

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria

Dissertação de Mestrado

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTA CLÍNICA E EVENTOS  
ADVERSOS AO METILFENIDATO E GENES DOPAMINÉRGICOS E  
SEROTONINÉRGICOS EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM  
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE**

Cristian Patrick Zeni

Orientador: Prof. Dr. Luis Augusto Paim Rohde

Porto Alegre

2006

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria  
Dissertação de Mestrado

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RESPOSTA CLÍNICA E EVENTOS ADVERSOS AO  
METILFENIDATO E GENES DOPAMINÉRGICOS E SEROTONINÉRGICOS EM  
CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE  
ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE**

Cristian Patrick Zeni

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Psiquiatria.

Orientador: Prof. Dr. Luis Augusto Paim Rohde

Porto Alegre

2006

Catálogo-na-Publicação

Z54 Zeni, Cristian Patrick  
Associação entre resposta clínica e eventos adversos ao metilfenidato e genes dopaminérgicos e serotoninérgicos em crianças e adolescentes com transtorno de déficit de atenção/hiperatividade / Cristian Patrick Zeni. - 2006.  
82 f.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

Orientador: Prof. Dr. Luis Augusto Paim Rohde.

1. Transtorno da falta de atenção com hiperatividade : Tratamento 2. Farmacogenética 3. Criança 4. Adolescente I. Rohde, Luis Augusto Paim II. Título

NLM WS 350.8.A8

(Bibliotecária responsável: Elise Maria Di Domenico Coser - CRB-10/1577)

## AGRADECIMENTOS

Ao longo deste trabalho será evidenciado o efeito dos genes, e gostaria de agradecer em primeiro lugar aos responsáveis pelos meus genes. Airton, meu pai, através da curiosidade voraz e pelo gosto pelas ciências. Á Jucelia, minha mãe, eterna estudiosa, pelo amor ao ensino e aos cuidados com crianças e adolescentes. Aos meus irmãos, Gregory e Thamís, pelo apoio e incentivo.

Ao Departamento de Psiquiatria e Medicina Legal, ao Departamento de Genética e á Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e a todos os Mestres que tive no decorrer de minha formação.

Ao CNPq, que possibilitou a realização deste projeto.

Aos membros do Programa de Déficit de Atenção e Hiperatividade.

À Dra. Mara Hutz, Dra. Tatiana Roman e às Ms. Julia Genro e Ana Paula Guimarães pela parceria neste projeto e nos próximos.

Aos pacientes e seus familiares que toleram nosso desconhecimento e nos permitem estudar suas dores e sofrimentos.

Em especial, com uma contribuição estatisticamente e clinicamente significativa, duas pessoas apresentam especial importância e influência neste trabalho e em minha carreira.

Silzá Tramontina, pela acolhida desde o momento em que cheguei a Porto Alegre, e que incentivou meu interesse pela Psiquiatria da Infância e Adolescência. Amiga em todos os momentos e guru profissional, me auxiliou na condução deste e outros projetos.

Luis Augusto Rohde. Incansável, exigente, generoso e justo. Sempre disponível, apoiou o meu início na área da pesquisa, orientando pacientemente cada passo a ser seguido. É modelo de pesquisador, médico e professor.

## SUMÁRIO

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Revisão da Literatura	
Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade	11
Etiologia do TDAH	13
Estimulantes no Tratamento Farmacológico do TDAH	17
Farmacogenética - Genes Dopaminérgicos	21
Farmacogenética - Genes Serotonérgicos	26
Objetivos	28
Proteção de Direitos Humanos	30
Referências	31
Artigo em Português	41
Artigo em Inglês	57
Discussão	72
Anexos	
Swanson, Nolan and Pelham Scale – version IV	75
Escala de Avaliação Global de Crianças (CGAS)	76
Barkley's Side Effect Rating Scale (SERS)	78
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	79

