

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA**  
**MOLECULAR**

TESE DE DOUTORADO

**ABORDANDO A REGULAÇÃO DOPAMINÉRGICA NO TDAH: ESTUDO  
SOBRE O GENE DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA (SLC6A3/DAT1),  
FATORES DE TRANSCRIÇÃO E SUAS POSSÍVEIS INTERAÇÕES**

Lucas Araújo de Azeredo

Orientador: Dr. Claiton Henrique Dotto Bau

Porto Alegre, Agosto de 2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA**  
**MOLECULAR**

**TESE DE DOUTORADO**

**ABORDANDO A REGULAÇÃO DOPAMINÉRGICA NO TDAH: ESTUDO**  
**SOBRE O GENE DO TRANSPORTADOR DE DOPAMINA (SLC6A3/DAT1),**  
**FATORES DE TRANSCRIÇÃO E SUAS POSSÍVEIS INTERAÇÕES**

Lucas Araújo de Azeredo

Orientador: Dr. Claiton Henrique Dotto Bau

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

**Porto Alegre**

**2014**

## INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

---

As pesquisas científicas foram realizadas no Laboratório de Genética Humana Molecular do Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS), o Departamento de Ciência e Tecnologia/Programa de Pesquisa para o Sistema Único de Saúde (DECIT/PPSUS) e o Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX) foram as fontes financiadoras da totalidade das pesquisas desta Tese.

O aluno recebeu Bolsa de Estudos concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“As pessoas mais sábias que conheci em toda a minha vida não possuíam mestrado nem doutorado. Às seis horas da manhã, quando a promessa de um novo dia ainda vinha, levantavam-se da cama e saíam para o trabalho, levando promessas a pacientes de cuja sobrevivência se alimentavam ele e a mulher. Viviam desta mesmice os meus pais, Carlos e Magda. Por ironia do destino, em um inverno, quando o frio da noite apertava ao ponto de a água dos vasos de plantas gelar dentro de casa, um momento de silêncio em casa ocorreu: meu pai, outrora firme e valente, adoeceu. Debaixo de mantas grosseiras, o calor da cadelinha que rotineiramente dormia em meio aos pés tentava livrar meu pai de ver o que tivera acontecido. Ainda que fossem pessoas de bom caráter, não era por primores de alma compassiva que os dois assim procediam: o que os preocupavam, sem sentimentalismos e retóricas, era proteger o futuro dos filhos, com a naturalidade de quem, para manter a vida, não ousaram a pensar mais do que o indispensável - o estudo. Ajudei, muitas vezes, este meu pai nas suas andanças pela casa; preparava o seu almoço e a sua janta. Muitas vezes, às escondidas, ficava observando a minha mãe, também pela madrugada, andando pela casa com uma fome contida, uma vez que tivera que ceder os escassos alimentos a mim e a meus irmãos. E algumas vezes, em noites quentes de verão, depois da ceia, eu dizia: “Pai, posso deitar no teu braço hoje?”. Havia outras maneiras de dormir, mas aquela, certamente por ser a mais aconchegante, por ser a de sempre, era, para mim, o meu melhor travesseiro. Mais ou menos por antonomásia, palavra erudita que somente muitos anos depois eu viria a conhecer e saber o que significava. No meio da paz noturna, por meio da janela entreaberta, uma estrela me aparecia, e depois, lentamente, escondia-se por trás de uma folha. Queria me dizer algo? Enquanto o sono não chegava, a noite se povoava com as

histórias e os casos que o meu pai ia contando: episódios singulares, palavras de antepassados, assombros: um incansável rumor de memórias que me mantinha desperto, ao mesmo tempo em que suavemente me acalentava. Nunca pude saber se ele se calava quando se apercebia de que eu tinha adormecido, ou se continuava a falar para não deixar em meio a resposta à pergunta que invariavelmente lhe fazia nas pausas mais demoradas que ele calculadamente colocava no relato: “E depois?”. Talvez repetisse as histórias para si, quer fosse para não as esquecer, quer fosse para enriquecê-las com novas peripécias. Naquele tempo, nem será preciso dizer que eu imaginava que meus pais eram os senhores de toda a ciência do mundo. Quando, à luz da primeira luz da manhã, o latido dos cachorros me despertava, eles já não estavam mais ali. Então me levantava e ia para o pátio brincar. Mas antes minha mãe já havia deixado um lanche e, em um bilhete, perguntava-me se tinha dormido bem. Se eu contava a minha mãe algum sonho nascido das histórias de meu pai, ela sempre me tranquilizava: “Não faça caso, em sonhos não há firmeza”. Pensava então que a minha mãe tinha o dom de tratar os seus filhos e, assim, ficava tempos conversando também com ela. Foi somente quando meu pai havia ficado doente que vim a compreender que minha mãe não acreditava em sonhos. Eu ficava refletindo o meu papel como filho, frente à situação, e começava a observar as estrelas, as maiores e menores, por cima de minha cabeça: “O mundo é tão bonito, e eu tenho tanta pena de morrer”. Eu não disse medo, mas sim pena de morrer, como se a vida estivesse, naquele momento, a receber a graça de uma suprema e derradeira despedida.

Alguns anos depois, escrevendo aqui pela primeira vez sobre os meus pais, tenho consciência de que estava a transformar as pessoas comuns que eles são em personagens deste singelo agradecimento e que essa era, provavelmente, a maneira de

não os esquecer, desenhando e tornando a desenhar os seus traços com o ‘lápiz virtual’ sempre cambiante da recordação, colorindo e iluminando a monotonia de um cotidiano baço e sem horizontes, como quem vai recriando, por cima do instável mapa da memória, a irrealdade sobrenatural dos tempos passados.

Escrevi essas palavras por muito tempo em minha memória, sem outra intenção que não fosse reconstituir e registrar instantes da vida das pessoas que me geraram e que mais perto de mim estiveram, pensando que nada mais precisaria explicar para que soubessem de onde eu venho e de que materiais se fez a pessoa que comecei a ser e que, pouco a pouco, vim me tornando. Afinal, a biologia não determina tudo e, quanto à genética, muito misteriosos deverão ter sido os nossos caminhos para termos dado uma volta tão larga! À minha árvore genealógica, não faltavam apenas alguns daqueles ramos que o tempo e os sucessivos encontros da vida vão fazendo romper o tronco central, também lhe faltava que ajudasse as suas raízes a penetrar até as camadas subterrâneas mais fundas. Ao pintar os meus pais com tintas por meio dessas palavras, transformando-os de simples pessoas de carne e osso que haviam sido em personagens construtores do meu Eu. Em certo sentido, poder-se-á mesmo dizer que, letra a letra, palavra a palavra, tenho vindo, sucessivamente, a implantar no homem que fui alguns traços de meus pais. Creio que, sem eles, não seria a pessoa que hoje sou; sem eles, talvez a minha vida não tivesse logrado ser mais do que um esboço impreciso, uma promessa como tantas outras que de promessa não conseguiriam passar; a existência de alguém que talvez pudesse ter sido e afinal não tinha chegado a ser. Agora sou capaz de ver com clareza quem foram os meus mestres e doutores de minha vida, os que mais intensamente me ensinaram o duro ofício de viver; esse homem e mulher feitos de papel em tinta em minha memória”.

Não pretendia incluir agradecimentos devido à impossibilidade de citar todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, e daí a preocupação de ser injusto. Não obstante, no último momento, soou mais injusto ainda não fazer a tentativa, sendo que este trabalho não existiria sem a participação de muitos.

Ao **Claiton**, pelo continuado estímulo e por me ensinar a tratar a pesquisa séria e eticamente; por me apoiar na totalidade uma nova possibilidade de escolha profissional para a minha vida.

Aos amigos e colegas, atuais e/ou passados, da Genética: **Angélica, Bruna, Diego, Evelise, Jaqueline, Nina, Renata, Verônica** pela amizade e compartilhamento de conhecimentos.

Aos colegas do **PRODAH de adultos**, responsáveis pela coleta e avaliação clínica dos pacientes; aos **Professores do Departamento de Genética da UFRGS** pelo aprendizado nesses quatro anos.

Ao **Elmo**, por ser a pessoa mais capacitada que conheci em toda a minha vida em sua função no PPGBM: por estar sempre disposto a ajudar quaisquer pessoas.

Aos meus recentes amigos da Medicina e aos antigos, porém não esquecidos, da Biomedicina.

Em especial àqueles que mais se doaram a este trabalho: os **pacientes** e os **doadores de sangue**, que permitiram com que este e outros estudos ocorressem. Espero que o resultado deste esforço tenha gerado frutos que justifiquem tamanha doação.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES .....	9
RESUMO .....	11
<i>ABSTRACT</i> .....	13
Capítulo I – ESTADO DA ARTE .....	15
1. Transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH): base conceitual .....	16
1.1. Aspectos históricos.....	16
1.2. Definição e Epidemiologia.....	18
1.3. Diagnóstico e Curso clínico .....	19
1.4. Comorbidades.....	20
1.5. Tratamento .....	22
1.5.1. Metilfenidato e o TDAH em adultos .....	22
1.6. Etiologia .....	23
1.6.1. Fatores ambientais .....	24
1.6.2. Fatores genéticos.....	25
1.6.3. Neurobiologia .....	27
1.6.3.1. Sistema dopaminérgico .....	31
1.6.3.1.1. Sinapses dopaminérgicas .....	32
1.6.3.1.2. O Transportador de Dopamina (DAT).....	35
1.6.3.1.3. Fatores regulatórios dopaminérgicos .....	43
1.6.3.1.4. Fatores regulatórios sobre o SLC6A3/DAT1 .....	44
1.6.3.1.4.1. Família de fatores de transcrição NUR .....	49
1.6.3.1.4.1.1. NR4A2/Nurr1 .....	52
1.6.3.1.4.2. Família de fatores de transcrição HESR.....	53
1.6.3.1.4.2.1. HESR1/ <i>Hey1</i> .....	54
Capítulo II - JUSTIFICATIVAS .....	58
Capítulo III - OBJETIVOS.....	61
Objetivo Geral.....	62
Objetivos Específicos .....	63
Capítulo IV – ARTIGO #1 .....	64



Capítulo V – ARTIGO #2 .....	73
Capítulo VI – DISCUSSÃO INTEGRADORA .....	100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	106
ANEXOS .....	134
Anexo #2 – Critérios Diagnósticos do CID-10 para o Transtorno Hiperativo....	136
Anexo #3 – Termo de Consentimento – Pacientes com TDAH .....	137
Anexo #4 – Aprovação no Comitê de Ética – Pacientes com TDAH .....	138
Anexo #5 – Termo de Consentimento – Grupo Controle .....	139
Anexo #6 – Aprovação no Comitê de Ética – Grupo Controle .....	140
Anexo #7 – Produção Científica adicional no Doutorado .....	141

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

---

- 5HTR1B – gene do Receptor Serotoninérgico 1B
- 5-HTT – gene do Transportador de Serotonina
- ADRA2A – gene do Receptor Adrenérgico  $\alpha$ -2A
- ATV - Área Tegmental Ventral
- BAIAP-2 – do inglês *Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1-Associated Protein 2*
- CDH13 – do inglês *H-Cadherin 13 gene*
- CNVs – do inglês *Copy Number Variations*
- COMT – enzima Catecol-O-Metil Transferase
- CREB – do inglês *cAMP response element-binding protein*
- CPF - Córtex Pré-Frontal
- DA – Dopamina
- DAT – Transportador de Dopamina
- DRD4 - Receptor D4 de Dopamina
- DRD5 - Receptor D5 de Dopamina
- DSM - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
- D $\beta$ H – gene da Dopamina  $\beta$ -Hidroxilase
- FAM190A – do inglês *Family with sequence similarity 190 - member A gene*
- HESR1/*Hey1* – do inglês *Hairy-Enhancer of Split-type bHLH gene*
- ID2 – do inglês *Inhibitor of DNA binding 2 gene*
- ITGA11 – do inglês *Integrin - Alpha 11 gene*
- LBP-1 – do inglês *Leader Binding Protein 1*
- L-DOPA – (S)-Dihidroxifenilalanina
- MAO – gene da Monoamino-Oxidase
- MPH – Metilfenidato

NGFI-B – do inglês *Nerve-Growth-Factor Inducible gene B*

NR4A2/*Nurr1* – do inglês *Nuclear Receptor-Related 1 gene*

SLC6A3/*DAT1* – gene do Transportador de Dopamina

*SNAP25* – do inglês *Synaptosomal-Associated Protein of 25 kDa gene*

SNC – Sistema Nervoso Central

STX1A - Sintaxina-1A

TC - Transtorno de Conduta

TDAH - Transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade

TOD - Transtorno Opositor Desafiante

TPAS - Transtorno de Personalidade Antissocial

TPH – enzima triptofano-hidroxilase

TUSP - Transtornos por Uso de Substâncias Psicoativas

VMAT – do inglês *Vesicular Monoaminergic Transporter gene*

VNTR - do inglês *variable number of tandem repeat*

O Transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) é definido como um transtorno psiquiátrico de natureza multifatorial decorrente de sintomas de desatenção, agitação psicomotora e impulsividade. O Transportador de Dopamina (DAT) desempenha um importante papel na regulação da neurotransmissão dopaminérgica, sendo o principal sítio de ação do Metilfenidato (MPH). A maioria dos estudos genéticos de associação envolvendo o gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH se concentra em um polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) localizado na região 3' não traduzida (3' UTR) do gene; no entanto, os resultados até o momento se revelaram heterogêneos. Estudos envolvendo outros polimorfismos no gene *SLC6A3/DAT1* além de interações gene x gene envolvendo SNPs nas regiões 3' UTR e promotora poderiam explicar uma fração dos achados conflituosos. A amostra foi composta por 522 adultos diagnosticados com TDAH e 628 doadores de sangue oriundos do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os resultados mostraram uma associação significativa entre o alelo C do SNP rs2652511 (-839 C/T) presente na região promotora do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH ( $P < 0,001$ ). Foi observada uma interação significativa *NR4A2/Nurr1* rs834835\**HESR1/Hey1* rs1046472 na susceptibilidade ao TDAH. A homozigose do alelo 6R (Int8 VNTR) foi associada com escores aumentados de desatenção ( $P = 0,034$ ). A presença do alelo C do rs12803 (*NR4A2/Nurr1*) foi associada com escores mais elevados de hiperatividade/impulsividade ( $P = 0,003$ ) e número total de sintomas ( $P = 0,017$ ). Além disso, a presença do alelo A do rs960978 (*HESR1/Hey1*) foi associada com escores aumentados de hiperatividade/impulsividade ( $P = 0,016$ ), desatenção ( $P = 0,013$ ), ODD

( $P = 0,017$ ) e número total de sintomas ( $P = 0,004$ ). Concluindo, esses resultados corroboram evidências prévias de associação envolvendo o alelo C do SNP rs2652511 (SLC6A3/DAT1) em crianças com TDAH. Além disso, os resultados preliminares de interação gene x gene mostram um importante papel dos fatores de transcrição NR4A2/*Nurr1* e HESR1/*Hey1* no desenvolvimento do TDAH em adultos. O conjunto geral de resultados reforça a importância de mecanismos regulatórios na susceptibilidade e variabilidade fenotípica no TDAH em adultos.

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is a common psychiatric condition that presents symptoms of inattention, hyperactivity and impulsivity. The Dopamine Transporter (*SLC6A3/DAT1*) plays a key role in the regulation of dopaminergic neurotransmission and it is the major site of action for Methylphenidate (MPH). Most genetic association studies with ADHD have investigated a 40-bp variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism in the 3' untranslated region (UTR) of the gene, but these investigations have reported heterogeneous results. The analysis of additional SNPs as well as gene x gene interaction studies of polymorphisms located in the promoter and 3' UTR regions could help to explain a part of contradictory findings. Here, the sample was composed by 522 adults with ADHD and 628 blood donor controls from Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A significant association was detected between the *SLC6A3/DAT1* rs2652511 (-839 C/T) C-allele and ADHD ( $P < 0.001$ ). It was observed a genetic interaction between *NR4A2/Nurr1* rs834835\**HESR1/Hey1* rs1046472 in susceptibility to ADHD. The homozygosity for the 6-repeat allele of the Int8 VNTR was associated with higher inattention symptoms ( $P = 0.034$ ). *NR4A2/Nurr1* rs12803 C-carriers presented higher SNAP-IV scores of hyperactivity/impulsivity ( $P = 0.003$ ) and the total sum of symptoms ( $P = 0.017$ ). In addition, *HESR1/Hey1* rs960978 A-carriers presented higher SNAP-IV scores of inattention ( $P=0.013$ ), hyperactivity/impulsivity ( $P=0.016$ ), ODD ( $P=0.017$ ) and the total sum of symptoms ( $P=0.004$ ). In conclusion, these findings extend to adult samples previous data from children samples on the role of the rs2652511 (-839 C/T) polymorphism in the promoter region of *SLC6A3/DAT1* as a risk factor for ADHD susceptibility. In addition, the

preliminary gene x gene interaction results shows an important role of *NR4A2/Nurr1* and *HESR1/Hey1* transcription factors on development of ADHD in adults. The overall set of results reinforces the importance of regulatory mechanisms and phenotypic variation in susceptibility to ADHD in adults.

**Capítulo I – ESTADO DA ARTE**

---



## 1. Transtorno do Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH): base conceitual

### 1.1. Aspectos históricos

#### *A história de Felipe, o inquieto*

Deixe-me ver se Felipe pode  
Tentar ser um pequeno cavalheiro;  
Deixe-me ver se é capaz  
De ficar quieto à mesa ao menos uma vez;  
Era isso que Papai lhe pedia,  
Era isso que a mamãe esperava.

--

Porém Felipe, o inquieto,  
Não queria saber de se sentar;  
Ele se remexia,  
E dava risada,  
E balançava a cadeira sem parar,  
Balançando para frente e para trás,  
Como se fosse um cavalo de balanço:  
- “Felipe, estou ficando zangado”.

[tradução de *The story of Fidgety Philip*]

(Hoffmann, 1844)

Os versos acima, extraídos do poema *The story of fidgety Philip*, de Heinrich Hoffmann, foram uma das primeiras referências da literatura não médica às características clínicas ao que hoje se denomina *Transtorno do Déficit de*

*Atenção/Hiperatividade* (TDAH) (Hoffmann, 1948). No poema, Hoffmann descreveu sinais clínicos de uma criança, Felipe, e seus atos perante seus pais e à sociedade da época.

Não obstante, as primeiras descrições científicas relacionadas ao TDAH foram realizadas por George Still (1902), veiculadas ao *Royal College of Physicians*, Inglaterra. Nos *rounds* liderados por Still, descreveu-se um grupo de crianças impulsivas que apresentavam um ‘defeito no controle moral’, mostrando-se ‘agressivas, desafiantes, desobedientes, temperamentais e excessivamente desatentas’ (Still, 1902). Em 1908, Tredgold concebeu as teorias expressadas por Still e propôs que os quadros demonstrados eram decorrentes de lesões cerebrais leves e moderadas, indetectáveis ao exame físico, os quais seriam uma das causas do quadro cognitivo-comportamental subsequente (Tredgold, 1908 – citado por Rothenberger & Neumärker 2005). Em 1922, a associação entre surtos de encefalite letárgica (encefalite de Von Economo) e sequelas comportamentais fizeram com que uma base anatômica fosse proposta para o transtorno (Barkley, 2006a; Rothenberger & Neumärker, 2005).

A série de casos de Still, a teoria de Tredgold e as observações de Von Economo reforçaram as teorias modernas sobre a etiologia do TDAH. Na década de 1940, surgiu a designação *lesão cerebral mínima* (Ross & Ross, 1976), que havia sido modificada para *disfunção cerebral mínima* em meados da década de 1960 (Clements, 1966), reconhecendo-se que as alterações características do transtorno estavam relacionadas mais intrinsecamente a disfunções em vias nervosas do que propriamente a lesões cerebrais.

Em 1968, com o advento do II Manual Estatístico e Diagnóstico de Transtornos Mentais (DSM-II), o transtorno passou a ser designado como *Reação Hiperkinética da Infância*, sublinhando os seus aspectos motores (*American Psychiatric Association*, 1968). O DSM-III, em 1980, ampliou o foco do transtorno ao incluir desatenção e impulsividade à hiperatividade, criando uma denominação similar à atual (*American Psychiatric Association*, 1980). Na revisão deste manual em 1987, a designação havia sido alterada para Transtorno do déficit de atenção/hiperatividade (mantida no DSM-IV, publicado pela *American Psychiatric Association*, 1994). A quinta edição do DSM manteve a designação TDAH; no entanto, propôs mudanças que tiveram impacto importante no diagnóstico na população adulta, como, por exemplo, a redução do ponto de corte de seis para quatro sintomas de impulsividade bem como a antecipação da idade de início para 12 anos (*American Psychiatric Association*, 2013).

## **1.2. Definição e Epidemiologia**

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é definido como um transtorno decorrente de sintomas de desatenção, agitação psicomotora e impulsividade, que são mais frequentes e severos do que os observados em indivíduos com níveis comparáveis de desenvolvimento, acarretando prejuízos no desempenho ocupacional e acadêmico dos afetados (*American Psychiatric Association*, 1994). Uma revisão sistemática da literatura, conduzida por Polanczyk e cols. (2007), avaliou 102 estudos epidemiológicos provenientes de distintos países acerca da prevalência acumulada de TDAH, mostrando uma ocorrência de 5,29 % (IC 95% = 5,01-5,56) em crianças e adolescentes. Os dados se mantiveram estáveis em uma revisão mais recente

(Polanczyk e cols. 2014). Por outro lado, em adultos, a prevalência foi estimada em 2,5% (Simon e cols. 2009).

### **1.3. Diagnóstico e Curso clínico**

O diagnóstico do TDAH é essencialmente clínico e baseado em dois sistemas de classificação utilizados em psiquiatria: (1) a Classificação Internacional de Doenças (CID-10), proposta pela Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization*, 1992); (2) o DSM-IV, (*American Psychiatric Association*, 1994). O DSM-IV é utilizado como critério de diagnóstico operacional em grande fração de pesquisas científicas envolvendo o desfecho TDAH. O DSM-IV supõe três subtipos de TDAH – predominantemente desatento, predominantemente hiperativo/impulsivo e o combinado (ver Anexo 1). Por outro lado, a CID-10 apresenta critérios mais restritivos, visto que há necessidade de a presença simultânea de sintomas de desatenção e hiperatividade para o enquadramento completo do diagnóstico de *Perturbação da atividade e atenção*, inserida em *Transtornos Hiperkinéticos* (ver Anexo 2).

