK, Palmer LJ. Editorial: case-control association studies in pharmacogenetics. *Pharmacogenomics J.* 2001, 1: 157-8.



Weiss M, Hechtman L, Weiss G. ADHD in parents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2000; 29:1059-1061.

Wender PH. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in Adults. New York: Oxford University Press.1995.

Wender PH, Wolf LE, Wassertein J. Adults with ADHD. In Overview. Adult Attention Deficit Disorder (Brain mechanisms and life outcomes). Ed. Wasserstein, J.; Wolf, L.E. and Lefever, F.F. *Ann. N.Y.Acad.Sci*. 2001; 931: 1-16.

Weiss M, Murray C. Assesment and management of attention-deficit hyperactivity disorder in adults. *CMAJ-JAMC*.2003; 168 (6): 1-18. Disponível:

< <http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/168/6/715>> Acesso em 24 out 03.

Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL, Barr CL. Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine Beta-hydroxylase. *Am J Psychiatry*.2002; 159(6):1046-8.

Wilens TE, Dodson W. A Clinical Perspective of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Into Adulthood. *J Clin Psychiatry*. 2004; 65 (10): 1301-13.

Wilens TE, Biederman J, Spencer TJ. Attention Deficit/Hyperactivity Disorder Across the Lifespan. *Annu. Rev. Med*. 2002; 53: 113-31.

Wilson JJ and Levin FR. Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and Substance Use Disorders. *Current Psychiatry Reports*. 2001; 3:497-506.

Vieyra G, Moraga M, Henriquez H, Aboitiz F, Rothhammer, F. Distribución de alelos de los genes DRD4 y DAT1 del sistema dopaminérgico en la población mixta de Santiago de Chile. *Revista médica de Chile*.2003; 131:135-143.