## RESUMO

Introdução: Poucos estudos sobre a farmacogenética do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) foram conduzidos até o momento, apesar da extensa literatura sobre a participação de genes na etiologia do TDAH. Os estudos farmacogenéticos podem auxiliar na identificação a priori dos indivíduos que se beneficiarão de determinados tratamentos e dos que possivelmente apresentarão intolerância aos agentes farmacológicos. A maior parte dos estudos, até o momento, avaliou genes do sistema dopaminérgico e resultou em achados tanto positivos quanto negativos. Métodos: em um estudo naturalístico avaliamos os efeitos dos polimorfismos dos genes candidatos dopaminérgicos (*DRD4*, *DAT1*) e serotoninérgicos (*HTR1B*, *HTR2A* e *5-HTT*) na resposta ao tratamento em 111 pacientes para os quais foi prescrito metilfenidato. As medidas de desfecho (Swanson, Nolan, and Pelham scale - versão IV – anexo I, Children Global Assessment Scale – anexo II, Barkley's Stimulants Side Effects Rating Scale – anexo III) foram aplicadas no momento de avaliação e um mês após a intervenção. Resultados: Participaram do estudo 111 famílias de crianças e adolescentes eurobrasileiros de ambos os sexos que apresentavam TDAH segundo o DSM-IV. Estes pacientes foram consecutivamente triados no Programa de Déficit de Atenção/Hiperatividade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre janeiro de 2003 e maio de 2004. Não foi detectada associação significativa entre os polimorfismos dos genes dopaminérgicos e serotoninérgicos avaliados e a resposta ao metilfenidato ou presença de eventos adversos. Conclusão: Os achados deste estudo quanto aos genes dopaminérgicos são negativos,

concordando com três outros estudos disponíveis na literatura. Este foi o primeiro estudo a avaliar o efeito dos genes serotoninérgicos isolados na resposta ao metilfenidato e na presença de eventos adversos. Não foi encontrada nenhuma associação significativa. Os resultados dos estudos existentes são de difícil comparação devido à grande variabilidade metodológica existente entre os estudos. Assim, ensaios controlados multicêntricos prospectivos com maiores tamanhos amostrais são necessários para desvendar o papel dos genes candidatos na resposta ao tratamento para o TDAH.

## ABSTRACT

Background: Few studies on pharmacogenetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder have been conducted, in spite of the vast literature documenting the participation of genes in the etiology of ADHD. Pharmacogenetic studies may help in the identification a priori of the subjects who will most likely benefit from one pharmacological agent over others, and even the likelihood of onset or worsening of adverse events related to these agents. Most studies evaluated dopaminergic genes resulting in positive and negative findings. Methods: In a naturalistic study, we assessed effects of polymorphisms in candidate dopaminergic (*DRD4*, *DAT1*) and serotonergic genes (*HTR1B*, *HTR2A*, and the 5-*HTT*) on the response to treatment in 111 patients for whom methylphenidate was prescribed. Outcome measures (Swanson, Nolan, and Pelham scale - version IV – attachment 1, Children Global Assessment Scale – attachment 2, Barkley's Stimulants Side Effects Rating Scale – attachment 3) were assessed at baseline and one month after the intervention. Results: 111 families of eurobrazilian children and adolescents of both genders who presented ADHD according to DSM-IV joined the study. These patients were consecutively evaluated in the Attention-Deficit/Hyperactivity Outpatient Program of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre from January, 2003 to May, 2004. No significant association was detected between the dopaminergic and serotonergic polymorphisms assessed and both response and side effects to methylphenidate. Conclusion: The findings of this study regarding dopaminergic genes are negative, concurring with three other



previous published studies. This has been the first study to evaluate the effect of serotonergic genes alone in response to methylphenidate and presence of adverse events, and no significant association was found. The results lack comparability, due to the huge methodological variability among studies, and prospective multi-site controlled studies with larger sample sizes are needed in order to disentangle the role of candidate genes in response to ADHD treatment.