Apesar de o TDAH ser classicamente definido pela tríade sintomatológica de desatenção, hiperatividade e impulsividade, há uma variabilidade significativa na apresentação clínica relacionada à idade, gênero, magnitude de sintomas, perfil de comorbidades e resposta ao tratamento. A heterogeneidade tem sido um limitante e, além disso, um desafio no que diz respeito às investigações voltadas à compreensão da etiologia do TDAH (Faraone e cols. 2005) e aos seus desfechos clínicos (Biederman e cols. 2011).

Outro fator a se considerar se refere à continuidade dos sintomas ao longo da vida. Até a metade da década de 1970, pensava-se que o TDAH fosse um transtorno exclusivamente vinculado à infância; entretanto, à época, as formas adultas da doença foram sendo observadas (Biederman e cols. 2010), contribuindo para a formulação de uma teoria que contemplasse que uma parte dos sintomas e prejuízos advindos deste persistiria ao longo da vida. De fato, estudos longitudinais mostraram que 50-75% dos casos de TDAH prosseguem até a idade adulta (Lara e cols. 2009; Faraone e cols. 2006; McGough & Barkley, 2004; Mannuzza e cols. 2003). Enfim, sugeriu-se que a persistência do quadro sintomatológico estaria intimamente relacionada a uma série de disfunções significativas na vida do adulto, incluindo dificuldades emocionais, de relacionamento e de ajustamento social, falhas acadêmicas e ocupacionais e risco maior para outros problemas de comportamento (De Graaf e cols. 2008; Wilens & Dodson, 2004).

#### **1.4. Comorbidades**

Uma proporção significativa de pacientes com TDAH apresenta comorbidades psiquiátricas associadas, as quais tornam a prática psiquiátrica bastante complexa (Moura e cols. 2013; Kieling & Rohde, 2012; Wilens & Spencer, 2010). O TDAH está associado à presença de um ou mais transtornos psiquiátricos em aproximadamente 60% dos casos (Gillberg e cols. 2004), sendo que a presença de comorbidades dificulta o prognóstico e o manejo clínico dos afetados. Pacientes com TDAH portadores de pelo menos um diagnóstico de comorbidade são geralmente mais comprometidos do que

aqueles desprovidos de doenças associadas (Bauermeister e cols. 2007; McGough e cols. 2005; Swanson e cols. 1998).

Por exemplo, uma proporção significativa de pacientes com TDAH (50-60%) apresentam diagnóstico de Transtorno Opositor Desafiante (TOD) (Gillberg e cols. 2004). O Transtorno de Conduta (TC), o Transtorno de Personalidade Antissocial (TPAS), os Transtornos de Humor e Ansiedade e o Transtorno por Uso de Substâncias Psicoativas (TUSP) também apresentam altas taxas de ocorrência simultânea (Szobot & Bukstein, 2008; Biederman e cols. 2006; Gillberg e cols. 2004). Em crianças, os transtornos disruptivos do comportamento (TC e TOD) são mais prevalentes, estando presentes em aproximadamente 40-50% dos casos (Biederman e cols. 2004; Rohde e cols. 1999); já em adultos, os Transtornos de Humor e Ansiedade são encontrados em 40 e 50% dos casos, respectivamente (Newcorn, 2008; Biederman, 2004).

As diferenças encontradas na prevalência de comorbidades observadas entre crianças e adultos com TDAH parecem se enquadrar em um contexto de desenvolvimento do transtorno ao longo da vida. Sabe-se que, na infância, o TDAH é mais comum em meninos do que em meninas (Rohde e cols. 2005; Gaub & Carlson, 1997), enquanto que em amostras de adultos a proporção é próxima de 1:1 (Grevet e cols. 2006). Os meninos são mais facilmente diagnosticados quando encaminhados a tratamento clínico em virtude de apresentarem mais sintomas característicos de agitação psicomotora; por outro lado, as meninas com TDAH apresentam predomínio de sintomas de desatenção, causando menos incômodo às famílias e à escola (Rohde & Halpern, 2004; Biederman e cols. 2004). No entanto, na vida adulta, acredita-se que as próprias mulheres com TDAH tendem a buscar tratamento, fator que possibilita uma

redistribuição mais equilibrada entre os sexos (Biederman e cols. 2004). Dessa forma, considerando-se que os Transtornos de Humor e Ansiedade sejam mais frequentes no sexo feminino (Kessler, 2005; 2003), a frequência dessas comorbidades poderia aumentar em amostras de adultos com TDAH. Além disso, também se sugere que os prejuízos ocasionados pela presença de Transtornos de Humor em mulheres com TDAH sejam um fator preditivo relevante na busca de tratamento (Fischer e cols. 2007).

## **1.5. Tratamento**

O manejo terapêutico do TDAH requer uma abordagem ampla, levando-se em consideração não apenas as evidências científicas de efetividade do tratamento, mas também as preferências do paciente e de sua família (Pliszka e col. 2007; 2000). Basicamente existem duas principais estratégias para o tratamento de pacientes diagnosticados com TDAH: os tratamentos farmacológicos e os não-farmacológicos, sendo que preferencialmente a abordagem terapêutica deve envolvê-las conjuntamente. De interesse específico para a fundamentação teórica dessa Tese, abordar-se-á apenas os tratamentos farmacológicos. Entre fármacos disponíveis, os estimulantes são os de primeira escolha para o tratamento do TDAH em crianças e em adultos; dentre os fármacos, deter-se-á somente ao estudo do Metilfenidato (MPH) e suas formulações.

### ***1.5.1. Metilfenidato e o TDAH em adultos***

O Metilfenidato (MPH) é o tratamento farmacológico de primeira escolha para o TDAH (Pliszka e cols. 2006). Alguns estudos demonstraram um efeito significativo do tratamento com MPH na redução do quadro sintomatológico do TDAH (Castells e cols.

2011; Koesters e cols. 2009; Faraone e cols. 2002); não obstante, nesses estudos também foi observada uma variabilidade no tamanho de efeito do MPH entre os distintos ensaios clínicos.

Embora o mecanismo de ação do MPH não esteja esclarecido em sua totalidade, assume-se que os seus efeitos terapêuticos estejam vinculados aos sistemas de neurotransmissão catecolaminérgicos (Arnsten & Pliszka, 2011). É sabido que o MPH afeta a neurotransmissão dopaminérgica (DAérgica) por meio do bloqueio de proteínas transportadoras de dopamina (DA) em distintas áreas cerebrais (Covey e cols. 2013; Sulzer e cols. 2005). O mecanismo de ação do MPH sobre o sistema DAérgico está descrito em detalhe na Figura 5 (p.37).

O MPH está disponível no mercado brasileiro em um número relativamente grande de formulações: o cloridrato de metilfenidato de liberação imediata (Ritalina<sup>®</sup>), a mais comum; outras, como as formulações de liberação prolongada (Ritalina LA<sup>®</sup> e Concerta<sup>®</sup>), apresentam também outros benefícios, como uma maior aderência ao tratamento, principalmente em crianças e adolescentes (Kaplan & Newcorn, 2011).

## **1.6. Etiologia**

Caracterizado como um transtorno de natureza multifatorial, o TDAH decorre da confluência de distintos fatores de risco genéticos e ambientais, ambos tendo um pequeno efeito no que diz respeito à susceptibilidade à doença (Curatolo e cols. 2009; Makris e cols. 2009; Spencer, 2008). Presumivelmente, os sintomas clínicos do TDAH são um reflexo da interação desses fatores que, de maneira geral, vão moldando a circuitaria neuronal de controle de mecanismos comportamentais e cognitivos.



### ***1.6.1. Fatores ambientais***

Com relação aos fatores ambientais, alguns estudos já foram desenvolvidos com o intuito de se verificar a participação desses componentes no TDAH (Purper-Ouakil, 2011; Curatolo e cols. 2010; Stergiakouli & Thapar, 2010; Langley e cols. 2005). Por exemplo, o tabagismo materno durante a gestação foi considerado como um dos fatores com maior número de evidências sugerindo predisposição (Banerjee e cols. 2007). Considerando esse fator de risco, alguns estudos sugerem que o consumo de tabaco pela mãe aumentaria, em média, duas vezes o risco de a criança desenvolver TDAH ao nascer (Banerjee e cols. 2007). Por outro lado, algumas condições pré e perinatais parecem também estar envolvidas, como o consumo de álcool materno, o baixo peso ao nascer, carências alimentares maternas e eclampsia. Além disso, fatores de ordem psicossocial (o baixo nível socioeconômico, os desentendimentos familiares, as atitudes parentais hostis e a presença de transtornos mentais na mãe) também podem ser considerados fatores ambientais intimamente ligados ao desenvolvimento de TDAH (Purper-Ouakil e cols. 2011; Curatolo e cols. 2010; Banerjee e cols. 2007). A participação de agentes químicos presentes no ambiente – chumbo e policlorobifenilos (PCBs) – tem sido sugeridos como possíveis causadores de déficits em funções neurocomportamentais envolvidas no TDAH (Eubig e cols. 2010); no entanto, seus papéis ainda permanecem obscuros.

Entretanto, cabe ressaltar que a maioria dos estudos sobre possíveis agentes ambientais apenas evidenciaram uma associação desses fatores com o TDAH, não sendo possível estabelecer uma relação direta de causa e efeito entre os mesmos. Além disso, os agentes psicossociais associados ao desenvolvimento do TDAH parecem atuar

mais como preditores universais do funcionamento adaptativo e emocional das crianças em geral do que como específicos do TDAH (Biederman, 2005).

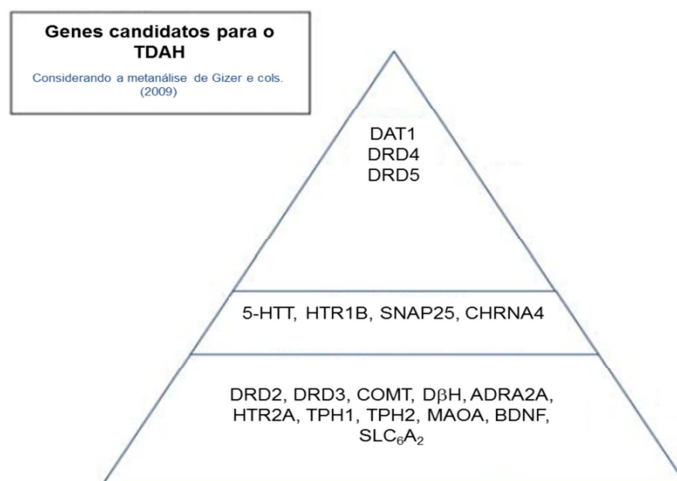
### **1.6.2. Fatores genéticos**

Evidências provenientes de estudos familiares, com gêmeos e com adotados têm mostrado que a contribuição genética no TDAH é substancial (Purper-Ouakil e cols. 2011; Stergiakouli & Thapar, 2010; Thapar e cols. 1999). Faraone e cols. (2005), revisando 20 estudos com gêmeos, mostraram que os pares monozigóticos são mais concordantes do que os dizigóticos, indicando uma herdabilidade estimada em 76% para o TDAH.

Diferentes estudos moleculares, como estudos de ligação, de genes candidatos e de varredura genômica têm sido empregados na busca de genes envolvidos no desenvolvimento do TDAH. Os estudos de associação com genes candidatos, desenhados a partir de hipóteses biológicas e realizados por meio de distintas abordagens, mantêm ainda suas particularidades no cenário científico do TDAH. Diante desse contexto, os genes que codificam componentes dos sistemas de neurotransmissão apresentam um papel decisivo na escolha dos candidatos. Os resultados obtidos, sumariados em algumas meta-análises, sugerem como de susceptibilidade os genes do *synaptosomal-associated protein of 25 kDa (SNAP25)*, do receptor D4 de dopamina (*DRD4*), do receptor D5 de dopamina (*DRD5*), do receptor adrenérgico  $\alpha$ -2A (*ADRA2A*), do receptor serotoninérgico 1B (*5HTR1B*), do transportador de dopamina (*SLC6A3/DAT1*), do transportador de serotonina (*5-HTT*), e das enzimas dopamina  $\beta$ -hidroxilase (DBH), catecol-O-metiltransferase (*COMT*), monoamino-oxidase (*MAO*) e

triptofano-hidroxilase (*TPH*) (Gizer e cols. 2009; Stergiakouli & Thapar, 2010) [Figura 1, p.27], com efeitos pequenos.

Além dos genes que atuam diretamente na circuitaria catecolaminérgica, outros possivelmente tendo alguma relação com o TDAH vêm sendo sugeridos por estudos moleculares. As varreduras genômicas – do inglês *Genome-Wide Association Studies* (*GWAS*) – vêm ganhando espaço considerável no meio científico, o que se deve, em parte, a um avanço contínuo das técnicas de genotipagem em larga escala. Por meio de varreduras genômicas, vários genes candidatos vêm emergindo, especialmente os ligados a processos biológicos neuronais (migração, proliferação e maturação neuronal, apoptose de células do tecido nervoso e regulação da formação da barreira hematoencefálica na angiogênese) (Poelmans e cols. 2011). Como exemplos de genes implicados nesses processos, estão os que codificam o *brain-specific angiogenesis inhibitor 1-associated protein 2* (*BAIAP-2*), o *inhibitor of DNA binding 2* (*ID2*), a *family with sequence similarity 190-member A* (*FAM190A*), a *integrin-alpha 11* (*ITGA11*) e a *H-cadherin 13* (*CDH13*) (Poelmans e cols. 2011). Com exceção do gene *CDH13*, que apresenta sobreposição de resultados entre distintos estudos (Stergiakouli & Thapar, 2010; Purper-Ouakil e cols. 2011), há pouca concordância entre os achados, o que torna as varreduras genômicas mais importantes como geradoras de hipóteses do que como indicadores de genes de susceptibilidade.



**Figura 1. Representação em forma de pirâmide que mostra os principais genes elencados para o TDAH na meta-análise de Gizer e cols. (2009). De cima para baixo: no primeiro estrato, dispõem-se os três genes cujos polimorfismos obtiveram nível de significância  $<0,001$  na meta-análise; no estrato intermediário, encontram-se os quatro genes cujas variantes tiveram significância entre 0.001 e 0.005; por fim, no último estrato, estão relacionados os genes cujos marcadores não se mostraram significativos.**

### **1.6.3. Neurobiologia**

A herdabilidade do TDAH, a efetividade da terapêutica farmacológica e os achados obtidos em estudos de neuropsicologia, de neuroimagem e com modelos animais convergem para confirmar o substrato neurobiológico do TDAH (Tripp & Wickens, 2009; Russell, 2007; Krain & Castellanos, 2006; Sonuga-Barke, 2005; Faraone e cols. 2005). Em virtude da quantidade de estudos sobre o transtorno, pesquisadores sugerem que os sintomas e, conseqüentemente, os prejuízos cognitivos e

comportamentais sejam devidos a anormalidades estruturais e funcionais de regiões encefálicas específicas (Arnsten & Pliszka, 2011; Arnsten & Li, 2005).

Wender e cols. (1971) propuseram que os sintomas, usualmente presentes no TDAH, fossem resultado de anormalidades funcionais em sistemas de neurotransmissão DAérgicos. No mesmo ano, Satterfield & Dawson (1971) incluíram evidências neuroanatômicas ao modelo prévio, sugerindo que os sintomas do TDAH seriam causados por disfunções fronto-límbicas, sendo que um fraco controle inibitório da região fronto-cortical nessas regiões poderia ser fator desencadeante dos sintomas. Levy (1991) corroborou os achados anteriores e propôs que déficits DAérgicos em regiões específicas do Sistema Nervoso Central (SNC) estariam vinculados ao TDAH.

Dessa forma, estudos têm sugerido que uma disfunção na circuitaria fronto-estriatal, englobando o córtex pré-frontal (CPF), os núcleos da base e o cerebelo, estariam relacionadas ao TDAH (Arnsten & Pliszka, 2011; Arnsten, 2009; 2006; Krain & Castellanos, 2006). Observa-se que, em amostras de pacientes com TDAH, o CPF apresenta perda de substância cinzenta e assimetria entre córtices direito e esquerdo; os núcleos da base apresentam volume diminuído e perda de simetria; o cerebelo apresenta redução global de volume (Curatolo e cols. 2009; Makris e cols. 2009; Sonuga-Barke, 2003). A integração dos achados estruturais aos funcionais sugere que a diminuição global da eficiência das circuitarias neuronais observadas no TDAH possa também estar associada à perda extensiva das conexões neuronais (Konrad & Eickhof, 2010). Apoiando-se em achados neuropsicológicos, Barkley (1997) e Sonuga-Barke (2005) desenvolveram teorias sobre os defeitos-base do TDAH. Barkley (1997), através de 19 avaliações neuropsicológicas, sugeriu que uma inibição comportamental prejudicada e

um déficit global das funções executivas, com aspectos envolvendo motivação, processamento temporal da informação, organização motora e percepção temporal, estariam no cerne de apresentações clínicas possíveis do TDAH. Por sua vez, Sonuga-Barke (2005) propôs que os prejuízos observados em crianças com TDAH seriam devidos a falhas nas vias responsáveis pelo que o autor denomina de ‘vias de sinalização de recompensas tardias’.

Assim sendo, o TDAH está relacionado a uma hipofuncionalidade da circuitaria DAérgica no CPF e em estruturas subcorticais subjacentes, responsáveis pelas funções motivacionais e pelo controle inibitório motor (Arnsten, 2009; Krain & Castellanos, 2006; Levy 1991). Um dos suportes para a ideia da hipofuncionalidade DAérgica surgiu em virtude da observação de que o MPH, principal fármaco disponível no tratamento clínico do TDAH, possui características funcionais de aumentar a disponibilidade de dopamina (DA) no espaço sináptico, sobretudo em regiões específicas fronto-corticais (Berridge e cols. 2006). Por outro lado, o envolvimento do sistema DAérgico no TDAH parece ser ainda mais complexo. Por exemplo, Castellanos (1997) propôs um modelo mais refinado para o envolvimento do sistema DAérgico. Segundo Castellanos (1997), o sistema DAérgico executa funções modulatórias distintas na transferência de informações por meio da circuitaria neuronal adjacente que conectam o tálamo, o CPF e os neurônios dos núcleos da base. A estimulação elétrica de neurônios DAérgicos mesocorticais, posicionados na Área Tegmental Ventral (ATV), inibe a atividade excitatória do núcleo dorso-medial do tálamo e dos córtices parietal e temporal, enquanto que o controle inibitório sobre as funções motoras é realizado por conexões com o hipocampo e o estriado (Castellanos, 1997). Portanto, as rotas DAérgicas mesocortical e nigroestriatal poderiam estar envolvidas na sintomatologia do TDAH:

uma hipofunção em áreas corticais seria responsável por déficits cognitivos e em funções executivas, enquanto que uma hiperfuncionalidade DAérgica em áreas estriatais resultaria em sintomas de agitação motora.

Conquanto, parece consenso que nenhuma alteração em um único sistema de neurotransmissão possa ser responsável por um transtorno tão heterogêneo quanto o TDAH (Genro e cols. 2010). Evidências conectam o envolvimento concomitante de outros sistemas neurotransmissores no TDAH, tendo por base as projeções neuronais no SNC (de Azeredo e cols. 2010; Sagvolden e cols. 2005). Os neurônios do CPF enviam projeções excitatórias glutamatérgicas para os neurônios estriatais; do estriado, saem projeções inibitórias GABAérgicas para neurônios da *substantia nigra* que, por sua vez, inibem os núcleos talâmicos. Finalmente, o tálamo completa esse circuito enviando projeções excitatórias glutamatérgicas para neurônios corticais (Sagvolden e cols. 2005).

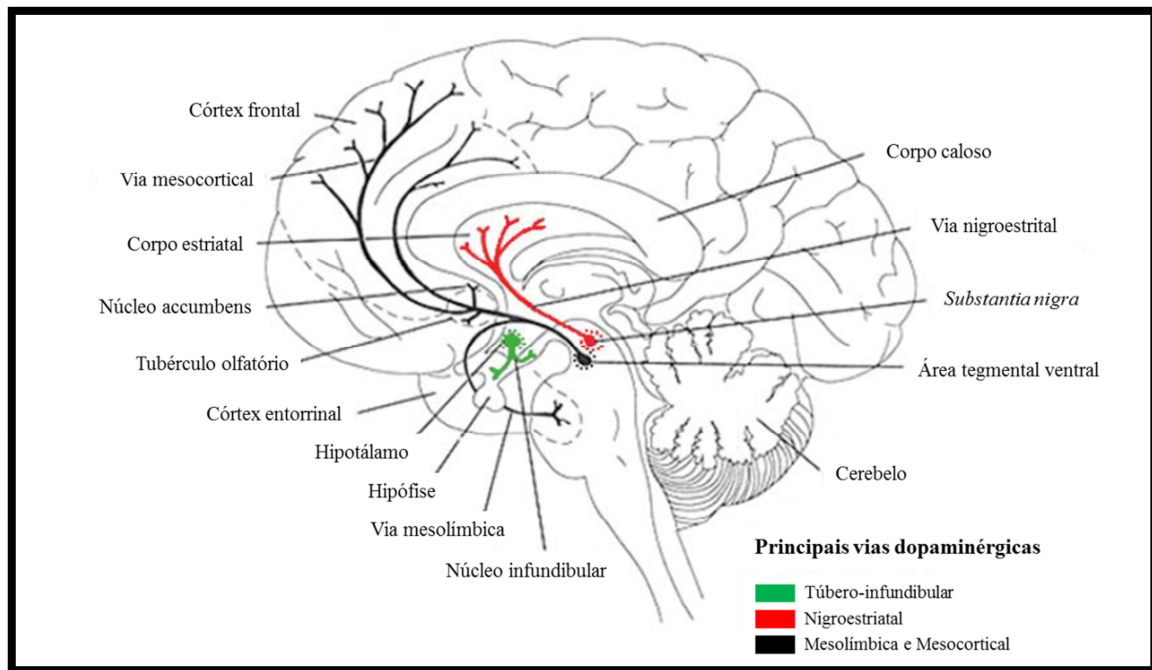
Mesmo que os dados dessas investigações ainda não sejam definitivos e englobados à sua totalidade, os mesmos são coerentes e consistentes com a ideia de que alterações DAérgicas poderiam modular neurotransmissões GABAérgicas, glutamatérgicas e noradrenérgicas no SNC de pacientes com TDAH. Logo, parece razoável supor que a influência da transmissão DAérgica deva ser encarada no contexto de inúmeras interações que os neurônios estabelecem com outros sistemas (Sagvolden e cols. 2005).

### 1.6.3.1. Sistema dopaminérgico

Particularmente, a neurotransmissão DAérgica contempla certo número de funções cerebrais nucleares, incluindo as ligadas ao comportamento, locomoção, cognição e motivação (Robbins & Arnsten, 2009; Schultz, 2007b). A ação cerebral da neurotransmissão DAérgica ocorre por meio de quatro principais vias: nigroestriatal, mesolímbica, mesocortical e túbero-infundibular [Figura 2, p. 32].

A via nigroestriatal projeta neurônios DAérgicos localizados na *substantia nigra* até o estriado dorsal, por meio do feixe ântero-medial do encéfalo, sendo responsável por aproximadamente 75% da disponibilidade de DA no SNC (Le Moal & Simon, 1991). As projeções mesolímbicas se originam nos núcleos celulares localizados na ATV e se prolongam até o *nucleus accumbens*, tubérculo olfatório e algumas áreas do sistema límbico. A via mesolímbica está relacionada ao processamento e comportamentos ligados ao sistema de recompensa (Le Moal & Simon, 1991). Por outro lado, a via mesocortical envia neurônios às áreas corticais e, conseqüentemente, está ligada a funções cognitivas e de aprendizagem (Le Moal & Simon, 1991). Por fim, a via túbero-infundibular projeta neurônios desde o hipotálamo ventral até a eminência mediana e hipófise, mediando a secreção de prolactina, hormônio vinculado ao estímulo de produção de leite nas glândulas mamárias.



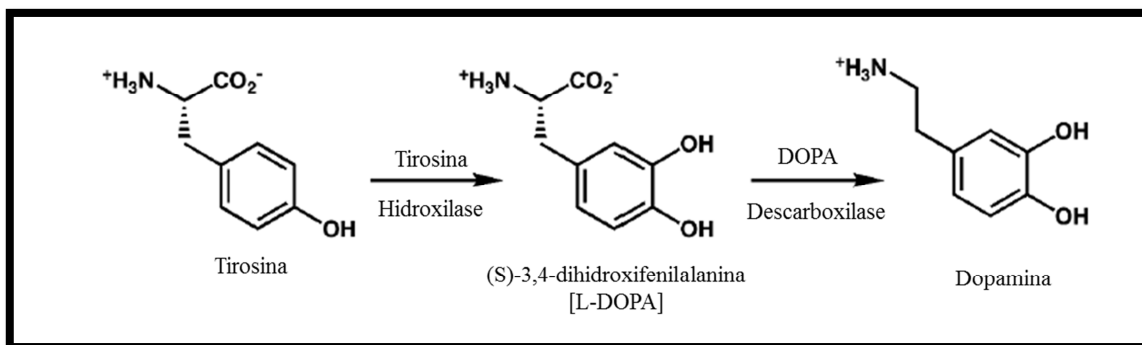


*Figura 2. Secção sagital mostrando as vias DAérgicas do encéfalo humano. A via nigroestriatal (em vermelho) projeta neurônios DAérgicos da substantia nigra até o estriado dorsal via feixe ântero-medial do encéfalo; a via mesolímbica (em preto) projeta neurônios DAérgicos da ATV ao estriado e outras áreas límbicas. A mesocortical (em preto) envia neurônios para áreas corticais; enfim, a via túbero-infundibular (em verde) projeta neurônios do hipotálamo ventral até a hipófise e eminência mediana [Imagem reproduzida e adaptada de Crocker (1994)].*

#### 1.6.3.1.1. Sinapses dopaminérgicas

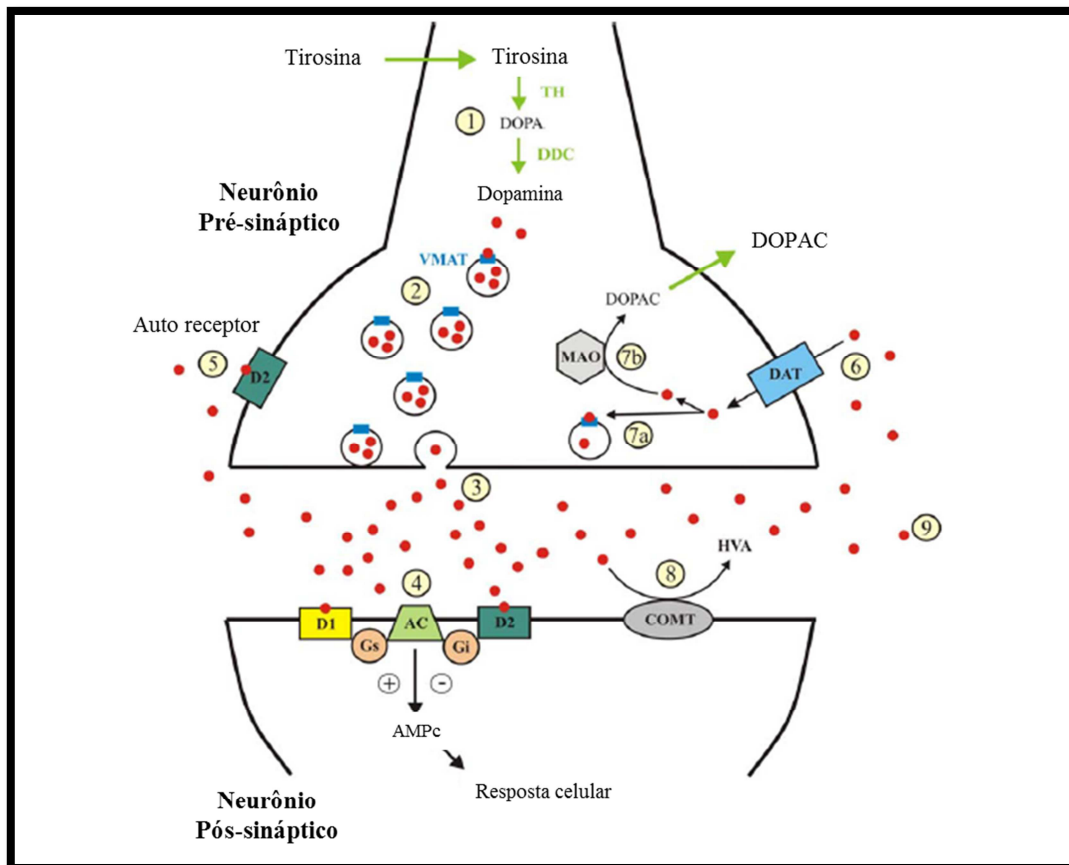
A DA é sintetizada a partir do aminoácido precursor tirosina no citoplasma do neurônio (Eisenhofer e cols. 2004). A tirosina é primeiramente convertida em (S)- 3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) pela tirosina hidroxilase (TH); por descarboxilação, essa é convertida em DA pela DOPA descarboxilase [Figura 3, p.33]. A DA é

armazenada, através da ação de uma família de transportadores vesiculares monoaminérgicos (VMAT), em vesículas sinápticas que servem como local de armazenamento de DA até uma posterior liberação ao espaço extracelular.



**Figura 3. Rota de biossíntese de DA.** A síntese de DA se inicia com a conversão do aminoácido não essencial tirosina em (S)-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) pela tirosina hidroxilase (TH). Em seguida, a L-DOPA é rapidamente convertida em DA pela DOPA descarboxilase, prosseguindo a rota para a síntese de outras catecolaminas ou finalizando-a [Imagem adaptada Nelson & Cox (2004)].

As vias DAérgicas descritas transmitem o potencial de ação de corpos celulares para o espaço sináptico. A chegada do potencial de ação provoca a liberação de DA dos compartimentos vesiculares de neurônios pré-sinápticos para a fenda sináptica [Figura 4, p. 34]. Uma fração da DA se liga reversivelmente a receptores DAérgicos localizados em neurônios pós-sinápticos e em regiões extra-sinápticas. Basicamente, a DA é retirada do meio extracelular por meio de dois mecanismos: (1) por recaptação ao neurônio pré-sináptico através do transportador de dopamina (DAT) ou (2) por metabolização por meio da ação da catecol-O-metiltransferase (COMT).



**Figura 4. Representação esquemática da circuitaria DAérgica.** (1) A TH converte tirosina em DOPA; por descarboxilação, a L-DOPA é convertida em DA pela L-DOPA descarboxilase. (2) A DA é posteriormente trazida para dentro das vesículas sinápticas por uma família de transportadores vesiculares (VMAT). (3) Uma vez recebido o potencial de ação, a DA é liberada para o espaço sináptico; (4) após, liga-se a receptores DAérgicos pós-sinápticos acoplados à proteína G. (5) A DA se liga ao receptor DAérgico extra-sináptico D2, o qual modula a síntese e liberação de DA. (6) A DA circulante é recaptada pelo DAT, localizado no neurônio pré-sináptico. (7-9) Por fim, a DA é metabolizada pelas enzimas MAO e/ou COMT, cujos metabólitos se difundem para o espaço sináptico [Imagem reproduzida e adaptada de Sutherland (2010)].

#### 1.6.3.1.2. O Transportador de Dopamina (DAT)

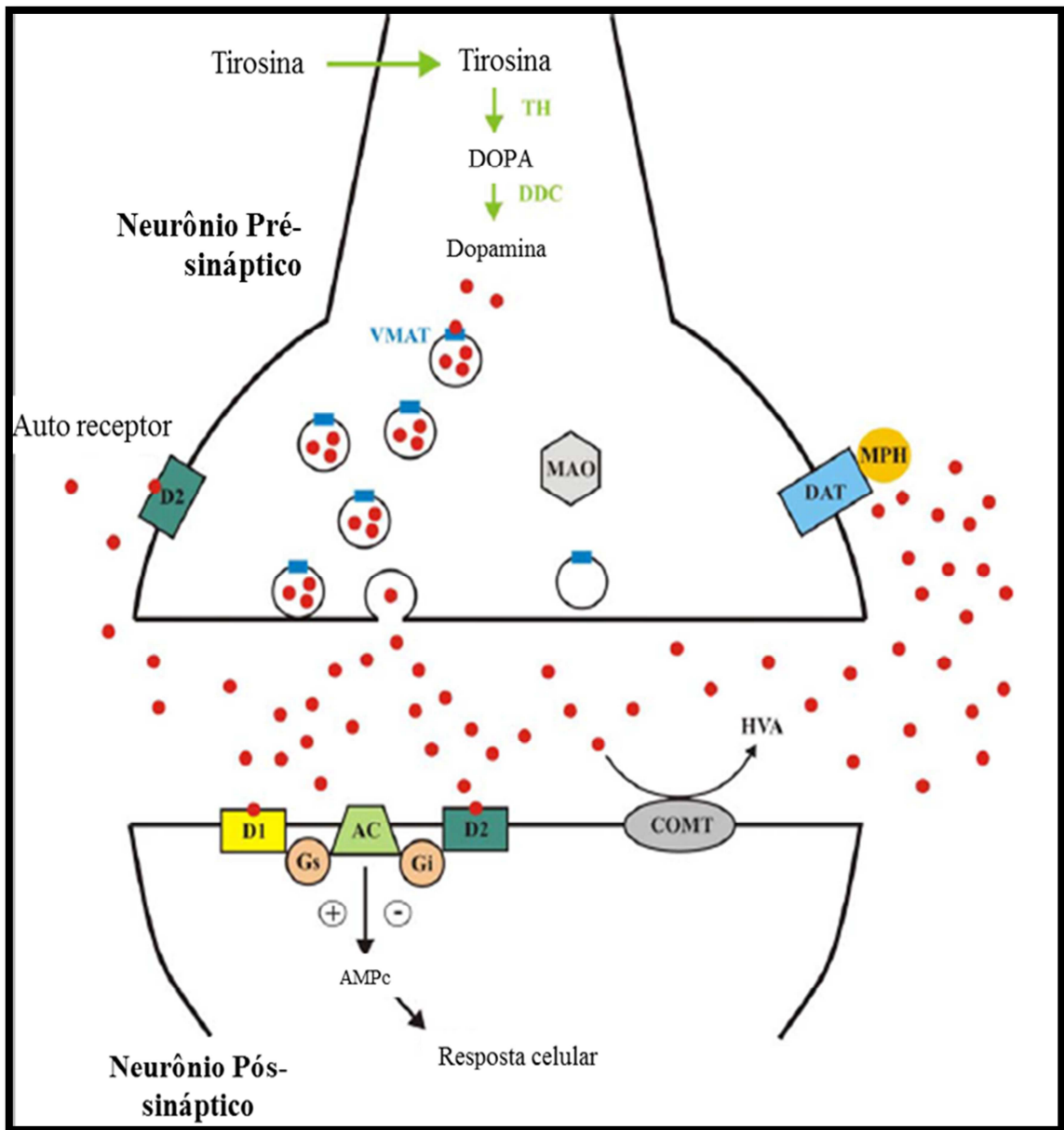
O Transportador de Dopamina (DAT) consiste em uma proteína transmembrana expressa seletivamente em neurônios DAérgicos pré-sinápticos e faz parte de uma família de transportadores dependentes de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) (Bannon e cols. 2001). O DAT é o elemento-chave na regulação da sinalização DAérgica, uma vez que medeia a dinâmica e os níveis de DA no espaço sináptico, controlando temporal e espacialmente a atividade de liberação e recaptação de DA nos terminais pré-sinápticos (Bannon e cols. 2001). O DAT, dessa forma, desempenha um importante papel na regulação da neurotransmissão DAérgica, sobretudo influenciando as funções motoras, emocionais, cognitivas e endócrinas (Shumay e cols. 2011; Bannon e cols. 2001).

Considerando os níveis de DAT no SNC, estudos demonstram que o mesmo apresenta uma distribuição desigual em regiões específicas do encéfalo, sendo mais abundantemente expresso nos núcleos da base em decorrência da atividade da via nigroestriatal (Ciliax e cols. 1995; Coulter e cols. 1995; Shumay e cols. 2011). Níveis elevados de RNA mensageiro relacionados ao DAT também são encontrados na *substantia nigra*; nesse caso, o DAT é sintetizado no interior de áreas da *substantia nigra* e transportado para outras áreas cerebrais por meio de axônios DAérgicos (Ciliax e cols. 1995).

Ainda, a expressão de DAT difere significativamente entre os indivíduos, refletindo uma alta heterogeneidade fenotípica, mesmo quando analisadas regiões cerebrais idênticas (Shumay e cols. 2011). Sabe-se que a expressão de DAT no SNC é dinâmica: os níveis de DAT flutuam com o intuito de acomodar a sinalização DAérgica (Zahniser & Sorkin, 2004). Alguns pesquisadores mostraram previamente que a

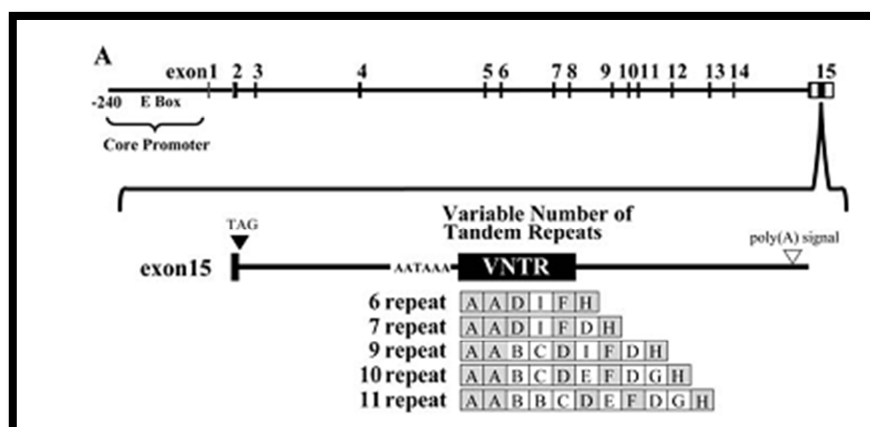
expressão de DAT se altera em resposta a drogas (Volkow e cols. 2005) e fatores ambientais (Swanson e cols. 2007); outros, entretanto, corroboraram a hipótese prévia de flutuações na expressividade de DAT ao longo da vida (Shumay e cols. 2011; Cruz-Muros e cols. 2009). A primeira flutuação parece ocorrer a partir do desenvolvimento do SNC e atinge seu pico de expressão durante a adolescência; a partir desse momento, os níveis de DAT diminuem gradualmente a uma taxa estimada de 5-6% por década (Cruz-Muros e cols. 2009).

É sabido que o DAT é o principal alvo de fármacos utilizados no tratamento clínico do TDAH, sobretudo o MPH (Pliszka e cols. 2007). A melhora clínica de pacientes em resposta ao reequilíbrio DAérgico caracteriza a hipótese inicial para a eficácia do tratamento com MPH. O MPH pode afetar os sistemas DAérgicos por meio da ligação com elevada afinidade do DAT, inibindo a absorção de DA (Engert & Pruessner, 2008; Findling, 2008) [Figura 5; p.37]. Alguns autores sugerem que o bloqueio sítio-específico prolongado do DAT pelo MPH possibilitaria o aumento da concentração intracelular de DA (Seeman & Madras, 1998; Volkow e cols. 2007), além de amplificar a magnitude e a duração dos estímulos induzidos pela disponibilidade extra de DA (Volkow e cols. 2009). Além disso, Bush e cols. (2013) sugeriram que a atomoxetina (Strattera<sup>®</sup>) poderia atuar aumentando a ativação da região anterior do córtex cerebral, normalizando a hipofuncionalidade dessa área em pacientes com TDAH. Outros pesquisadores, todavia, mostraram que o MPH aumentaria a expressão de VMAT2 e, conseqüentemente, poderia aumentar a capacidade de armazenamento de DA vesicular (Volkow e cols. 2008).



*Figura 5. Representação ilustrativa da função neuronal do DAT na circuitaria DAérgica. O Metilfenidato (MPH) atua predominantemente por ligação sítio-específico ao DAT, inibindo a recaptação de DA para o neurônio pré-sináptico; com isso, há o acúmulo de DA circulante no espaço sináptico e meio extracelular [Imagem reproduzida e adaptada de Sutherland (2010)].*

O gene que codifica a proteína DAT (SLC6A3/DAT1) foi inicialmente mapeado na região cromossômica 5p15.3 (Giros e cols. 1992). O gene possui uma extensão de aproximadamente 60 Kb e é constituído por 15 exons e 14 introns (Vandenberghe e cols. 1992). A porção codificadora do gene se inicia dentro do exon 2 e se prolonga até o início do exon 15 (Vandenberghe e cols. 1992). Alguns polimorfismos do gene SLC6A3/DAT1 foram descritos nas regiões intrônica e codificadora; no entanto, o mais intensamente investigado corresponde a um VNTR (do inglês *variable number of tandem repeats*), localizado no exon 15 da região 3' não-codificadora (3' UTR) (Vandenberghe e cols. 1992). O polimorfismo 3' UTR-VNTR consiste de uma sequência de 40 pares de bases (pb) que ocorre mais frequentemente com 9 (9R) ou 10 (10R) unidades de repetição em *tandem* (Kang e cols. 1999) [Figura 6, p.38].



**Figura 6.** Representação ilustrativa estrutural do gene SLC6A3/DAT1. O gene SLC6A3/DAT1 está mapeado na região 5p15.3 e consiste de 15 exons intercalados a 14 introns, totalizando uma extensão de aproximadamente 60 Kb. O polimorfismo mais investigado em estudos de associação é o VNTR, localizado na região 3' UTR do exon 15 [Imagem reproduzida e adaptada de Kanno & Ishiura (2011)].

O primeiro relato de associação do polimorfismo 3' VNTR do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH foi feito por Cook e cols. (1995). Uma meta-análise contemplando 34 estudos que investigaram a associação entre o 3' VNTR e o TDAH concluiu que há uma modesta, porém significativa relação entre o alelo 10R do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH, com heterogeneidade nos *odds-ratios* entre os estudos (Gizer e cols. 2009). Embora essa variante genética tenha sido associada positivamente em uma meta-análise, ainda não está claro, em sua totalidade, o mecanismo de relação direta com a susceptibilidade ao TDAH. Alguns pesquisadores discutem a plausibilidade dos achados com genes candidatos, tentando explicar a heterogeneidade encontrada entre polimorfismos no gene *SLC6A3/DAT1* e TDAH por diversos aspectos metodológicos, os quais variam entre os estudos – tamanho amostral, variáveis confundidoras, presença de comorbidades (Gizer e cols. 2009; Franke e cols. 2008; 2010; Polanczyk e cols. 2010).

Paralelamente a isso, alguns estudos têm sido publicados com o intuito de avaliar os níveis de DAT em indivíduos com TDAH, sobretudo se valendo de abordagens envolvendo neuroimagem. Um número significativo de pesquisadores demonstrou um aumento dos níveis de DAT em regiões específicas do SNC de pacientes com TDAH (Larisch e cols. 2006; Dresel e cols. 2000; Krause e cols. 2000; Dougherty e cols. 1999). Mais do que isso, Da Silva Jr e cols. (2011) demonstraram que níveis aumentados de DAT no estriado estão associados a uma diminuição do fluxo sanguíneo cerebral em áreas corticais e subcorticais. No entanto, outros estudos não foram capazes de mostrar quaisquer diferenças estatisticamente significativas nos níveis de DAT em casos e controles (Jucaite e cols. 2005; Van Dyck e cols. 2002). Ainda, há



dados mostrando uma relação inversa nos níveis de DAT em indivíduos com TDAH (Hesse e cols. 2009; Volkow e cols. 2009).

Enquanto que a discrepância entre os estudos possa ser devido a razões metodológicas (como o tipo de radiofármaco utilizado) (Spencer e cols. 2007; Volkow e cols. 2007), é também possível que, devido à heterogeneidade do TDAH, alguns indivíduos possam apresentar níveis tênues de DAT; em outros, níveis mais altos (Volkow e cols. 2007). Em virtude de os níveis de DAT estarem *downregulated* ou *upregulated*, os mesmos podem estar refletindo somente um estado, e não um traço ou condição única da sintomatologia (Madras e cols. 2005), o que poderia, de fato, auxiliar a explicar os resultados heterogêneos observados em estudos com neuroimagem.

Utilizando-se a neuroimagem como ferramenta para interpretar estudos genéticos, um número considerável de estudos investigaram associações entre o polimorfismo 3' VNTR e níveis cerebrais de DAT [Tabela 1, p.42]. Alguns pesquisadores revelaram que o alelo 10R (SLC6A3/DAT1 3' VNTR) estaria relacionado a um nível significativamente inferior de disponibilidade de DAT, quando comparado ao alelo 9R (Van de Giessen e cols. 2009; Van Dyck e cols. 2005); por outro lado, Cheon e cols. (2005) encontraram uma associação do mesmo alelo com níveis elevados de DAT.