## INTRODUÇÃO

O Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) é um transtorno de início na infância, cuja prevalência situa-se entre 5 a 10% em amostras de diversos países.<sup>1</sup> É um transtorno crônico, caracterizado por sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade que causam prejuízo funcional.<sup>2</sup>

Estimativas sugerem que existiam 179.556.501 habitantes no Brasil em 2005, dos quais 46.413.913 eram crianças e adolescentes entre 5-18 anos.<sup>3</sup> Podemos supor que entre 2.320.695 e 4.641.391 indivíduos nesta faixa etária estavam apresentando sintomas de TDAH, sendo importante perceber que não estão incluídos os indivíduos que seguem sintomáticos na vida adulta. Todos estes estão sofrendo prejuízo importante em seu funcionamento, seja no nível acadêmico, funcional ou familiar, e que se traduz em perdas imediatas e a longo prazo e em importantes custos para a sociedade.<sup>4,5,6</sup> Fergusson e Horwood, em estudo com 935 adolescentes de 15 anos da Nova Zelândia, encontraram uma associação linear, crescente e significativa entre o número de sintomas de TDAH e a frequência de evasão escolar.<sup>7</sup> De acordo com esta prevalência e devido a seus efeitos negativos, o TDAH é um importante problema de saúde pública.

O prejuízo do TDAH pode ser minimizado com o tratamento, sendo que as evidências sugerem que 70% dos pacientes apresentam melhora significativa (acima de 50%) ao tratamento com estimulantes.<sup>8</sup> O metilfenidato é o único estimulante disponível no Brasil, e foi avaliado em mais de 150 estudos no tratamento do TDAH. Porém, cerca de 30% dos pacientes não apresentam uma resposta adequada, e mesmo entre os que apresentam resposta, cerca de 30% já

não seguem em tratamento após 24 meses.<sup>9</sup> Os eventos adversos decorrentes do uso de estimulantes mais freqüentes são perda de apetite, cefaléia, dor abdominal e insônia.<sup>10</sup> Embora estes eventos sejam limitados ao tempo de ação do metilfenidato e usualmente não sejam graves, também podem gerar uma interrupção precoce do tratamento.<sup>9</sup>

O modelo etiológico atual sugere que os fatores genéticos são extremamente importantes para o TDAH. Estudos recentes mostram que o TDAH apresenta uma herdabilidade de 80% e que a resposta aos fármacos e os eventos adversos decorrentes do uso de fármacos também podem ser mediados geneticamente, por múltiplos genes de pequeno tamanho de efeito.<sup>11,12,13,14,15</sup> Sendo assim, são de extrema relevância os estudos farmacogenéticos, pois permitem a identificação à priori de quais pacientes podem se beneficiar de determinado psicofármaco, evitando interrupções prematuras e reduzindo os prejuízos causados pelo TDAH.

É importante salientar que o presente trabalho é uma contribuição ao entendimento da farmacogenética do TDAH, o que indiretamente contribui para um maior conhecimento das bases biológicas do transtorno. Além disso, faz parte de um grupo colaborativo de pesquisa chamado “ADHD Molecular Genetics Network”, que reunirá dados de farmacogenética de vários países, possibilitando uma melhor avaliação da associação gene – resposta ao fármaco.

Para a revisão bibliográfica, foi realizada uma busca através do sistema MEDLINE até o ano de 2006, utilizando-se as palavras chaves “ADHD, Attention, Dopamine, Serotonin, Pharmacogen\*, Hyperactivity, Genet\*\*” e o cruzamento entre elas. Anais de eventos relacionados à genética também foram revisados.

# **TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE (TDAH)**

O Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade é uma condição de início na infância, cuja prevalência na idade escolar situa-se entre 5 a 10% em amostras de diversos países.<sup>1</sup> É um dos transtornos mentais mais comuns em crianças e adolescentes e ocorre de três a quatro vezes mais em meninos que em meninas em amostras clínicas.<sup>16</sup> É um transtorno crônico, caracterizado por sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade que causam prejuízo funcional.<sup>2</sup>