Em virtude de os achados genéticos e de neuroimagem na região 3' UTR do gene SLC6A3/DAT1 não serem suficientes para a elucidação do papel do mesmo no TDAH, outras regiões do gene passaram a ser alvo de estudos. Por exemplo, Genro e cols. (2008) analisaram 16 polimorfismos ao longo de todo o SLC6A3/DAT1 com o intuito de compreender a estrutura de desequilíbrio de ligação em uma amostra

brasileira. Em outro estudo, Genro e cols. (2007) demonstraram uma associação significativa entre o polimorfismo rs2652511 (-839 C/T) do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH em crianças. Quando os autores restringiram as análises apenas para as crianças do subtipo combinado, os resultados de associação se mostraram ainda mais significativos. Mais do que simplesmente encontrar uma associação significativa entre o alelo C do polimorfismo rs2652511 (-839 C/T) e o TDAH, Genro e cols. (2008) observaram uma transmissão preferencial do haplótipo A/C/C/C/A (rs2550948/rs11564750/rs261759/rs2652511/rs2975223) em crianças com TDAH do subtipo combinado. Rubie e cols. (2001) demonstraram o envolvimento da região 5' do *SLC6A3/DAT1* na regulação do gene; posteriormente, Shumay e cols. (2010) confirmaram, por meio de abordagens *in silico*, a participação da região promotora na transcrição gênica. Mais do que isso, Rubie e cols. (2001) foram capazes de detectar cinco polimorfismos bialélicos na região promotora em uma população específica, sugerindo que algumas variantes seriam potenciais sítios de ligação para elementos regulatórios. Dentre os polimorfismos estudados, Rubie e cols. (2001) sugeriram que o rs2652511 (-839 C/T) seria capaz de introduzir um sítio de ligação para LBP-1 (do inglês *Leader Binding Protein 1*). Ampliando ainda mais o espectro de análise, Kelada e cols. (2005) identificaram vinte e dois marcadores ao longo do gene. Além disso, Kelada e cols. (2005) verificaram que os SNPs localizados nessa extensa região se segregavam em distintos haplótipos, dos quais seis eram comuns. Por meio de diferentes abordagens metodológicas, foi observado que os seis haplótipos comuns modificariam significativamente a expressão do gene; além disso, dois haplótipos mais frequentes poderiam possuir uma diferença de atividade em torno de 37%.

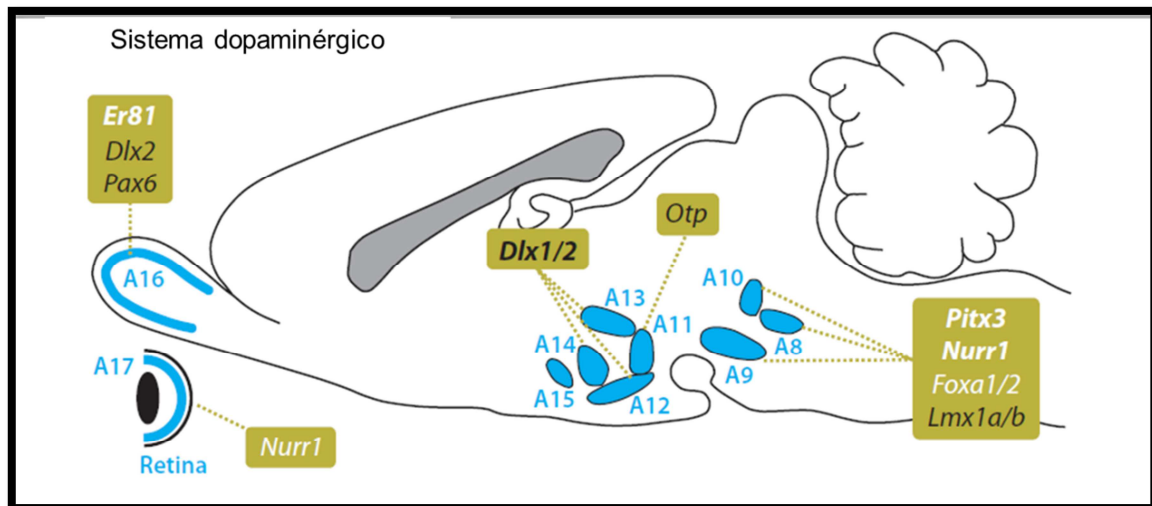
Com o intuito de se demonstrar a plausibilidade do método de investigação ao longo do gene *SLC6A3/DAT1*, outros transtornos psiquiátricos também fizeram parte desse cenário. Por exemplo, Greenwood e cols. (2001) analisaram quatorze SNPs e encontraram associação entre quatro haplótipos na região 3' UTR e o Transtorno Bipolar. Posteriormente, o mesmo grupo analisou marcadores genéticos nas regiões 5' e 3' do gene *SLC6A3/DAT1* com o intuito de caracterizar as relações de desequilíbrio de ligação entre si e ao longo do gene (Greenwood e cols. 2002), demonstrando um elevado grau de desequilíbrio de ligação nas regiões analisadas.

***Tabela 1. Representação de alguns achados de neuroimagem sobre a relação entre os alelos do polimorfismo 3' UTR-VNTR do gene SLC6A3/DAT1 e a disponibilidade estriatal de DAT. A tabela foi formulada com base em dados obtidos de estudos de neuroimagem relevantes nos últimos anos. Os estudos foram ordenados de acordo com o tipo de amostra utilizada bem como os resultados encontrados. Legenda: NS (não significativo); TDAH-A (TDAH em adultos) [De elaboração própria].***

Autor	Amostra	Total	9R/9R	9R/10R	9R/11R	10R/10R	Marcador	Área	Resultado
Van de Giessen (2009)	Controles	77	5	27	-	45	[ <sup>123</sup> I]β-CIT	Estriado	9R > 10R
Jacobsen (2000)	Controles	27	2	7	-	18	[ <sup>123</sup> I]β-CIT	Estriado	9R > 10R
Van Dyck (2005)	Controles	65	3	27	-	35	[ <sup>123</sup> I]β-CIT	Estriado	9R > 10R
Heinz (2000a)	Controles	25	-	10	-	15	[ <sup>123</sup> I]β-CIT	Estriado	10R > 9R
Krause (2006)	TDAH-A	29	2	10	-	17	99MTC-TRODAT-1	Estriado	NS
Contin (2004)	Parkinson	36	6	14	-	16	[ <sup>123</sup> I]FP-CIT	Estriado	NS

#### 1.6.3.1.3. Fatores regulatórios dopaminérgicos

A variabilidade na composição molecular da maquinaria DAérgica (Eriksen e cols. 2010) bem como a descoberta de sítios regulatórios ao longo do gene *SLC6A3/DAT1* (Kanno & Ishiura, 2011; Shumay e cols. 2010; Fuke e cols. 2005; Wang & Bannon, 2005) possibilitaram levantar a questão de como a expressão de genes da circuitaria DAérgica poderia ser regulada. A resposta a essa questão seria fundamental para um melhor discernimento acerca da heterogeneidade de achados em estudos genéticos e de neuroimagem envolvendo o polimorfismo 3' VNTR do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH. Alguns estudos foram capazes de descrever alguns fatores de transcrição que estariam envolvidos na formação, desenvolvimento e diferenciação de neurônios DAérgicos (Kanno & Ishiura, 2011; Shumay e cols. 2010; Flames & Hobert, 2009). Em modelos animais e em cultivos celulares, os genes *NR4A2/Nurr1*, *Pitx3* e *HESR1/Hey1* estão entre os mais bem conhecidos fatores de transcrição vinculados à neurotransmissão DAérgica [Figura 7, p.44].



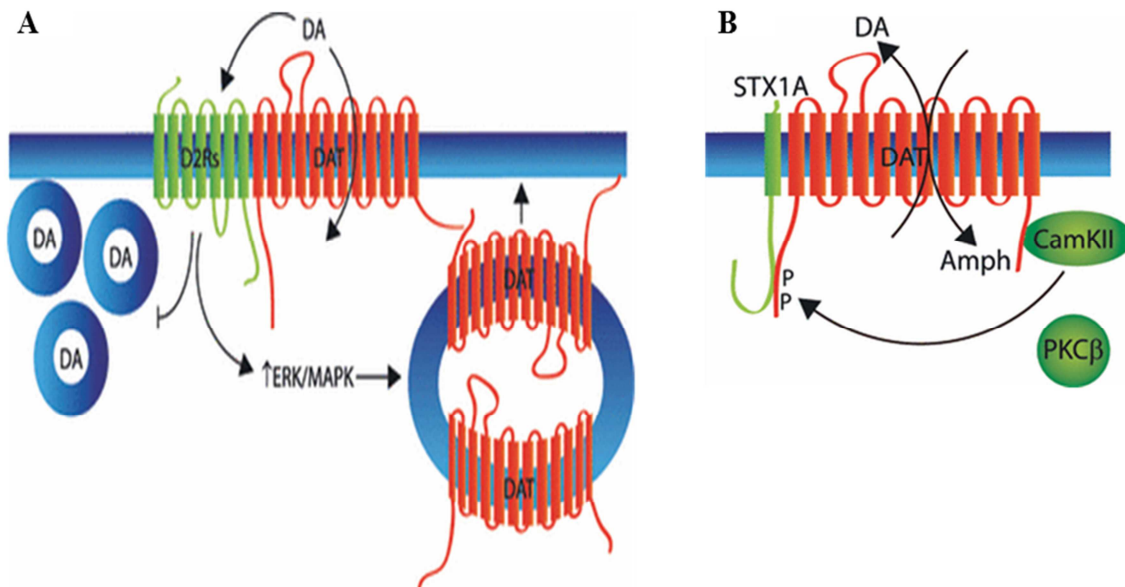
**Figura 7. Representação ilustrativa de um corte sagital de encéfalo de camundongo.** As áreas DAérgicas e os fatores de transcrição mais atuantes nessas regiões estão representadas na figura. Apesar de o Nurr1 ter distribuição dispersa em áreas do SNC, os maiores níveis de Nurr1 são encontrados na substância nigra (A7-8) e na área tegmental ventral (ATV) (A9) [Imagem reproduzida e adaptada de Flames & Hobert (2009)].

#### 1.6.3.1.4. Fatores regulatórios sobre o SLC6A3/DAT1

Na última década, utilizando-se de análises *in silico* (Shumay e cols. 2010) e de modelagem proteica (Eriksen e cols. 2010), pesquisadores não mediram esforços na compreensão de mecanismos regulatórios da atividade do DAT em neurônios pré-sinápticos. Os efeitos funcionais propiciados por esses estudos conduziram à identificação de outras proteínas adjacentes à maquinaria DAérgica (Sintaxina-1A,  $\alpha$ -Sinucleína e receptores de dopamina D2) que, seja por heterodimerização ou simplesmente por ação modulatória sobre o DAT, agiriam como (1) coadjuvantes no

ancoramento do transportador no terminal pré-sináptico; (2) moduladores da atividade seletiva do DAT e (3) reguladores da degradação de DA e *trafficking* [Figura 8, p.46].

Por outro lado, mais do que simplesmente estudar as relações proteicas, outros autores se detiveram na elucidação de mecanismos mais intrínsecos, vinculados ao controle expressional do gene *SLC6A3/DAT1*. Por exemplo, Shumay e cols. (2010) demonstraram que a regulação do gene seria mais complexa do que grande parte dos genes humanos relacionados à função neuronal [Figura 9, p.48]. A variedade das análises *in silico* permitiram aos pesquisadores predizer que há (1) uma alta frequência de SNPs (~ 839) ao longo do gene; (2) a presença de *copy number variations* (CNVs) localizados em regiões intragênicas e (3) uma abundância de VNTRs (~ 90), os quais seriam indicativos da ocorrência de abertura da cromatina e uma maior susceptibilidade a modificadores locais. Dessa forma, as suposições realizadas por Shumay e cols. (2010) abriram caminho para a investigação de um possível papel de alterações funcionais nos polimorfismos de genes regulatórios do *SLC6A3/DAT1* em manifestações fenotípicas em indivíduos com transtornos psiquiátricos.

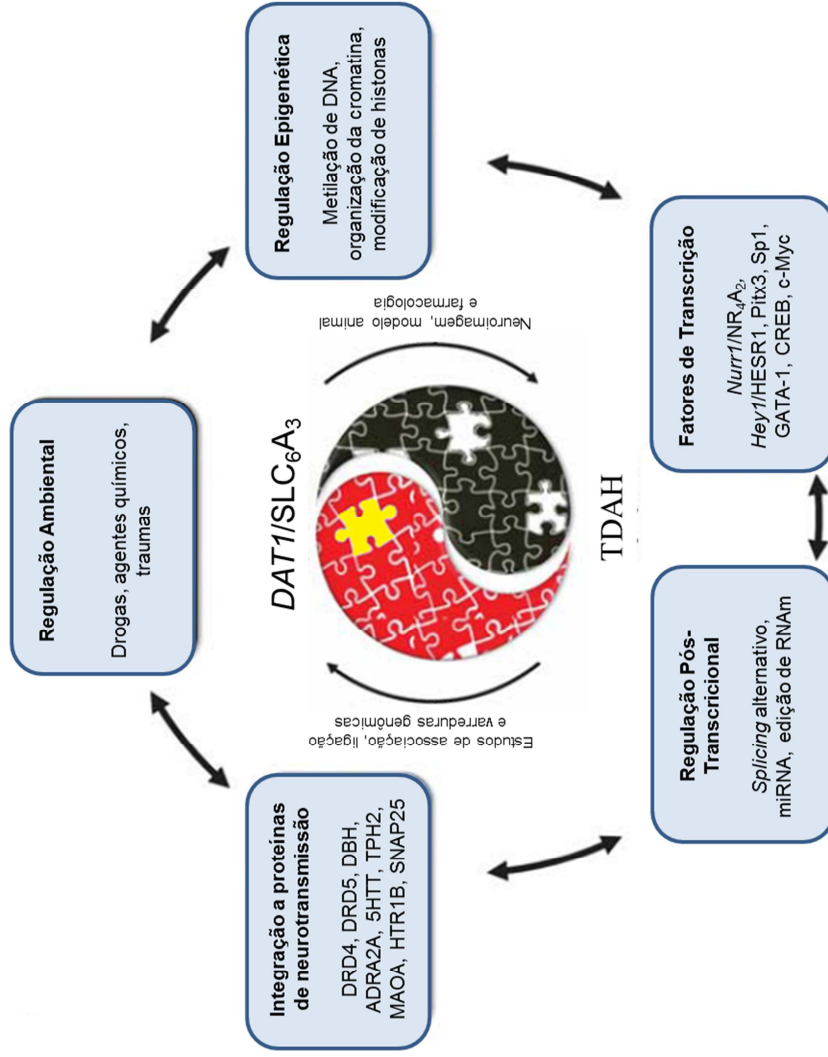


**Figura 8. Representação esquemática do envolvimento de proteínas adjacentes à maquinaria DAérgica no controle funcional do DAT. (A)** Os receptores de dopamina D2 (D2Rs) regulam a função do DAT através de uma interação proteína-proteína. Estudos sugerem que D2Rs aumentam a expressão superficial de DAT e a capacidade de recaptação de DA através da dimerização com o DAT (Bolan e cols. 2007; Lee e cols. 2007). **(B)** CaMKII estimula o efluxo de DA induzido por anfetaminas por meio da interação direta com a porção C-terminal do DAT. A ligação de CaMKII na região C-terminal do DAT facilita a fosforilação da porção N-terminal que, por sua vez, torna o DAT disponível para desempenhar a sua ação (Fog e cols. 2006). Foi sugerido que a interação do DAT com a sintaxina-1A (STX1A) modula o efluxo de DA induzido por CaMKIIa. Um mecanismo foi proposto no qual a ativação de CaMKII por psicoestimulantes aumentaria o poder de interação DAT + SXT1A, resultando em um transportador mais ávido em promover a funcionalidade DAérgica (Binda e cols. 2008) [Imagem reproduzida e adaptada de Eriksen e cols. (2010)].

Considera-se o conhecimento empírico de que a região 5' apresenta um papel essencial na regulação do gene *SLC6A3/DAT1*, visto que essa região engloba sítios de ligação para distintos fatores de transcrição e componentes básicos da maquinaria regulatória (Rubie e cols. 2001; Wang & Bannon, 2005; Shumay e cols. 2010) (Figura 9, p.48). Por conseguinte, não é surpreendente que a região promotora apresente 31 SNPs, sugerindo que as variantes genéticas possam conferir variabilidade expressional. Sabe-se que interações sinérgicas de elementos *cis*- e *trans*-regulatórios em um gene normalmente são determinantes para a ocorrência de eventos transcricionais; portanto, a avaliação de sítios potenciais de ligação na região promotora do *SLC6A3/DAT1* poderia produzir informações determinantes na regulação do mesmo.

Avaliando o SNC como um todo, os fatores de transcrição podem ser específicos a esse sistema e, dessa forma, admitem uma peculiaridade básica comum: a disponibilidade de fatores de transcrição poderia variar de acordo com o tipo celular e a região cerebral, contribuindo para a diversidade fenotípica (Mattick e cols. 2010; Mehler & Mattick, 2007). Como já foi dito, a natureza da região promotora do gene *SLC6A3/DAT1* determina a seletividade a fatores de transcrição, visto que há a interação de outros subconjuntos de elementos regulatórios nessa região do gene (Shumay e cols. 2010; Wang & Bannon, 2005). Estudos anteriores mostraram que *SLC6A3/DAT1* apresenta sítios de ligação para *NR4A2/Nurr1* (Flames & Hobert 2009; Shumay e cols. 2010), *HESR1/Hey1* (Fuke e cols. 2005; 2006; Kanno & Ishiura 2011), Sp1 (Shumay e cols. 2010; Wang & Bannon, 2005) e CREB [do inglês *cAMP response element-binding protein*] (Shumay e cols. 2010).



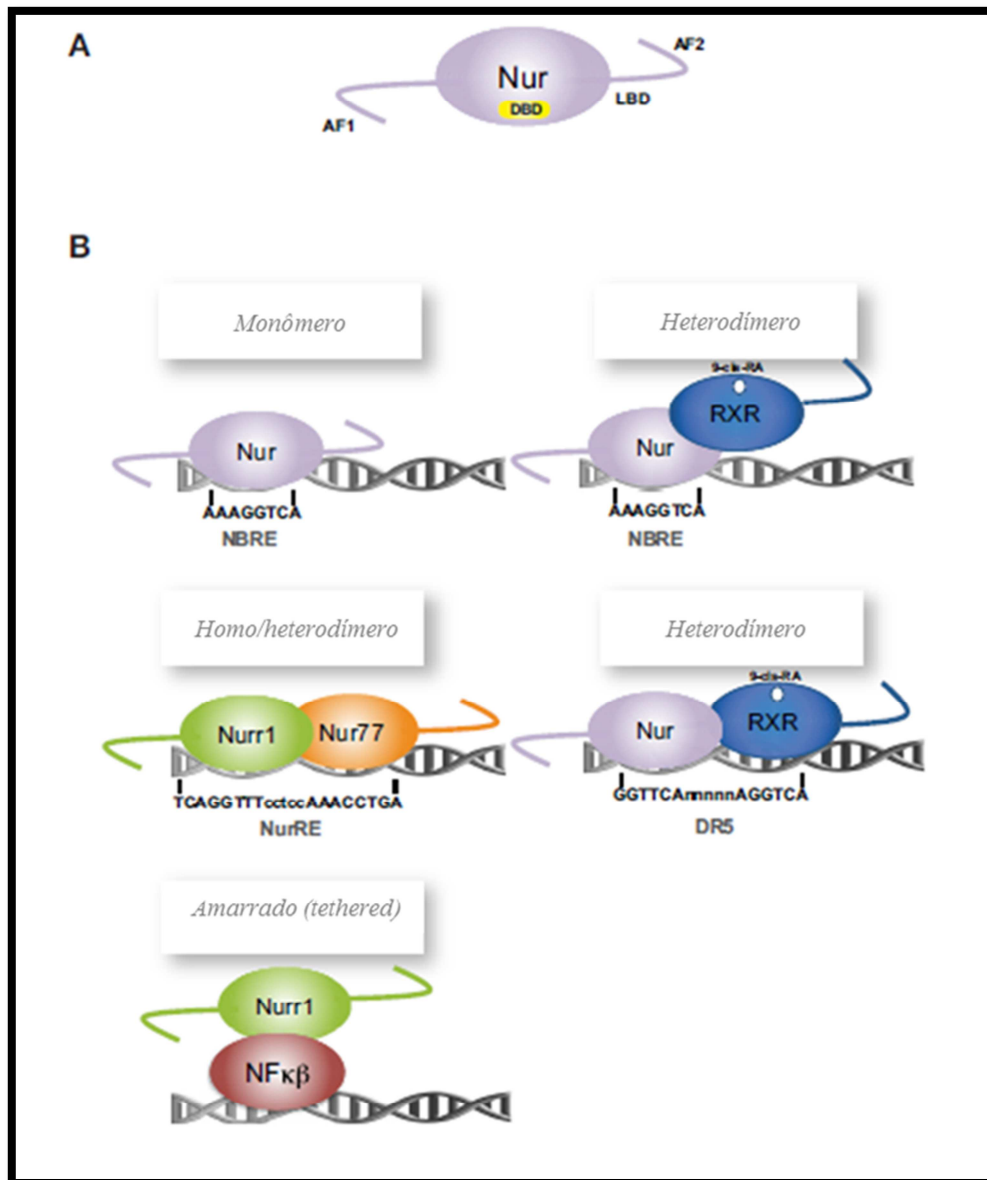


**Figura 9. Representação esquemática da interconexão entre o envolvimento do gene SLC6A3/DAT1 na etiologia do TDAH. Em se tratando de uma doença multifatorial, essa figura mostra a interferência de fatores regulatórios, epigenéticos, ambientais e a integração entre os sistemas de neurotransmissão no TDAH [Imagem reproduzida e adaptada de Shumay e cols. (2010)].**

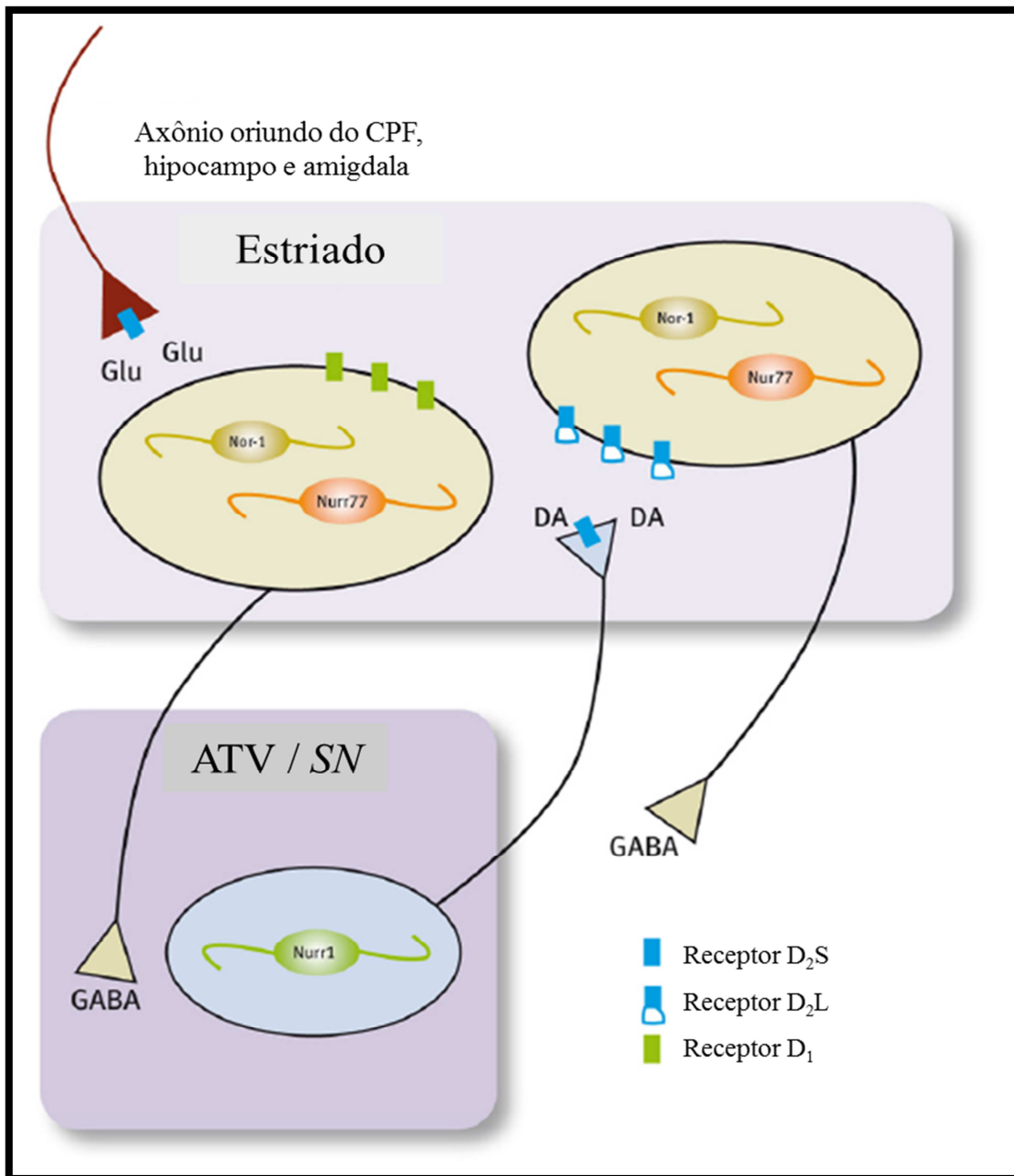
#### 1.6.3.1.4.1. Família de fatores de transcrição NUR

Os fatores de transcrição NR4A1/Nur77 (Hazel e cols. 1988; Milbrandt, 1988), NR4A2/*Nurr1* (Law e cols. 1992) e NR4A3/Nor-1 (Ohkura e cols. 1996) fazem parte de uma superfamília de receptores nucleares (NUR) que regula a expressão de distintos genes DAérgicos. A superfamília NUR partilha a sua organização estrutural clássica [Figura 10, p.50], que engloba: (1) uma porção N-terminal não conservada contendo a porção transcricional ativadora (AF-1); (2) um domínio conservado de ligação ao DNA (DBD) de localização intermediária, com 90,2 % da sequência de aminoácidos idênticos entre os fatores de transcrição NUR e (3) um domínio C-terminal moderadamente conservado (LBD), que encerra o domínio de ligação ao DNA (Giguère, 1999).

Valjent e cols. (2009) apoiam a ideia de que a família NUR esteja intimamente vinculada à neurotransmissão DAérgica [Figura 11, p.51]. Em núcleos celulares DAérgicos localizados no mesencéfalo, o controle de expressão desses genes é induzido por (1) estimulação de neurônios DAérgicos (Chergui e cols. 1997), (2) administração de agonistas dos receptores DAérgicos D2 (Gervais e cols. 1999; Langlois e cols. 2001) e (3) drogas de abuso (Werme e cols. 2000a; St-Hilaire e cols. 2003b).



**Figura 10.** Representação esquemática da estrutura dos fatores de transcrição da família NUR e os elementos de ligação ao DNA. (A) Similaridade na estrutura dos fatores de transcrição NUR: AF (do inglês activation function domain); DBD (domínio de ligação ao DNA); LBD (domínio de ligação ao ligante). (B) Elementos de ligação ao DNA dos fatores de transcrição NUR: RXR (Receptor retinóico X); 9-cis RA (9-cis ácido retinóico) [Imagem reproduzida e adaptada de Campos-Melo e cols. (2013)].



**Figura 11. Representação ilustrativa da expressão dos fatores de transcrição NUR no circuito cerebral de motivação e recompensa. NR4A2/Nurr1 é expresso em neurônios DAérgicos da substantia nigra (SN) e ATV; já NR4A1/Nur77 e NR4A3/Nor-1 são expressos em neurônios GABAérgicos dopaminoceptivos do estriado [Imagem adaptada de Valjent e cols. (2009)].**

#### 1.6.1.1.4.1.1. NR4A2/*Nurr1*

NR4A2/*Nurr1* consiste no principal fator de transcrição da família de NUR, sendo expresso em neurônios DAérgicos localizados na *substantia nigra* e ATV (Xiao e cols. 1996; Zetterström e cols. 1996a; Ojeda e cols. 2003). NR4A2/*Nurr1* é essencial para o desenvolvimento, maturação e sobrevivência de neurônios DAérgicos nessas áreas cerebrais específicas (Zetterström e cols. 1997; Castillo e cols. 1998; Saucedo-Cardenas e cols. 1998); em face disso, esse fator de transcrição se caracteriza como sendo relevante na manutenção da neurotransmissão DAérgica no adulto (Saucedo-Cardenas e cols. 1998; Kadkhodaei e cols. 2009).

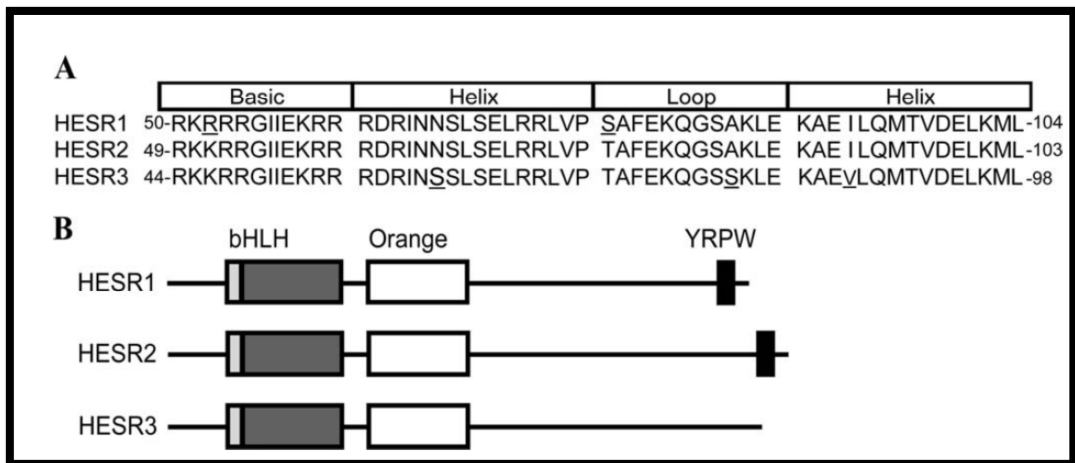
Estudos moleculares têm sugerido a expressão concomitante de NR4A2/*Nurr1* e outros genes DAérgicos, como a *TH*, o *SLC6A3/DAT1* e o *VMAT2* (Zetterström e cols. 1997; Castillo e cols. 1998; Kadkhodaei e cols. 2009). Detalhando-se o papel do NR4A2/*Nurr1* sobre o gene *SLC6A3/DAT1*, evidências apoiam o papel de regulação desse fator de transcrição na região promotora do gene (Sakurada e cols. 1999; Sacchetti e cols. 2001; Hermanson e cols. 2003; Galleguillos e cols. 2010). Mesmo que não se tenha quaisquer evidências pontuais de uma possível interação física direta NR4A2/*Nurr1* + *SLC6A3/DAT1*, estudos têm sugerido que esta poderia se dar de maneira indireta. Há evidências de que NR4A2/*Nurr1* sofreria ação modulatória de outros fatores de transcrição, os quais poderiam atuar conjuntamente conferindo especificidade funcional (Flames & Hobert, 2009). O coadjuvante mais bem estudado é o gene *Pitx3* (do inglês *Paired-like homeodomain transcription factor-3*), o qual é expresso em neurônios DAérgicos e cujos níveis também são mantidos no adulto (Smidt, 1997). Demonstrou-se também que NR4A2/*Nurr1* e *Pitx3* cooperariam entre si as funções de ‘ligar’ e ‘desligar’ a expressividade de *SLC6A3/DAT1* e de outros genes

(Cazorla e cols. 2000; Jacobs e cols. 2009); entretanto, os mecanismos regulatórios com que essa regulação se sucede ainda permanecem desconhecidos.

Levando-se em conta os estudos genéticos com transtornos psiquiátricos, algumas varreduras genômicas revelaram associações nominais entre polimorfismos no gene *NR4A2/Nurr1* e o TDAH (Mick e cols. 2010; Lasky-Su e cols. 2008; Neale e cols. 2008); no entanto, a significância desses achados não foi capaz de persistir após correções múltiplas. Evidências mais fortes existem para um papel de polimorfismos do gene *NR4A2/Nurr1* na susceptibilidade ao Parkinson (Chen e cols. 2007; Levecque e cols. 2004; Tan e cols. 2003) e ao TUS (Ishiguro e cols. 2002; Nielsen e cols. 2008; Saccone e cols. 2007), com alguns achados significativos. Até o momento, no entanto, o único estudo na abordagem gene candidato envolvendo esse gene em uma amostra de pacientes com TDAH não foi capaz de demonstrar uma associação com o polimorfismo de repetição CA (Smith e cols. 2005).

#### *1.6.1.1.4.2. Família de fatores de transcrição HESR*

A família de genes *HESR/Hey* (*HESR1*, *HESR2* e *HESR3*) foi identificada como um grupo de fatores de transcrição hélice-alça-hélice [do inglês *hairy-enhancer of split-type basic Helix-Loop-Helix* (bHLH)]. São integrantes da maquinaria celular da via *Notch* de sinalização neuronal, de importante papel modulatório sobre a maturação de células embrionárias e diversificação celular (Kokubo e cols. 1999; Leimeister e cols. 1999; Nakagawa e cols. 1999; Henderson e cols. 2001). A família *HESR/Hey* codifica os domínios bHLH e *Orange*; as proteínas *HESR* se ligam a sítios E-box ou N-box, locais consenso de ligação ao domínio bHLH [Figura 12, p.54].



**Figura 12. Representação ilustrativa da estrutura do gene da família HESR de fatores de transcrição. (A) Comparação da sequência primária do domínio bHLH em HESR1/Hey1 (50-104 aa), HESR2 (49-103 aa) e HESR3 (44-98 aa). A diferença residual que difere entre os fatores de transcrição são desconhecidos. A sequência primária do domínio bHLH de HESR em camundongos é similar à encontrada em humanos. (B) Estrutura da família HESR/Hey com os três maiores domínios observados: domínios bHLH, 'Orange' e YRPW 'motif' [Imagem reproduzida e adaptada de Kanno & Ishiura (2011)]**

#### 1.6.1.1.4.2.1. HESR1/Hey1

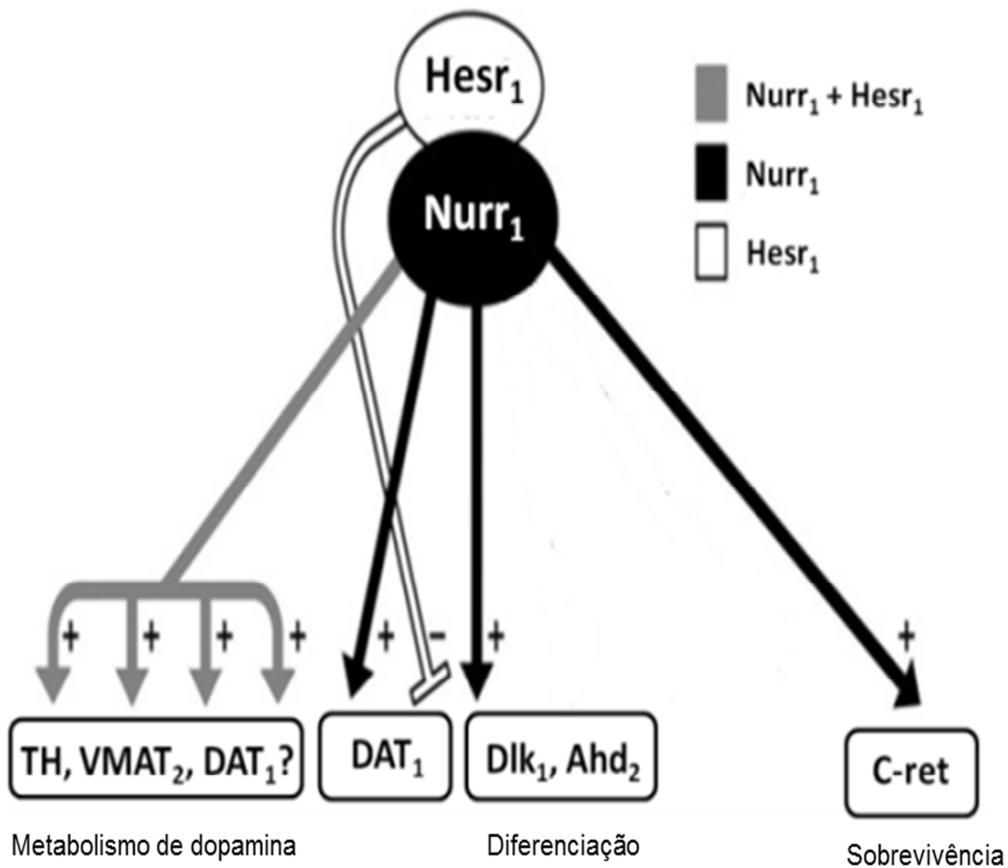
Fuke e cols. (2005) caracterizaram o gene HESR1/Hey1 como um repressor da expressão do SLC6A3/DAT1, sendo que o efeito modulatório transcricional se daria sobre a região 3' UTR do gene. Ainda, Fuke e cols. (2006), utilizando-se de distintas linhagens celulares, corroboraram as evidências prévias de modulação do gene HESR1/Hey1 sobre a região 3' UTR do gene SLC6A3/DAT1; mais do que isso,

caracterizaram espacialmente a forma de ligação, por dimerização com o domínio bHLH da molécula.

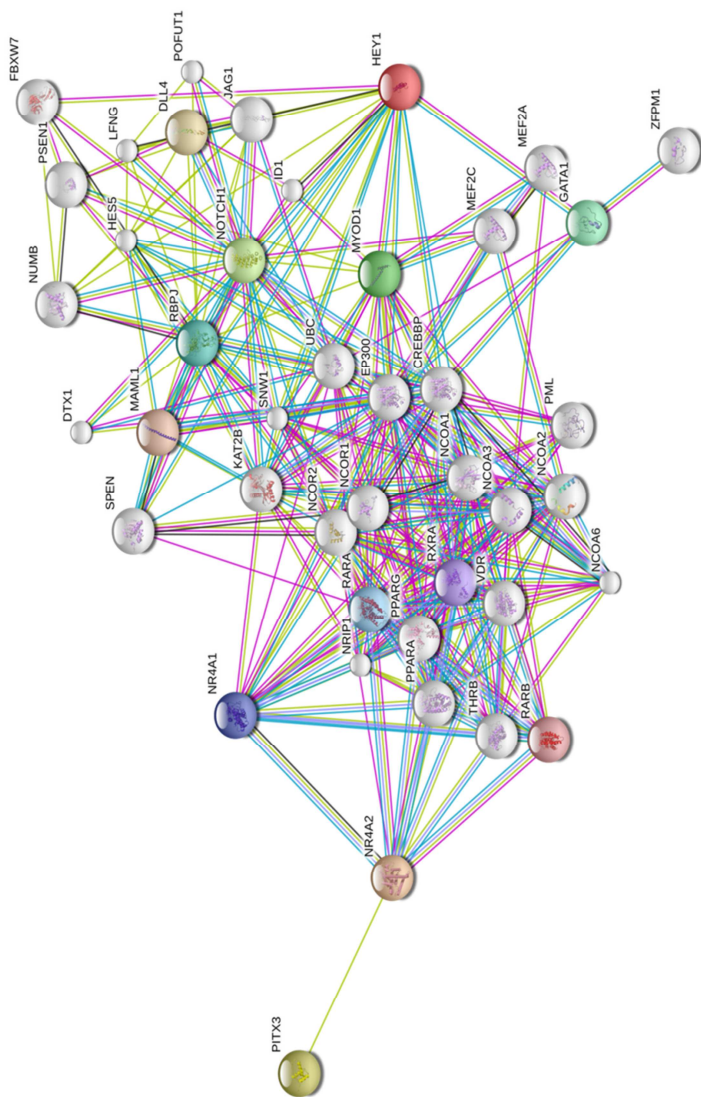
A aplicação de metodologias *in silico* tem contribuído para desvendar o paradigma regulatório envolvendo os genes *SLC6A3/DAT1*, *NR4A2/Nurr1* e *HESR1/Hey1*. Por exemplo, Jacobs e cols. (2009) demonstraram a possibilidade de haver um papel sinérgico entre *NR4A2/Nurr1* e *HESR1/Hey1* na regulação de genes do sistema DAérgico, sobretudo do *SLC6A3/DAT1* (Jacobs e cols. 2009) [Figura 13, p.56]. Mesmo que não se tenha elucidado na totalidade os efeitos moleculares e celulares da dimerização *NR4A2/Nurr1* + *HESR1/Hey1* na regulação de *SLC6A3/DAT1*, metodologias *in silico* podem ser capazes de prever dimerizações proteicas envolvendo estes e/ou outras cascatas de fatores de transcrição, os quais poderiam ser bastante eficientes na elucidação de quais proteínas e genes realmente envolvidos e como os mesmos atuam na modulação de parâmetros da circuitaria DAérgica [Figura 14, p.57]. Mais do que isso, o estudo de variantes genéticas relativamente frequentes nesses genes seriam úteis para o aumento do elenco de genes de pequeno efeito em uma doença multifatorial como o TDAH.

Vale destacar que, assim como mencionado para o gene *NR4A2/Nurr1*, algumas varreduras genômicas demonstraram associações nominais em SNPs do gene *HESR1/Hey1* na susceptibilidade do TDAH (Mick e cols. 2010; Lasky-Su e cols. 2008; Neale e cols. 2008). Também aqui a significância dessas associações não persistiu após correções múltiplas, por outro lado, não há estudos prévios na abordagem gene candidato para o TDAH.





*Figura 13. Representação esquemática dos papéis sinérgicos dos fatores de transcrição NR4A2/Nurr1 e HESR1/Hey1 na regulação de genes relacionados ao sistema DAérgico. Flechas em cinza indicam upregulation de NR4A2/Nurr1 sobre TH e VMAT2; as em preto indicam ‘upregulation’ de NR4A2/Nurr1 sobre SLC6A3/DAT1, Dlk1, Ahd2 e C-ret; as flechas em branco significam ‘downregulation’ de HESR1/Hey1 sobre o SLC6A3/DAT1 [Imagem reproduzida e adaptada de Jacobs e cols (2009)].*



**Figura 14. Análise de interpretação gráfica de redes de interação proteína-proteína usando o software STRING 9.0 (<http://string-db.org/>). A construção da rede de interação proteína-proteína foi baseada se utilizando como marcadores as proteínas que possuem, através de análise prévia da literatura, interferência direta sobre o DAT (NR4A2/Nurr1, HESR1/Hey1 e Pitx3). As medidas de número de nós e conectores foram estipulados com base no índice de confiabilidade  $> 0.8$ .**

## **Capítulo II - JUSTIFICATIVAS**

---

No SNC, acredita-se que exista um balanço entre as maquinarias celulares e moleculares de distintos sistemas de neurotransmissão, cujas funções seriam desempenhadas por meio de um conjunto equilibrado harmonicamente (Sagvolden e cols. 2005). A partir desse ponto de vista, quaisquer mudanças nesse balanço poderiam ser determinantes para a ocorrência de desequilíbrios entre os sistemas e, conseqüentemente, caracterizar transtornos psiquiátricos, como o TDAH. Através de um ‘sutil’ déficit na regulação neurotransmissora, o TDAH traz impactos na sociedade na qual estamos inseridos por promover prejuízos comportamentais e laborais na vida de pacientes e familiares, independentemente da idade.

Embora o TDAH venha sendo foco de distintos estudos moleculares ao longo dos últimos anos, as pesquisas realizadas até o momento foram incapazes de elucidar o substrato neurobiológico do TDAH na totalidade (Genro e cols. 2010); além disso, não foram capazes de prever, com clareza, os genes envolvidos e os verdadeiros papéis de cada um deles na caracterização fenotípica dos pacientes. Não obstante, existem indícios oriundos de distintas abordagens metodológicas mostrando que o gene do Transportador de Dopamina (*SLC6A3/DAT1*) seria um dos principais responsáveis por desencadear a desregulação DAérgica e, portanto, o desequilíbrio modulatório sobre a circuitaria celular e molecular de outros sistemas de neurotransmissão (Eriksen e cols. 2010; Sagvolden e cols. 2005; Bannon e cols. 2001). A heterogeneidade de resultados de estudos genéticos e de neuroimagem bem como os mecanismos biológicos adjacentes que conectam as duas abordagens poderiam ser mais bem compreendidos com o advento de pesquisas que utilizassem abordagens regulatórias do gene *SLC6A3/DAT1*. Por exemplo, Shumay e cols. (2010) demonstraram, por meio de

análises *in silico*, que a regulação do gene *SLC6A3/DAT1* seria mais complexa do que grande parte de genes humanos vinculados à função neuronal.

Tendo em vista a importância de variações regulatórias no genoma (Mattick e cols. 2010; Mehler & Mattick, 2007) e as evidências prévias de flutuações na expressão do gene *SLC6A3/DAT1* por influência de distintos elementos regulatórios (Shumay e cols. 2010; Flames & Hobert, 2009; Wang & Bannon, 2005), é provável que haja interações gene x gene entre marcadores genéticos em elementos regulatórios e polimorfismos no próprio gene *SLC6A3/DAT1*. A presença de sítios regulatórios ao longo do gene bem como a caracterização prévia de alguns fatores de transcrição são indícios de que polimorfismos em elementos regulatórios poderiam influenciar a modulação do gene *SLC6A3/DAT1* e ser fonte de variação em indivíduos com TDAH.

Até o momento se sabe que o estudo envolvendo elementos regulatórios é, especialmente em psiquiatria, relativamente novo, e métodos de análise laboratoriais ainda estão sendo desenvolvidos por alguns grupos de pesquisa. Em particular, a natureza dinâmica com que os processos regulatórios ocorrem no SNC (Mattick e cols. 2010) pode significar que existam variações em elementos que, uma forma ou de outra, poderiam conferir distintas trajetórias de susceptibilidade ao TDAH. É viável, portanto, que se possa analisar, por meio de interações gene x gene, uma possível relação entre o *SLC6A3/DAT1* e alguns elementos regulatórios, com o intuito de se conhecer um pouco mais sobre a modulação do gene e verificar quais variantes poderiam influenciar a susceptibilidade ao TDAH. As informações genéticas decorrentes dessa Tese poderiam, assim, oferecer à comunidade científica novas possibilidades de interpretação para a heterogeneidade dos achados de estudos moleculares envolvendo o *SLC6A3/DAT1*.



Estudar as possíveis influências dos genes *SLC6A3/DAT1*, *NR4A2/Nurr1* e *HESR1/Hey1* e suas interações, principalmente sob um enfoque regulatório, em uma amostra de adultos com TDAH.

- I. Genotipar uma amostra de 522 adultos com TDAH e de 628 doadores de sangue para os polimorfismos genes *SLC6A3/DAT1* (3' VNTR, Int8 VNTR e rs2652511), *NR4A2/Nurr1* (rs12803 e rs834835) e *HESR1/Hey1* (rs960978 e rs1046472);
  
- II. Verificar a possibilidade de associação de polimorfismos nos genes *SLC6A3/DAT1* (3' VNTR, Int8 VNTR e rs2652511), *NR4A2/Nurr1*(rs12803 e rs834835) e *HESR1/Hey1* (rs960978 e rs1046472) como um todo e em subgrupos definidos por diferentes variáveis clínicas;
  
- III. Analisar possíveis interações entre polimorfismos nos genes *SLC6A3/DAT1* (3' VNTR, Int8 VNTR e rs2652511), *NR4A2/Nurr1*(rs12803 e rs834835) e *HESR1/Hey1* (rs960978 e rs1046472) na susceptibilidade ao TDAH, buscando uma melhor compreensão de mecanismos regulatórios envolvidos.



**Capítulo IV – ARTIGO #1**

---

**FURTHER EVIDENCE FOR THE ASSOCIATION BETWEEN A  
POLYMORPHISM IN THE PROMOTER REGION OF SLC6A3/DAT1 AND  
ADHD: FINDINGS FROM A SAMPLE OF ADULTS**

Publicando em: *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, DOI 10.1007/s00406-014-0486-8

**Capítulo V – ARTIGO #2**

---

**APPROACHING THE POSSIBLE ROLE OF NR4A2/*Nurr1*-HESR1/*Hey1*  
TRANSCRIPTION FACTORS GENES IN ADHD SUSCEPTIBILITY**

Journal of Psychiatric Research [Em preparação]

*Instrução para autores no site:* [<http://www.elsevier.com/journals/journal-of-psychiatric-research/0022-3956/guide-for-authors>]



A discussão do conjunto de dados obtidos com a presente Tese tem por finalidade integrar os achados a partir de uma perspectiva mais ampla sobre o assunto. Dessa maneira, pretende-se situar o trabalho em um contexto de interação gene x gene e seu papel na regulação DAérgica, discutindo-se os principais resultados, os potenciais de aplicabilidade e, por fim, as perspectivas.

No SNC, acredita-se que exista um balanço entre as maquinarias celulares e moleculares de distintos sistemas de neurotransmissão, cuja funcionalidade seria desempenhada por meio de um conjunto equilibrado harmonicamente (Sagvolden e cols. 2005). A partir desse ponto de vista, quaisquer alterações mesmo que ‘sutis’ nesse balanço poderiam ser determinantes para a ocorrência de instabilidades neuroquímicas e, conseqüentemente, caracterizar o TDAH. Embora o gene *SLC6A3/DAT1* venha sendo foco de distintos estudos moleculares ao longo dos anos, as pesquisas realizadas até o momento foram incapazes de elucidar, com clareza, a verdadeira contribuição do gene na caracterização fenotípica do TDAH. Por todos esses motivos, o *SLC6A3/DAT1* foi escolhido como elemento-chave nesse estudo em virtude das múltiplas evidências de suas relevâncias molecular e clínica, nos levando a pensar que uma abordagem voltada para mecanismos regulatórios e interações gene x gene poderia propiciar a elucidação do papel do gene com uma maior riqueza de detalhes.

No primeiro artigo, avaliamos três polimorfismos no gene *SLC6A3/DAT1* (rs2652511, 3' UTR-VNTR e Int8 VNTR) e suas possíveis influências na susceptibilidade ao TDAH em adultos. O resultado mais proeminente foi a associação entre o alelo C do polimorfismo rs2652511 (-839 C/T) do gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH em adultos, corroborando o achado anteriormente encontrado em uma amostra

de crianças com TDAH (Genro e cols. 2007). Nesse sentido, os resultados descritos por Genro e cols. (2008) foram decisivos no que diz respeito à compreensão da estrutura de desequilíbrio de ligação do gene. É preciso considerar que o SNP rs2652511 (-839 C/T), localizado na região promotora do gene *SLC6A3/DAT1*, não está presente em plataformas utilizadas em varreduras genômicas para o TDAH; por esse motivo, estudos como esse são necessários, principalmente utilizando a abordagem gene candidato. O conjunto de resultados envolvendo o SNP rs2652511 (*SLC6A3/DAT1*) abre sobretudo a necessidade de mais estudos voltados para o papel da região 5' na susceptibilidade ao TDAH.

Como já mencionado anteriormente, o estudo de fatores genéticos individualmente associados a transtornos psiquiátricos provou ser relativamente pouco frutífero, provavelmente em função do envolvimento de muitos genes de pequeno efeito, que juntos formariam apenas uma fração do processo de uma doença multifatorial (Glazier e cols. 2002). É aceito que a divergência fenotípica no SNC de humanos seja baseada, em grande parte, de uma variação da informação reguladora que controla a expressão de proteínas neuronais e suas isoformas (Carroll, 2008). A visão atual é a de que o estudo de variações em regiões regulatórias de um gene seria determinante para a compreensão da diversidade fenotípica em doenças complexas (Qureshi e cols. 2010; Mattick e cols. 2010; Mattick, 2009; Mehler & Mattick, 2007; Knight, 2005; Rockman & Wray, 2002). Em psiquiatria, as variações genéticas têm se revelado importantes em virtude de que pequenas alterações em elementos regulatórios poderiam ser capazes de alterar o equilíbrio funcional do SNC e, por fim, contribuir para a manifestação fenotípica de transtornos. Mesmo que polimorfismos em elementos regulatórios sejam, aos poucos, reconhecidos como importantes vias de modificação

gênica, o número de exemplos com associação genética positiva e mecanismos celulares definidos ainda são relativamente escassos.

A estrutura complexa do gene *SLC6A3/DAT1* demonstrada por Shumay e cols. (2010), representando distintos sítios de ligação para fatores de transcrição, torna-o susceptível a padrões diferenciais de modificação gênica por elementos regulatórios. Estudos *in vitro* e *in silico* foram capazes de identificar *a priori* fatores de transcrição associados à regulação do gene *SLC6A3/DAT1* (Shumay e cols. 2010; Flames & Hobert, 2009; Dolfini e cols. 2009; Wang & Bannon, 2005). Em virtude disso, foi possível focalizar em uma abordagem de estudo de interação gene x gene entre polimorfismos no gene *SLC6A3/DAT1* e em elementos regulatórios. Mesmo que os dados representados no segundo artigo não tenham demonstrado uma interação gene x gene direta entre o *SLC6A3/DAT1* e os fatores de transcrição *NR4A2/Nurr1* e *HESR1/Hey1*, a interação significativa *NR4A2/Nurr1* rs834835\**HESR1/Hey1* rs1046472 é compatível com a ideia de que parte da variabilidade genética no sistema DAérgico e mais especificamente em *SLC6A3/DAT1* se devam à regulação gênica. Análises *in silico* se utilizando de abordagens de interação proteína-proteína [Figuras 13 e 14, p.56-57] abrem a possibilidade da existência de um terceiro (e talvez outros mais) fatores de transcrição adjacentes à regulação do gene *SLC6A3/DAT1*. A complexidade dessas inter-relações propicia uma nova perspectiva de estudo no campo das interações gene x gene, sugerindo que outros polimorfismos nesses e em outros genes devam ser estudados.

É muitas vezes difícil definir se um polimorfismo de um elemento regulatório associado a um transtorno psiquiátrico é em si funcionalmente importante ou se age

como um marcador para outro marcador genético ainda não identificado (Knight, 2005). Até o momento, a utilização de elementos regulatórios em um contexto de interação gene x gene é diminuta, possivelmente devido ao desconhecimento dos mecanismos celulares e moleculares adjacentes à maquinaria transcricional. A combinação da abordagem de interação gene x gene de polimorfismos em elementos regulatórios distintos, como a realizada aqui, pode ser uma alternativa para a geração de novas hipóteses e, ainda, uma melhor interpretação dos achados heterogêneos de associação entre o gene *SLC6A3/DAT1* e o TDAH.

Os resultados propiciados por essa Tese não excluem que outros níveis de complexidade e diversas abordagens metodológicas também sejam estudados. Muito ainda resta a ser pesquisado na busca por endofenótipos úteis em análises genéticas para o TDAH; de maneira semelhante, é provável que fatores ambientais e de natureza epigenética também contribuam para a heterogeneidade de achados e para a diversidade regulatória do gene *SLC6A3/DAT1*. Ainda, pode haver outras combinações alélicas no desenvolvimento do fenótipo que não foram incluídas nos modelos de interações gene x gene realizados aqui. Outro ponto a se considerar para o *SLC6A3/DAT1* diz respeito às variações genéticas interindividuais que parecem estar envolvidas no modo com que os pacientes respondem ao tratamento farmacológico com MPH (Kooij e cols. 2008; Mick e cols. 2006). É plausível que uma fração da variabilidade observada na resposta ao tratamento com MPH seja devida a fatores genéticos (Polanczyk e cols. 2010). Nesse sentido, mais estudos de farmacogenética envolvendo polimorfismos em mecanismos regulatórios do gene *SLC6A3/DAT1* podem ajudar a desvendar a heterogeneidade observada na resposta clínica dos pacientes ao tratamento farmacológico, identificando variações genéticas relacionadas com a melhora clínica, relações dose-efeito e

aparecimento de efeitos adversos. A detecção de diferenças genéticas individuais na resposta ao MPH poderia levar a novas estratégias de manejo clínico para o tratamento de pacientes com TDAH. Por fim, todas essas questões se apresentam, nesse momento, como alternativas para a continuação do estudo.

Concluindo, a importância de variações regulatórias no genoma (Mattick e cols. 2010; Mattick, 2009; Mehler & Mattick, 2007) gerou o contexto no qual se inseriram os estudos com abordagens *in silico* e *in vitro* (Shumay e cols. 2010; Flames & Hobert, 2009; Wang & Bannon, 2005) sobre a função do gene *SLC6A3/DAT1*. Destacam-se, sobretudo, os avanços no que diz respeito à variedade de elementos regulatórios de efeito na expressão gênica, quer sejam fatores de transcrição, RNAs não-codificantes ou outras sequências. Assim, a presente Tese se inseriu nesse contexto com a finalidade de determinar, com um pouco mais de riqueza de detalhes, o envolvimento do gene *SLC6A3/DAT1* no TDAH, por meio de uma estratégia alternativa de estudo envolvendo elementos regulatórios e interações gene x gene. Paraphraseando Mattick e cols. (2010), “a natureza da regulação gênica requer a reavaliação de elementos regulatórios como sendo entidades distintas; para isso, sugere-se que o genoma de humanos possa ser mais precisamente visto como ‘ilhas’ de informações codificadoras em um ‘mar’ de sequências *cis*- e *trans*-regulatórias”. Enfim, os resultados até aqui, embora preliminares, indicam um caminho alternativo de análise e interpretação da susceptibilidade ao TDAH.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5<sup>th</sup> ed.). Washington DC.
- American Psychiatric Association (1994) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4<sup>th</sup> ed.). Washington DC.
- American Psychiatric Association (1980) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (3<sup>rd</sup> ed.). Washington DC.
- American Psychiatric Association (1968) Diagnostic and statistical manual of mental disorders (2<sup>nd</sup> ed.). Washington DC.
- Applegate B, Lahey BB, Hart EL, Biederman J, Hynd GW, Barkley RA, Ollendick T, Frick PJ, Greenhill L, McBurnett K, Newcorn JH, Kerdyk L, Garfinkel B, Waldman I, Shaffer D (1997) Validity of the age-of-onset criterion for ADHD: a report from the DSM-IV field trials. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 36:1211-1221.
- Arnsten AF, Pliszka SR (2011) Catecholamine influences on prefrontal cortical function: relevance to treatment of attention deficit/hyperactivity disorder and related disorders. *Pharmacol Biochem Behav* 99:211-216.
- Arnsten AF (2009) Toward a new understanding of attention-deficit hyperactivity disorder pathophysiology: an important role for prefrontal cortex dysfunction. *CNS Drugs* 23:33-41.

- Arnsten AF (2006) Fundamentals of attention-deficit/hyperactivity disorder: circuits and pathways. *J Clin Psychiatry* 67:7-12.
- Arnsten AF, Li BM (2005) Neurobiology of executive functions: Catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry* 57:1377-1384.
- Banerjee TD, Middleton F, Faraone SV (2007) Environmental risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. *Acta Paediatr* 96:1269-1274.
- Barkley RA (2006a) Attention-deficit hyperactivity disorder. Guilford, New York: A Handbook for Diagnosis and Treatment.
- Barkley RA (1997) Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychol Bull* 121:65-94.
- Bannon MJ, Michelhaugh SK, Wang J, Sacchetti P (2001) The human dopamine transporter gene: gene organization, transcriptional regulation, and potential involvement in neuropsychiatric disorders. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:449-455.
- Bauermeister JJ, ShROUT PE, Ramírez R, Bravo M, Alegría M, Martínez-Taboas A, Chávez L, Rubio-Stipec M, García P, Ribera JC, Canino G (2007) ADHD correlates, comorbidity, and impairment in community and treated samples of children and adolescents. *J Abnorm Child Psychol* 35:883-898.
- Berridge CW, Devilbiss DM, Andrzejewski ME, Arnsten AF, Kelley AE, Schmeichel B, Hamilton C, Spencer RC (2006) Methylphenidate preferentially increases

catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function. *Biol Psychiatry* 60:1111-1120.

Biederman J, Petty CR, Clarke A, Lomedico A, Faraone SV (2011) Predictors of persistent ADHD: an 11-year follow-up study. *J Psychiatr Res* 45:150-155.

Biederman J, Petty CR, Evans M, Small J, Faraone SV (2010) How persistent is ADHD? A controlled 10-year follow-up study of boys with ADHD. *Psychiatry Res* 177:299-304.

Biederman J, Monuteaux MC, Mick E, Spencer T, Wilens TE, Silva JM, Snyder LE, Faraone SV (2006) Young adult outcome of attention deficit hyperactivity disorder: a controlled 10-year follow-up study. *Psychol Med* 36:167-179.

Biederman J (2005) Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry* 57:1215-1220.

Biederman J, Monuteaux MC, Doyle AE, Seidman LJ, Wilens TE, Ferrero F, Morgan CL, Faraone SV (2004) Impact of executive function deficits and attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) on academic outcomes in children. *J consult Clin Psychol* 72:757-766.

Binda F, Dipace C, Bowton E, Robertson SD, Lute BJ, Fog JU, Zhang M, Sen N, Colbran RJ, Gnegy ME, Gether U, Javitch JA, Erreger K, Galli A (2008) Syntaxin 1A interaction with the dopamine transporter promotes amphetamine-induced dopamine efflux. *Mol Pharmacol* 74:1101-1108.

- Bolan EA, Kivell B, Jaligam V, Oz M, Jayanthi LD, Han Y, Sen N, Urizar E, Gomes I, Devi LA, Ramamoorthy S, Javitch JA, Zapata A, Shippenberg TS (2007) D2 receptors regulate dopamine transporter function via an extracellular signal-regulated kinases 1 and 2-dependent and phosphoinositide 3 kinase-independent mechanism. *Mol Pharmacol* 71:1222-1232.
- Bush G, Holmes J, Shin LM, Surman C, Makris N, Mick E, Seidman LJ, Biederman J (2013). Atomoxetine increases fronto-parietal functional MRI activation in attention-deficit/hyperactivity disorder: a pilot study. *Psychiatry Res* 211:88-91.
- Campos-Melo D, Galleguillos D, Sánchez N, Gysling K, Andrés ME (2013) Nur transcription factors in stress and addiction. *Front Mol Neurosci* 6:44.
- Carroll SB (2008) Evo-devo and an expanding evolutionary synthesis: a genetic theory of morphological evolution. *Cell* 134:25-36.
- Castellanos FX (1997) Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin Pediatr* 36:381-393.
- Castells X, Ramos-Quiroga JA, Rigau D, Bosch R, Nogueira M, Vidal X, Casas M (2011) Efficacy of methylphenidate for adults with attention-deficit hyperactivity disorder: a meta-regression analysis. *CNS Drugs* 25:157-169.
- Castillo SO, Baffi JS, Palkovits M, Goldstein DS, Kopin IJ, Witta J, Magnuson MA, Nikodem VM (1998) Dopamine biosynthesis is selectively abolished in substantia nigra/ventral tegmental area but not in hypothalamic neurons in mice with targeted disruption of the *Nurr1* gene. *Mol Cell Neurosci* 11:36-46.

- Cazorla P, Smidt MP, O'Malley KL, Burbach JP (2000) A response element for the homeodomain transcription factor Pitx3 in the tyrosine hydroxylase gene promoter. *J Neurochem* 74:1829-1837.
- Chen CM, Chen IC, Chang KH, Chen YC, Lyu RK, Liu YT, Hu FJ, Chao CY, Lee-Chen GJ, Wu YR (2007) Nuclear receptor NR4A2 IVS6 +18insG and brain derived neurotrophic factor (BDNF) V66M polymorphisms and risk of Taiwanese Parkinson's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 144B:458-462.
- Cheon KA, Ryu YH, Kim JW, Cho DY (2005) The homozygosity for 10-repeat allele at dopamine transporter gene and dopamine transporter density in Korean children with attention deficit hyperactivity disorder: relating to treatment response to methylphenidate. *Eur Neuropsychopharmacol* 15:95-101.
- Chergui K, Svenningsson P, Nomikos GG, Gonon F, Fredholm BB, Svennson TH (1997) Increased expression of NGFI-A mRNA in the rat striatum following burst stimulation of the medial forebrain bundle. *Eur J Neurosci* 9:2370-2382.
- Ciliax BJ, Heilman C, Demchyshyn LL, Pristupa ZB, Ince E, Hersch SM, Niznik HB, Levey AI (1995). The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain. *J Neurosci* 15:1714-1723.
- Clements SD (1966) Minimal brain dysfunction in children: terminology and identification: phase one of a three-phase project. Washington DC: US Department of Health, Education and Welfare.

- Cook EH Jr, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE, Leventhal BL (1995) Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 56:993-998.
- Coulter CL, Happe HK, Bergman DA, Murrin LC (1995) Localization and quantification of the dopamine transporter: comparison of [3H]WIN 35,428 and [125I]RTI-55. *Brain Res* 690:217-224.
- Covey DP, Juliano SA, Garris PA (2013) Amphetamine elicits opposing actions on readily releasable and reserve pools for dopamine. *PLoS ONE* 8:e60763.
- Crocker AD (1994) Dopamine - mechanisms of action. *Australian Prescriber* 17:17-21.
- Cruz-Muros I, Afonso-Oramas D, Abreu P, Pérez-Delgado MM, Rodríguez M, González-Hernández T (2009) Aging effects on the dopamine transporter expression and compensatory mechanisms. *Neurobiol Aging* 30:973-986.
- Curatolo P, D'Agati E, Moavero R (2010) The neurobiological basis of ADHD. *Ital J Pediatr* 36:79.
- Curatolo P, Paloscia C, D'Agati E, Moavero R, Pasini A (2009) The neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. *Eur J Paediatr Neurol* 13:299-304.
- De Azeredo LA, Marquardt AR, Frazzon AP, Barros HM (2010) Cocaine reverses the changes in GABAA subunits and in glutamic acid decarboxylase isoenzymes mRNA expression induced by neonatal 6-hydroxydopamine. *Behav Pharmacol* 21:343-352.

De Graaf R, Kessler RC, Fayyad J, ten Have M, Alonso J, Angermeyer M, Borges G, Demyttenaere K, Gasquet I, de Girolamo G, Haro JM, Jin R, Karam EG, Ormel J, Posada-Villa J (2008) The prevalence and effects of adult attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) on the performance of workers: results from the WHO World Mental Health Survey Initiative. *Occup Environ Med* 65:835-842.

Da Silva N Jr, Szobot CM, Anselmi CE, Jackowski AP, Chi SM, Hoexter MQ, Anselmi OE, Pechansky F, Bressan RA, Rohde LA (2011) Attention deficit/hyperactivity disorder: is there a correlation between dopamine transporter density and cerebral blood flow? *Clin Nucl Med* 36:656-660.

Dolfini D, Zambelli F, Pavesi G, Mantovani R (2009) A perspective of promoter architecture from the CCAAT box. *Cell Cycle* 8:4127-4137.

Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ (1999) Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 354:2132-2133.

Dresel S, Krause J, Krause KH, LaFougere C, Brinkbauer K, Kung HF, Hahn K, Tatsch K (2000) Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [<sup>99m</sup>Tc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *Eur J Nucl Med* 27:1518-1524.

Eisenhofer G, Kopin IJ, Goldstein DS (2004) Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. *Pharmacol Rev* 56:331-349.

- Engert V, Pruessner JC (2008) Dopaminergic and Noradrenergic Contributions to Functionality in ADHD: The Role of Methylphenidate. *Curr Neuropharmacol* 6:322-328.
- Eriksen J, Jørgensen TN, Gether U (2010) Regulation of dopamine transporter function by protein-protein interactions: new discoveries and methodological challenges. *J Neurochem* 113:27-41.
- Eubig PA, Aguiar A, Schantz SL (2010) Lead and PCBs as risk factors for attention deficit/hyperactivity disorder. *Environ Health Perspect* 118:1654-1667.
- Faraone SV, Mick E (2010) Molecular Genetics of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Psychiatr Clin N Am* 33:159-180.
- Faraone SV, Biederman J, Mick E (2006) The age-dependent decline of attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis of follow-up studies. *Psychol Med* 36:159-165.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, Sklar P (2005) Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57:1313-1323.
- Faraone SV, Biederman J, Roe C (2002) Comparative efficacy of Adderall and methylphenidate in attention-deficit/hyperactivity disorder: a meta-analysis. *J Clin Psychopharmacol* 22:468-473.
- Findling RL (2008) Evolution of the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder in children: a review. *Clin Ther* 30:942-957.



- Fischer AG, Bau CHD, Grevet EH, Salgado CA, Victor MM, Kalil KL, Sousa NO, Garcia CR, Belmonte-de-Abreu P (2007) The role of comorbid major depressive disorder in the clinical presentation of adult ADHD. *J Psychiatr Res* 41:991-996.
- Flames N, Hobert O (2009) Gene regulatory logic of dopamine neuron differentiation. *Nature* 458:885-889.
- Fog JU, Khoshbouei H, Holy M, Owens WA, Vaegter CB, Sen N, Nikandrova Y, Bowton E, McMahon DG, Colbran RJ, Daws LC, Sitte HH, Javitch JA, Galli A, Gether U (2006) Calmodulin kinase II interacts with the dopamine transporter C terminus to regulate amphetamine-induced reverse transport. *Neuron* 51:417-429.
- Franke B, Vasquez AA, Johansson S, Hoogman M, Romanos J, Boreatti-Hümmer A, Heine M, Jacob CP, Lesch KP, Casas M, Ribasés M, Bosch R, Sánchez-Mora C, Gómez-Barros N, Fernández-Castillo N, Bayés M, Halmøy A, Helleland H, Landaas ET, Fasmer OB, Knappskog PM, Heister AJ, Kiemeny LA, Kooij JJ, Boonstra AM, Kan CC, Asherson P, Faraone SV, Buitelaar JK, Haavik J, Cormand B, Ramos-Quiroga JA, Reif A (2010) Multicenter analysis of the SLC6A3/DAT1 VNTR haplotype in persistent ADHD suggests differential involvement of the gene in childhood and persistent ADHD. *Neuropsychopharmacology* 35:656-664.
- Franke B, Hoogman M, Arias Vasquez A, Heister JG, Savelkoul PJ, Naber M, Scheffer H, Kiemeny LA, Kan CC, Kooij JJ, Buitelaar JK (2008) Association of the dopamine transporter (SLC6A3/DAT1) gene 9-6 haplotype with adult ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B:1576-1579.

- Fuke S, Minami N, Kokubo H, Yoshikawa A, Yasumatsu H, Sasagawa N, Saga Y, Tsukahara T, Ishiura S (2006) Hesr1 knockout mice exhibit behavioral alterations through the dopaminergic nervous system. *J Neurosci Res* 84:1555-1563.
- Fuke S, Sasagawa N, Ishiura S (2005) Identification and characterization of the Hesr1/Hey1 as a candidate trans-acting factor on gene expression through the 3'non coding polymorphic region of the human dopamine transporter (DAT1) gene. *J Biochem* 137:205-216.
- Galleguillos D, Fuentealba JA, Gómez LM, Saver M, Gómez A, Nash K, Burger C, Gysling K, Andrés ME (2010) Nurr1 regulates RET expression in dopamine neurons of adult rat midbrain. *J Neurochem* 114:1158-1167.
- Gaub M & Carlson CL (1997) Gender differences in ADHD: a meta-analysis and critical review. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 36:1036-1045.
- Genro JP, Kieling C, Rohde LA, Hutz MH (2010) Attention-deficit/hyperactivity disorder and the dopaminergic hypotheses. *Expert Rev Neurother* 10:587-601.
- Genro JP, Polanczyk GV, Zeni C, Oliveira AS, Roman T, Rohde LA, Hutz MH (2008) A common haplotype at the dopamine transporter gene 5' region is associated with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B:1568-1575.
- Genro JP, Zeni C, Polanczyk GV, Roman T, Rohde LA, Hutz MH (2007) A promoter polymorphism (-839 C>T) at the dopamine transporter gene is associated with attention deficit/hyperactivity disorder in Brazilian children. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 144B:215-219.

- Gervais J, Soghomonian JJ, Richard D, Rouillard C (1999) Dopamine and serotonin interactions in the modulation of the expression of the immediate-early transcription factor, nerve growth factor-inducible B, in the striatum. *Neuroscience* 91:1045-1054.
- Giguère V (1999) Orphan nuclear receptors: from gene to function. *Endocr Rev* 20:689-725.
- Gillberg C, Gillberg IC, Rasmussen P, Kadesjö B, Söderström H, Råstam M, Johnson M, Rothenberger A, Niklasson L (2004) Co-existing disorders in ADHD implications for diagnosis and intervention. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1:180-92.
- Giros B, el Mestikawy S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, Caron MG (1992) Cloning, pharmacological characterization, and chromosome assignment of the human dopamine transporter. *Mol Pharmacol* 42:383-390.
- Gizer IR, Ficks C, Waldman ID (2009) Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet* 126:51-90.
- Glazier AM, Nadeau JH, Aitman TJ (2002) Finding genes that underlie complex traits. *Science* 298:2345-2349.
- Greenwood TA, Alexander M, Keck PE, McElroy S, Sadovnick AD, Remick RA, Shaw SH, Kelsoe JR (2002) Segmental linkage disequilibrium within the dopamine transporter gene. *Mol Psychiatry* 7:165-173.

- Greenwood TA, Alexander M, Keck PE, McElroy S, Sadovnick AD, Remick RA, Kelsoe JR (2001) Evidence for linkage disequilibrium between the dopamine transporter and bipolar disorder. *Am J Med Genet* 105:145-151.
- Grevet EH; Bau CHD; Salgado CA; Fischer AG; Kalil K; Victor MM; Garcia CR; Sousa NO; Rohde LA; Belmonte-de-Abreu P (2006) Lack of gender effects on subtype outcomes in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: support for the validity of subtypes. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 256:311-319
- Hazel TG, Nathans D, Lau LF (1988) A gene inducible by serum growth factors encodes a member of the steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:8444-8448.
- Henderson AM, Wang SJ, Taylor AC, Aitkenhead M, Hughes CCW (2001) The basic helix-loop-helix transcription factor HESR1 regulates endothelial cell tube formation. *J Biol Chem* 276:6169-6176.
- Hermanson E, Joseph B, Castro D, Lindqvist E, Aarnisalo P, Wallén A, Benoit G, Hengerer B, Olson L, Perlmann T (2003) Nurr1 regulates dopamine synthesis and storage in MN9D dopamine cells. *Exp Cell Res* 288:324-334.
- Hesse S, Ballaschke O, Barthel H, Sabri O (2009) Dopamine transporter imaging in adult patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatry Res* 171:120-128.
- Hoffmann H (1948). *English Struwelpeter*. Methuen & Co. London.

- Ishiguro H, Okubo Y, Ohtsuki T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T (2002) Mutation analysis of the retinoid X receptor beta, nuclear-related receptor 1, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha genes in schizophrenia and alcohol dependence: possible haplotype association of nuclear-related receptor 1 gene to alcohol dependence. *Am J Med Genet* 114:15-23.
- Jacobs FM, van der Linden AJ, Wang Y, von Oerthel L, Sul HS, Burbach JP, Smidt MP (2009) Identification of *Dlk1*, *Ptpru* and *Klhl1* as novel *Nurr1* target genes in meso-diencephalic dopamine neurons. *Development* 136:2363-2373.
- Jucaite A, Fernell E, Halldin C, Forssberg H, Farde L (2005) Reduced midbrain dopamine transporter binding in male adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder: association between striatal dopamine markers and motor hyperactivity. *Biol Psychiatry* 57:229-238.
- Kadkhodaei B, Ito T, Joodmardi E, Mattsson B, Rouillard C, Carta M, Muramatsu S, Sumi-Ichinose C, Nomura T, Metzger D, Chambon P, Lindqvist E, Larsson NG, Olson L, Björklund A, Ichinose H, Perlmann T (2009) *Nurr1* is required for maintenance of maturing and adult midbrain dopamine neurons. *J. Neurosci* 29:15923-15932.
- Kang AM, Palmatier MA, Kidd KK (1999) Global variation of a 40-bp VNTR in the 3'-untranslated region of the dopamine transporter gene (*SLC6A3*). *Biol Psychiatry* 46:151-160.

- Kanno K, Ishiura S (2011) Differential effects of the HESR/HEY transcription factor family on dopamine transporter reporter gene expression via variable number of tandem repeats. *J Neurosci Res* 89:562-575.
- Kaplan G, Newcorn JH (2011) Pharmacotherapy for child and adolescent attention-deficit hyperactivity disorder. *Pediatr Clin North Am* 58:99-120.
- Kelada SN, Costa-Mallen P, Checkoway H, Carlson CS, Weller TS, Swanson PD, Franklin GM, Longstreth WT Jr, Afsharinejad Z, Costa LG (2005) Dopamine transporter (SLC6A3) 5' region haplotypes significantly affect transcriptional activity in vitro but are not associated with Parkinson's disease. *Pharmacogenet Genomics* 15:659-668.
- Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Merikangas KR e Walters EE (2005) Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62:617-627.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush AJ, Walters EE e Wang PS (2003) The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 289:3095-3105.
- Kieling R, Rohde LA (2012) ADHD in children and adults: diagnosis and prognosis. *Curr Top Behav Neurosci* 9:1-16.
- Knight JC (2005) Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. *J Mol Med (Berl)* 83:97-109.

- Koesters M, Becker T, Kilian R, Fegert JM, Weinmann S (2009) Limits of meta-analysis: methylphenidate in the treatment of adult attention-deficit hyperactivity disorder. *J Psychopharmacol* 23:733-744.
- Kooij JS, Boonstra AM, Vermeulen SH, Heister AG, Burger H, Buitelaar JK, Franke B (2008) Response to methylphenidate in adults with ADHD is associated with a polymorphism in SLC6A3 (DAT1). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 147B:201-208.
- Kokubo H, Lun Y, Johnson RL (1999) Identification and expression of a novel family of bHLH cDNAs related to *Drosophila* hairy and enhancer of split. *Biochem Biophys Res Commun* 260:459-465.
- Konrad K, Eickhoff SB (2010) Is the ADHD Brain Wired Differently? A Review on Structural and Functional Connectivity in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Human Brain Mapping* 31:904-916.
- Krain AL, Castellanos FX (2006) Brain development and ADHD. *Clin Psychol Rev* 26:433-444.
- Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K (2000) Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett* 285:107-110.
- Langley K, Langley K, Rice F, van den Bree MB, Thapar A (2005) Maternal smoking during pregnancy as an environmental risk factor for attention deficit hyperactivity disorder behaviour. A review. *Minerva Pediatr* 57:359-371.

- Langlois MC, Beaudry G, Zekki H, Rouillard C, Lévesque D (2001) Impact of antipsychotic drug administration on the expression of nuclear receptors in the neocortex and striatum of the rat brain. *Neuroscience* 106:117-128.
- Lara C, Fayyad J, de Graaf R, Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Angermeyer M, Demyttenaere K, de Girolamo G, Haro JM, Jin R, Karam EG, Lépine JP, Mora ME, Ormel J, Posada-Villa J, Sampson N (2009) Childhood predictors of adult attention-deficit/hyperactivity disorder: results from the World Health Organization World Mental Health Survey Initiative. *Biol Psychiatry* 65:46-54.
- Larisch R, Sitte W, Antke C, Nikolaus S, Franz M, Tress W, Müller HW (2006) Striatal dopamine transporter density in drug naive patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Nucl Med Commun* 27:267-270.
- Lasky-Su J, Anney RJ, Neale BM, Franke B, Zhou K, Maller JB, Vasquez AA, Chen W, Asherson P, Buitelaar J, Banaschewski T, Ebstein R, Gill M, Miranda A, Mulas F, Oades RD, Roeyers H, Rothenberger A, Sergeant J, Sonuga-Barke E, Steinhausen HC, Taylor E, Daly M, Laird N, Lange C, Faraone SV (2008) Genome-wide association scan of the time to onset of attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 147B:1355-1358.
- Law SW, Conneely OM, DeMayo FJ, O'Malley BW (1992) Identification of a new brain-specific transcription factor, NURR1. *Mol Endocrinol* 6:2129-2135.



- Lee FJ, Pei L, Moszczynska A, Vukusic B, Fletcher PJ, Liu F (2007) Dopamine transporter cell surface localization facilitated by a direct interaction with the dopamine D2 receptor. *EMBO J* 26:2127-2136.
- Le Moal M, Simon H (1991) Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiol Rev* 71:155-234.
- Leimeister C, Externbrink A, Klamt B, Gessler M (1999) Hey genes: a novel subfamily of hairy- and Enhancer of split related genes specifically expressed during mouse embryogenesis. *Mech Dev* 85:173-177.
- Levecque C, Destée A, Mouroux V, Amouyel P, Chartier-Harlin MC (2004) Assessment of Nurr1 nucleotide variations in familial Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 366:135-138.
- Levy F (1991) The dopamine theory of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) *Aust N Z J Psychiatry* 25:277-283.
- Madras BK, Miller GM, Fischman AJ (2005) The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57:13971-13409.
- Makris N, Biederman J, Monuteaux MC, Seidman LJ (2009) Towards conceptualizing a neural systems-based anatomy of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Dev Neurosci* 31:36-49.
- Mannuzza S, Klein RG, Moulton JL (2003) Persistence of attention-deficit/hyperactivity disorder into adulthood: what have we learned from the prospective follow-up studies? *J Attent Disor* 7:93-100.

- Mattick JS, Taft RJ, Faulkner GJ (2010) A global view of genomic information--moving beyond the gene and the master regulator. *Trends Genet* 26:21-28.
- Mattick JS (2009) The genetic signatures of noncoding RNAs. *PLoS Genet* 5:e1000459.
- McGough JJ, Smalley SL, McCracken JT, Yang M, Del'homme M, Lynn DE, Loo S (2005) Psychiatric comorbidity in adult attention deficit hyperactivity disorder: findings from multiplex families. *Am J Psychiatry* 162:1621-1627.
- Mehler MF, Mattick JS (2007) Noncoding RNAs and RNA editing in brain development, functional diversification, and neurological disease. *Physiol Rev* 87:799-823.
- Mick E, Todorov A, Smalley S, Hu X, Loo S, Todd RD, Biederman J, Byrne D, Dechairo B, Guiney A, McCracken J, McGough J, Nelson SF, Reiersen AM, Wilens TE, Wozniak J, Neale BM, Faraone SV (2010) Family-based genome-wide association scan of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 49:898-905.
- Mick E, Faraone SV (2008) Genetics of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Child Adolesc Psychiatric Clin N Am* 17:261-284.
- Mick E, Biederman J, Spencer T, Faraone SV, Sklar P (2006) Absence of association with DAT1 polymorphism and response to methylphenidate in a sample of adults with ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 141B:890-894.
- Milbrandt J (1988) Nerve growth factor induces a gene homologous to the glucocorticoid receptor gene. *Neuron* 1:183-188.

- Moura HF, Faller S, Benzano D, Szobot C, von Diemen L, Stolf AR, Souza-Formigoni ML, Cruz MS, Brasiliano S, Pechansky F, Kessler FH (2013) The effects of ADHD in adult substance abusers. *J Addict Dis* 32:252-262.
- Nakagawa O, Nakagawa M, Richardson JA, Olson EN, Srivastava D (1999) HRT1, HRT2, and HRT3: a new subclass of bHLH transcription factors marking specific cardiac, somitic, and pharyngeal arch segments. *Dev Biol* 216:72-84.
- Nelson DL, Cox MM (2004) *Lehninger Principles of Biochemistry* (5<sup>th</sup> ed.). New York, W.H. Freeman.
- Newcorn JH (2008) Co-morbidity in adults with ADHD. *CNS Spectr* 13:12-15.
- Neale BM, Lasky-Su J, Anney R, Franke B, Zhou K, Maller JB, Vasquez AA, Asherson P, Chen W, Banaschewski T, Buitelaar J, Ebstein R, Gill M, Miranda A, Oades RD, Roeyers H, Rothenberger A, Sergeant J, Steinhausen HC, Sonuga-Barke E, Mulas F, Taylor E, Laird N, Lange C, Daly M, Faraone SV (2008) Genome-wide association scan of attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 2008; 147B:1337-1344.
- Nielsen DA, Ji F, Yuferov V, Ho A, Chen A, Levran O, Ott J, Kreek MJ (2008) Genotype patterns that contribute to increased risk for or protection from developing heroin addiction. *Mol Psychiatry* 13:417-428.
- Ohkura N, Ito M, Tsukada T, Sasaki K, Yamaguchi K, Miki K (1996) Structure, mapping and expression of a human NOR-1 gene, the third member of the Nur77/NGFI-B family. *Biochim Biophys Acta* 1308:205-214.

- Ojeda V, Fuentealba JA, Galleguillos D, Andrés ME (2003) Rapid increase of Nurr1 expression in the substantia nigra after 6-hydroxydopamine lesion in the striatum of the rat. *J Neurosci Res* 73:686-697.
- Pliszka SR (2007) Pharmacologic treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder: efficacy, safety and mechanisms of action. *Neuropsychol Rev* 17:61-72.
- Pliszka SR, Crismon ML, Hughes CW, Corners CK, Emslie GJ, Jensen PS, McCracken JT, Swanson JM, Lopez M (2006) Texas Children's Medication Algorithm Project: Revision of the algorithm for pharmacotherapy of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 45:642-657.
- Pliszka S, Dodson WW, Spencer TJ (2000) Current treatments of attention-deficit/hyperactivity disorder. *CNS Spectr* 5:S1-S7.
- Poelmans G, Pauls DL, Buitelaar JK, Franke B (2011) Integrated genome-wide association study findings: identification of a neurodevelopmental network for attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 168:365-377.
- Polanczyk GV, Willcutt EG, Salum GA, Kieling C, Rohde LA (2014) ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis. *Int J Epidemiol* [Epub ahead of print].
- Polanczyk G, Bigarella MP, Hutz MH, Rohde LA (2010) Pharmacogenetic approach for a better drug treatment in children. *Curr Pharm Des* 16:2462-2473.

- Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA (2007) The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 164:942-948.
- Purper-Ouakil D, Ramoz N, Lepagnol-Bestel AM, Gorwood P, Simonneau M (2011) Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. *Pediatr Res* 69:69R-76R.
- Purper-Ouakil D, Lepagnol-Bestel AM, Grosbellet E, Gorwood P, Simonneau M (2010) Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. *Med Sci* 26:487-496.
- Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF (2010) Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. *Brain Res* 1338:20-35.
- Robbins TW, Arnsten AF (2009) The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annu Rev Neurosci* 32:267-287.
- Rockman MV1, Wray GA (2002) Abundant raw material for cis-regulatory evolution in humans. *Mol Biol Evol* 19:1991-2004.
- Rohde LA, Szobot C, Polanczyk G, Schmitz M, Martins S, Tramontina S (2005) Attention-deficit/hyperactivity disorder in a diverse culture: Do research and clinical findings support the notion of a cultural construct for the disorder? *Biol Psychiatry* 57:1436-1441.
- Rohde LA, Halpern R (2004) Recent advances on attention deficit/hyperactivity disorder. *J Pediatr* 80:S61-70.
- Rohde LA, Biederman J, Busnello EA, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S, Tramontina S (1999) ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: a study

of prevalence, comorbid conditions, and impairments. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 38:716-722.

Ross DM, Ross SA (1976) *Hyperactivity: research, theory and action*. New York: Wiley.

Rothenberger A, Neumärker KJ (2005) *Wissenschaftsgeschichte der ADHS*. Steinkopff, Darmstadt: Kramer-Pollnow im Spiegel der Zeit.

Rubie C, Schmidt F, Knapp M, Sprandel J, Wiegand C, Meyer J, Jungkunz G, Riederer P, Stober G (2001) The human dopamine transporter gene: the 5'-flanking region reveals five diallelic polymorphic sites in a Caucasian population sample. *Neurosci Lett* 297:125-128.

Russell VA (2007) Neurobiology of animal models of attention-deficit hyperactivity disorder. *J Neurosci Methods* 161:185-198.

Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, Chase GA, Konvicka K, Madden PA, Breslau N, Johnson EO, Hatsukami D, Pomerleau O, Swan GE, Goate AM, Rutter J, Bertelsen S, Fox L, Fugman D, Martin NG, Montgomery GW, Wang JC, Ballinger DG, Rice JP, Bierut LJ (2007) Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet* 16:36-49.

Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ (2001) Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 76:1565-1572.

- Sagvolden T, Johansen EB, Aase H, Russell VA (2005) A dynamic developmental theory of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) predominantly hyperactive/impulsive and combined subtypes. *Behav Brain Sci* 28:397-419.
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH (1999) Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017-4026.
- Satterfield JH, Dawson ME (1971) Electrodermal correlates of hyperactivity in children. *Psychophysiology* 8:191-197.
- Saucedo-Cardenas O, Quintana-Hau JD, Le WD, Smidt MP, Cox JJ, De Mayo F, Burbach JP, Conneely OM (1998) Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:4013-4018.
- Schultz W (2007b) Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci* 30:203-210.
- Seeman P, Madras B (2002) Methylphenidate elevates resting dopamine which lowers the impulse-triggered release of dopamine: a hypothesis. *Behavioural Brain Research* 130:79-83.
- Shumay E, Chen J, Fowler JS, Volkow ND (2011) Genotype and ancestry modulate brain's DAT availability in healthy humans. *PLoS One* 6:e22754.

- Shumay E, Fowler JS, Volkow ND (2010) Genomic features of the human dopamine transporter gene and its potential epigenetic States: implications for phenotypic diversity. *PLoS One* 5:e11067.
- Simon V, Czobor P, Bálint S, Mészáros A, Bitter I (2009) Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. *British Journal of Psychiatry* 194:204-211.
- Smidt MP, van Schaick HS, Lanctôt C, Tremblay JJ, Cox JJ, van der Kleij AA, Wolterink G, Drouin J, Burbach JP (1997) A homeodomain gene Pitx3 has highly restricted brain expression in mesencephalic dopaminergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:13305-13310.
- Smith KM, Bauer L, Fischer M, Barkley R, Navia BA (2005) Identification and characterization of human NR4A2 polymorphisms in attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 133B:57-63.
- Sonuga-Barke EJ (2005) Causal models of attention-deficit/hyperactivity disorder: from common simple deficits to multiple developmental pathways. *Biol Psychiatry* 57:1231-1238.
- Sonuga-Barke EJ (2003) The dual pathway model of AD/HD: an elaboration of neurodevelopmental characteristics. *Neurosci Biobehav Rev* 27:593-604.
- Spencer TJ (2008) Neurobiology and Genetics of ADHD in Adults. *CNS Spectr* 13:5-7.



- Spencer TJ, Biederman J, Mick E (2007) Attention-deficit/hyperactivity disorder: diagnosis, lifespan, comorbidities, and neurobiology. *J Pediatr Psychol* 32:631-642.
- Stergiakouli E, Thapar A (2010) Fitting the pieces together: current research on the genetic basis of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Neuropsychiatr Dis Treat* 6:551-560.
- St-Hilaire M, Landry E, Lévesque D, Rouillard C (2003) Denervation and repeated L-DOPA induce a coordinate expression of the transcription factor NGFI-B in striatal projection pathways in hemi-parkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 14:98-109.
- Still GF (1902) Some abnormal psychological conditions in children: the Goulstonian lectures. *Lancet* 1:1008-1012.
- Sulzer D, Sonders MS, Poulsen NW, Galli A (2005) Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review. *Prog Neurobiol* 75: 406-433.
- Sutherland KR (2010) Altered reinforcement sensitivity and dopamine transporter function in an animal model of Attention-deficit/hyperactivity disorder [thesis]. Philosophy: University of Otago, Dunedin, New Zealand.
- Swanson JM, Kinsbourne M, Nigg J, Lanphear B, Stefanatos GA, Volkow N, Taylor E, Casey BJ, Castellanos FX, Wadhwa PD (2007) Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: brain imaging, molecular genetic and environmental factors and the dopamine hypothesis. *Neuropsychol Rev* 17:39-59.

- Szobot CM, Bukstein O (2008) Attention deficit hyperactivity disorder and substance use disorders. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 17:309-323.
- Tan EK, Chung H, Zhao Y, Shen H, Chandran VR, Tan C, Teoh ML, Yih Y, Pavanni R, Wong MC (2003) Genetic analysis of Nurr1 haplotypes in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 347:139-142.
- Thapar A, Holmes J, Poulton K, Harrington R (1999) Genetic bases of attention-deficit and hyperactivity. *Br J Psychiatry* 174:105-111.
- Tredgold CH (1908). *Mental deficiency*. New York: Wood.
- Tripp G, Wickens JR (2009) Neurobiology of ADHD. *Neuropharmacology* 57:579-589.
- Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Fisone G, Girault JA (2009) Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci* 32:538-547.
- Van de Giessen E, de Win MM, Tanck MW, van den Brink W, Baas F, Booij J (2009) Striatal dopamine transporter availability associated with polymorphisms in the dopamine transporter gene SLC6A3. *J Nucl Med* 50:45-52.
- Van Dyck CH, Quinlan DM, Cretella LM, Staley JK, Malison RT, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB (2002) Unaltered dopamine transporter availability in adult attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry* 159:309-312.
- Vandenbergh DJ, Persico AM, Hawkins AL, Griffin CA, Li X, Jabs EW, Uhl GR (1992) Human dopamine transporter gene (DAT1) maps to chromosome 5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics* 14:1104-1106.

- Volkow ND, Wang GJ, Kollins SH, Wigal TL, Newcorn JH, Telang F, Fowler JS, Zhu W, Logan J, Ma Y, Pradhan K, Wong C, Swanson JM (2009). Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *JAMA* 302:1084-1091.
- Volkow ND, Wang GJ, Newcorn J, Fowler JS, Telang F, Solanto MV, Logan J, Wong C, Ma Y, Swanson JM, Schulz K, Pradhan K (2007) Brain dopamine transporter levels in treatment and drug naïve adults with ADHD. *Neuroimage* 34:1182-1190.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Ding YS (2005) Imaging the effects of methylphenidate on brain dopamine: new model on its therapeutic actions for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57:1410-1415.
- Volz TJ, Farnsworth SJ, Hanson GR, Fleckenstein AE (2008) Methylphenidate-induced alterations in synaptic vesicle trafficking and activity. *Ann N Y Acad Sci* 1139:285-290.
- Wang J, Bannon MJ (2005) Sp1 and Sp3 activate transcription of the human dopamine transporter gene. *J Neurochem* 93:474-482.
- Wender PH, Epstein RS, Kopin IJ, Gordon EK (1971) Urinary monoamine metabolites in children with minimal brain dysfunction. *Am J Psychiatry* 127:1411-1415.
- Werme M, Olson L, Brené S (2000) NGFI-B and nor1 mRNAs are upregulated in brain reward pathways by drugs of abuse: different effects in Fischer and Lewis rats. *Brain Res Mol Brain Res* 76:18-24.

- Wilens TE, Spencer TJ (2010) Understanding attention-deficit/hyperactivity disorder from childhood to adulthood. *Postgrad Med* 122:97-109.
- Wilens TE, Dodson W (2004) A clinical perspective of attention-deficit/hyperactivity disorder into adulthood. *J Clin Psychiatry* 65:1301-1313.
- World Health Organization (1992) *Classification of Mental and Behavioral Disorders*. Geneva: World Health Organization.
- Xiao Q, Castillo SO, Nikodem VM (1996) Distribution of messenger RNAs for the orphan nuclear receptors Nurr1 and Nur77 (NGFI-B) in adult rat brain using in situ hybridization. *Neuroscience* 75:221-230.
- Zahniser NR, Sorkin A (2004) Rapid regulation of the dopamine transporter: role in stimulant addiction? *Neuropharmacology* 47:80-91.
- Zetterström RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T (1997) Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 276:248-250.
- Zetterström RH, Williams R, Perlmann T, Olson L (1996a) Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res Mol Brain Res* 41:111-120.

**ANEXOS**

---

## Anexo #1 – Critérios Diagnósticos do DSM-IV para o TDAH

### Critérios diagnósticos do DSM-IV para transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (APA, 1994)

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

(1) Seis ou mais dos seguintes sintomas de desatenção persistiram pelo período mínimo de 6 meses, em grau mal adaptativo e inconsistente com o nível de desenvolvimento:

##### Desatenção:

- (a) Frequentemente não presta atenção a detalhes ou comete erros por omissão em atividades escolares, de trabalho ou outros
- (b) Frequentemente tem dificuldades de manter a atenção em tarefas ou atividades lúdicas
- (c) Frequentemente parece não ouvir quando lhe dirigem a palavra
- (d) Frequentemente não segue instruções e não termina seus deveres escolares, tarefas domésticas ou deveres profissionais (não é devido a comportamentopositor ou incapacidade de entender as instruções).
- (e) Frequentemente tem dificuldades para organizar tarefas e atividades
- (f) Frequentemente evita, reluta, detesta se envolver em tarefas que exijam esforço mental contínuo (como tarefas escolares ou deveres de casa)
- (g) Frequentemente perde coisas necessárias para tarefas ou atividades (p. ex., brinquedos, tarefas escolares, lápis, livros ou outros materiais)
- (h) Frequentemente é distraído por estímulos ambientais alheios à tarefa
- (i) Frequentemente é esquecido em atividades diárias

(2) Seis ou mais dos seguintes sintomas de Hiperatividade persistiram pelo período mínimo de 6 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 em situações nas quais se espera que permaneça sentado
- (c) Frequentemente corre ou escala em demasia em situações impróprias (em adolescentes ou adultos pode ser apenas sensações subjetivas de inquietude)
- (d) Frequentemente tem dificuldades de brincar ou se envolver silenciosamente em atividades de lazer
- (e) Frequentemente está "a mil" ou muitas vezes age como se estivesse "a todo vapor"
- (f) Frequentemente fala em demasia

##### Impulsividade

- (g) Frequentemente dá respostas precipitadas antes das perguntas terem sido completamente formuladas
- (h) Frequentemente tem dificuldades de esperar a sua vez
- (i) Frequentemente interrompe ou se intromete em assuntos alheios (p.ex., em conversas ou brincadeiras)

B. Alguns sintomas de hiperatividade/impulsividade ou desatenção causadores de comprometimento estavam presentes antes dos sete anos de idade.

C. Algum comprometimento causado pelos sintomas está presente em dois ou mais contextos (p.ex., na escola e em casa).

D. Deve haver claras evidências de comprometimento clinicamente importante no funcionamento social, acadêmico ou oposicional.

E. Os sintomas não ocorrem exclusivamente durante o curso de um transtorno global do desenvolvimento, esquizofrenia ou outro transtorno

psicótico, nem são melhor explicados por outro transtorno mental (p.ex., transtorno do humor, transtorno de ansiedade, transtorno dissociativo ou transtorno de personalidade).

#### Codificar com base no tipo:

**314.00 Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, tipo combinado:** se tanto o critério A1 quanto o critério A2 são satisfeitos durante os últimos seis meses.

**314.01 Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, tipo predominantemente desatento:** se o critério A1 é satisfeito, mas o critério A2 não é satisfeito durante os últimos seis meses

**314.02 Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, tipo predominantemente hiperativo/impulsivo:** se o critério A2 é satisfeito, mas o critério A1 não é satisfeito durante os últimos seis meses.

**Nota para codificação:** Para indivíduos (em especial adolescentes e adultos) que atualmente apresentam sintomas que não mais

Satisfazem todos os critérios, especificar "em remissão parcial".

## Anexo #2 – Critérios Diagnósticos do CID-10 para o Transtorno Hiperkinético

---

### F 90 - TRANSTORNOS HIPERCINÉTICOS (WHO, 1992)

**Nota:** O diagnóstico para pesquisa de transtorno hiperkinético exige a presença inquestionável de níveis anormais de desatenção, hiperatividade e inquietação, que são invasivas nas situações, persistentes ao longo do tempo e não causadas por outros transtornos, como autismo e transtornos afetivos.

---

**G1.** Desatenção. Pelo menos seis dos seguintes sintomas de desatenção têm persistido por pelo menos seis meses, em um grau que é mal-adaptativo e inconsistente com o nível evolutivo da criança:

- (1) com frequência falha em prestar atenção em detalhes ou comete erros por descuido em trabalhos escolares, atividades laborais ou outras;
- (2) com frequência falha em manter a atenção em tarefas ou atividades lúdicas
- (3) com frequência parece não ouvir o que lhe está sendo dito;
- (4) com frequência falha em seguir instruções a termo ou em concluir trabalhos escolares, afazeres ou obrigações no local de trabalho (não decorrente de oposição nem de falha em entender instruções);
- (5) tem, com frequência, comprometimento na organização de tarefas e atividades;
- (6) com frequência evita ou desgosta intensamente de tarefas tais como deveres escolares, que exigem manutenção de esforço mental;
- (7) com frequência perde coisas necessárias para certas tarefas ou atividades, tais como anotações escolares, lápis, livros, brinquedos ou ferramentas;
- (8) é, com frequência, facilmente distraído por estímulos externos; com frequência se esquece de coisas no curso das atividades diárias.

**G2.** Hiperatividade. Pelo menos três dos seguintes sintomas de hiperatividade têm persistido por pelo menos seis meses, em um grau que é mal-adaptativo e inconsistente como nível evolutivo da criança:

- (1) com frequência mexe desassossegadamente as mãos ou os pés ou se contorce no assento;
- (2) levanta do lugar na sala de aula ou em outras situações nas quais é esperado que permaneça sentado;
- (3) com frequência corre excessivamente de lá para cá ou sobe nos objetos em situações nas quais isso é inapropriado (em adolescentes ou adultos, apenas sentimentos de inquietação podem estar presentes);
- (4) é com frequência indevidamente barulhento em brincadeiras ou tem dificuldade de se ocupar tranquilamente em atividades de lazer;
- (5) exibe um padrão persistente de atividade motora excessiva que não é substancialmente modificado por contexto ou demandas sociais.

**G3.** Impulsividade. Pelo menos um dos seguintes sintomas de impulsividade tem persistido por pelo menos seis meses, em um grau que é mal-adaptativo e inconsistente com o nível evolutivo da criança:

- (1) com frequência responde sem pensar, antes que as questões tenham sido completadas;
- (2) com frequência falha em esperar em ordem ou aguardar sua vez em jogos ou situações de grupo;
- (3) com frequência interrompe ou se impõe aos outros (por ex., intromete-se nas conversas ou jogos alheios);
- (4) com frequência fala excessivamente sem o devido respeito às restrições sociais.

**G4.** O início do transtorno não ultrapassa a idade de 7 anos.

**G5.** Invasividade. Os critérios devem ser satisfeitos para mais do que uma situação isolada. Por exemplo, a combinação de desatenção e hiperatividade devem estar presentes tanto em casa quanto na escola quanto em um outro ambiente onde a criança seja observada, tal como uma clínica. Evidências de comprometimento de várias situações exigirão normalmente informações de mais de uma fonte; relatos dos pais a respeito do comportamento na sala de aula, por exemplo, provavelmente não serão suficientes.

**G6.** Os sintomas de G1-G3 causam angústia clinicamente significativa ou comprometimento no funcionamento social, escolar ou ocupacional.

**G7.** O transtorno não satisfaz os critérios para transtornos invasivos do desenvolvimento (F84.-), episódio maníaco (F30.-), episódio depressivo (F32.-) ou transtornos ansiosos (F41.-).

---

**TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO**

**Informação sobre o Estudo com Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade em Adultos (TDAH)**

**Prezado(a) Senhor(a):**

Somos um grupo de pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e pretendemos estudar a relação entre **Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade no Adulto** (identificado com a sigla **TDAH**) e suas características genéticas. Este é um transtorno freqüente em adultos, acometendo cerca de 3 em cada 100 pessoas. O TDAH tende a prejudicar o rendimento e o progresso da pessoa em diferentes áreas da vida, como trabalho e relacionamento social, mas raramente é visto como transtorno (em geral as pessoas acham que é falta de força de vontade, de caráter, etc.). É um problema que com freqüência também se associa a outros, como uso de drogas e álcool ou alterações cíclicas de humor (altos e baixos, também descritos como Transtorno Bipolar de Humor). Existe uma impressão de que o tipo de maior complicação, que é o com Hiperatividade, tenha bases genéticas diferentes daquele que tem somente Desatenção.

As pessoas selecionadas para o estudo serão submetidas a uma avaliação psiquiátrica que será mantida sob sigilo absoluto. Se houver um diagnóstico psiquiátrico (Síndrome Psiquiátrica) esse será comunicado ao paciente. Esforços serão feitos no sentido de orientá-lo e encaminhá-lo para o tratamento adequado, dentro dos recursos do HCPA e da comunidade. O aconselhamento genético, quando necessário, será oferecido pela equipe sob supervisão do geneticista membro da Equipe Professor Dr. Claiton Henrique Dotto Bau.

Caso o paciente preencha os critérios para o diagnóstico de TDAH, será coletada 1 (uma) amostra de 10 mililitros (ml) de sangue no Laboratório do HCPA. Esta amostra será utilizada para a separação do material genético nela contido na forma de Ácido Desoxirribonucleico, conhecido como DNA, ou ADN. A partir deste material extraído, serão estudadas mutações que fazem que seu portador possua um funcionamento mental alterado. O material coletado será guardado no Laboratório de Biologia Molecular do Professor Claiton Bau, no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, de uma forma especial sem descrição de nome, e com um número de código com chave de conhecimento exclusivo dos pesquisadores, para estudos posteriores de associação de outros genes como subtipos especiais desta doença. Quaisquer novos estudos serão submetidos previamente à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa.

Em caso de qualquer dúvida, os pacientes são orientados a entrar em contato com o pesquisador Responsável, Dr. Paulo S. Belmonte de Abreu (fones 3316-8413 e 9191-1644) ou os executores deste trabalho, Dr. Eugênio Horacio Grevet (fone 3333-3734) e Dr. Carlos Alberto Iglesias Salgado (fone 3330-7818). Uma Cópia do Consentimento Informado ficará com o paciente.

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_.

Eu, \_\_\_\_\_ recebi as orientações necessárias para entender o presente estudo, assim como li a Informação do mesmo.

\_\_\_\_\_  
Paciente

\_\_\_\_\_  
Responsável

\_\_\_\_\_  
Pesquisador





**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**  
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

**RESOLUÇÃO**

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institucional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 01-321

**Versão do Projeto:** 22/01/2002

**Versão do TCLE:** 22/01/2002

**Pesquisadores:**

PAULO SILVA BELMONTE DE ABREU

CLAITON H. O. BAU

EUGENIO GREVET

CARLOS ALBERTO IGLESIAS SALGADO

BETINA CHAIT

**Título:** ESTUDO DAS BASES MOLECULARES DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS

Este projeto foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, inclusive quanto ao seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os membros do CEP/HCPA não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.

Por pertencer a uma área temática especial este projeto somente poderá ser iniciado após a sua aprovação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Porto Alegre, 25 de janeiro de 2002.

Profa. Themis Reverbel da Silveira  
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

Voluntário n.º

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**Informação sobre o estudo do transtorno de déficit de atenção e**  
**hiperatividade em adultos (TDAH)**

Prezado(a) Senhor(a):

Somos um grupo de pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) que estuda o **transtorno de déficit de atenção e hiperatividade no adulto**. Populamente, este transtorno costuma ser chamado de **Déficit de Atenção**. Este é um transtorno freqüente nos adultos, que acomete cerca de 8 milhões de brasileiros. Pessoas com **Déficit de Atenção** apresentam prejuízos no rendimento em diferentes áreas da vida como nos estudos, no trabalho e no convívio familiar e social.

No momento, estamos interessados em estudar pessoas que **NÃO** apresentem **Déficit de Atenção**. Por isso, estamos lhe convidando para participar de uma avaliação psiquiátrica, como voluntário, para saber se você apresenta ou não **Déficit de Atenção**.

Se você apresentar o diagnóstico de **Déficit de Atenção**, poderá optar por ser atendido(a) em nosso ambulatório gratuitamente.

Se você **NÃO** apresentar **Déficit de Atenção**, uma entrevista psiquiátrica completa lhe será oferecida para o levantamento de outros problemas psiquiátricos.

Se você apresentar qualquer outro **problema emocional** faremos o esforço possível no sentido de orientá-lo e encaminhá-lo para o tratamento adequado e compatível com sua situação financeira, dentro dos recursos da comunidade.

Esta avaliação será mantida sob absoluto sigilo.

No momento que você estiver doando sangue, será coletada 01 (uma) amostra de 10 mililitros (Kessler et al.) para nosso estudo. Esta amostra de sangue será utilizada **EXCLUSIVAMENTE** para a avaliação de alguns genes relacionados ao transtorno.

O material extraído e os dados coletados na entrevista serão utilizados para fazer comparações entre pessoas que tem **Déficit de Atenção** e pessoas que não tem o transtorno.

O sangue será guardado no Departamento de Genética da UFRGS aos cuidados do professor Dr. Claiton Henrique Dotto Bau.

Este material será guardado de uma forma especial sem descrição de nome. Apenas com um número de código de conhecimento exclusivo dos pesquisadores.

Se este material vier a ser usado em pesquisas científicas posteriores, você será consultado para saber se aceita ou não que isto seja feito. Quaisquer novos estudos serão submetidos previamente à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas.

Em caso de qualquer dúvida, ou desejo de que seu sangue seja retirado de nosso estudo, você pode entrar em contato pelo telefone com os pesquisadores responsáveis:

Dr. Claiton Henrique Dotto Bau (3308-8718)

Dr. Paulo Belmonte-de-Abreu (3348-2977)

Dr. Eugenio Horacio Grevet (3321-2347 e 9987-7602)

Dr. Eduardo Vitola (3594-1153 e 91056254)

Porto Alegre, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.

Eu, \_\_\_\_\_ recebi as orientações necessárias para entender o presente estudo, assim como li a Informação do mesmo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

Obs: Uma via deste documento ficará com você e outra com a equipe de pesquisa.



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**  
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

**RESOLUÇÃO**

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB0000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 01-321

Pesquisador Responsável:
PAULO SILVA BELMONTE DE ABREU


**Título:** ESTUDO DAS BASES MOLECULARES DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE EM ADULTOS

**Data da Versão:**  
28/12/2007

**TCLE GRUPO CONTROLE**

Este documento referente ao projeto acima foi Aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 02 de janeiro de 2008.

  
Prof. Nadine Clausell  
Coordenadora do GPPG e CEP-HCPA

Polina ER, Rovaris DL, **de Azeredo LA**, Mota NR, Vitola ES, Silva KL, Guimarães-da-Silva PO, Picon FA, Belmonte-de-Abreu P, Rohde LA, Grevet EH, Bau CH (2013) ADHD Diagnosis May Influence the Association between Polymorphisms in Nicotinic Acetylcholine Receptor Genes and Tobacco Smoking. *Neuromolecular Med* [Epub ahead of print].

Rovaris DL, Mota NR, **de Azeredo LA**, Cupertino RB, Bertuzzi GP, Polina ER, Contini V, Kortmann GL, Vitola ES, Grevet EH, Grassi-Oliveira R, Callegari-Jacques SM, Bau CH (2013) MR and GR functional SNPs may modulate tobacco smoking susceptibility. *J Neural Transm* 120:1499-1505.

Nin MS, Ferri MK, Couto-Pereira NS, Souza MF, **de Azeredo LA**, Agnes G, Gomez R, Barros HM (2012) The effect of intra-nucleus accumbens administration of allopregnanolone on  $\delta$  and  $\gamma 2$  GABA(A) receptor subunit mRNA expression in the hippocampus and on depressive-like and grooming behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 103:359-366.

Nin MS, Couto-Pereira NS, Souza MF, **de Azeredo LA**, Ferri MK, Dalprá WL, Gomez R, Barros HM (2012) Anxiolytic effect of clonazepam in female rats: grooming microstructure and elevated plus maze tests. *Eur J Pharmacol* 684:95-101.

**de Azeredo LA**, Marquardt AR, Frazzon AP, Barros HM (2010) Cocaine reverses the changes in GABAA subunits and in glutamic acid decarboxylase isoenzymes mRNA expression induced by neonatal 6-hydroxydopamine. *Behav Pharmacol* 21:343-352.