A desatenção se traduz em distratibilidade, em sonhar acordado e pela dificuldade em terminar tarefas; a hiperatividade se manifesta na inquietação motora e fala excessiva, enquanto que a impulsividade é observada na dificuldade em esperar, na interrupção das conversas dos outros.<sup>17</sup>

Devido à heterogeneidade dos quadros de TDAH, o mesmo foi classificado em subtipos: predominantemente desatento, hiperativo/impulsivo e combinado. Este último é o subtipo mais comum em amostras clínicas. Em amostras não referidas o subtipo desatento é o mais prevalente.<sup>18</sup>

Os prejuízos causados geram importantes custos sociais, desgaste no relacionamento familiar, assim como efeitos negativos na auto-estima das crianças e adolescentes, que podem ser fator de risco para inúmeros outros problemas de saúde mental como uso abusivo ou dependência de drogas.<sup>4,5,6</sup>

Além dos prejuízos do TDAH, é comum a presença de comorbidades nestes pacientes. Estudos demonstram alta prevalência com transtornos

disruptivos (Transtorno de Conduta e Transtorno de Oposição Desafiante), em torno de 30 a 50%, e também com Transtornos de Humor (Depressão ou Transtorno Bipolar), Transtornos de Aprendizagem, Transtornos de Ansiedade, Enurese e Tiques.<sup>4</sup> Isso implica maiores dificuldades no tratamento e um pior prognóstico.

Estudos sobre a evolução do TDAH na adolescência e vida adulta demonstram que os sintomas persistem em pelo menos 70% dos acometidos na adolescência e 50% dos pacientes na idade adulta.<sup>5,6,19,20,21</sup>

Devido à prevalência e aos efeitos negativos do TDAH nas atividades acadêmicas e vocacionais, o transtorno é um importante problema de saúde pública. O custo financeiro nos Estados Unidos da América, por exemplo, gira em torno de U\$ 30 bilhões ao ano.<sup>22</sup> Embora o tratamento em longo prazo esteja associado com menores custos e menos visitas a Serviços de Emergência, gera maiores custos médicos totais.<sup>23</sup> Urge o desenvolvimento de estratégias que facilitem a identificação e o tratamento visando a diminuir os custos sociais e pessoais do TDAH.

## ETIOLOGIA DO TDAH

As causas precisas do TDAH não são conhecidas até o momento, apesar do amplo material de pesquisa disponível. Os modelos atuais indicam uma etiologia multifatorial. As influências hereditárias e ambientais têm sido aceitas na literatura.<sup>24</sup> A hipótese atual é que diversos genes de pequeno tamanho de efeito confirmam uma vulnerabilidade biológica ao indivíduo. Essa vulnerabilidade somada a estressores ambientais contribui para o estabelecimento da doença.<sup>15</sup>

Dentre os estressores ambientais estudados até o momento, foram investigados fumo e álcool materno na gestação, baixo peso ao nascer, prematuridade, complicações da gravidez ou do parto, entre outros.<sup>25,26,27</sup> Entretanto, todos esses dados são iniciais, faltando estudos que expliquem e clarifiquem adequadamente os modelos causais, ou a interação com os modelos genéticos e neurobiológicos.

A observação de uma maior frequência de TDAH em familiares de crianças com este diagnóstico despertou o interesse de pesquisadores. Assim, estudos genéticos passaram a serem realizados no intuito de esclarecer a transmissão do transtorno.<sup>28</sup> Os estudos de transmissão familiar, de gêmeos e de adoção indicam fortemente um papel de componentes genéticos na etiologia do transtorno, demonstrando tanto um risco aumentado de TDAH em parentes de primeiro e segundo graus de pacientes quanto uma moderada a alta herdabilidade.<sup>29</sup> A herdabilidade do TDAH foi estimada em 0.80, mostrando que os genes possuem uma importante função na etiologia da doença.<sup>30</sup> Métodos de biologia molecular

são necessários para encontrar genes que possam estar envolvidos na causa da doença. Duas abordagens são normalmente usadas para esta tarefa: as varreduras genômicas, que consideram todos os possíveis genes, e a identificação de genes candidatos.<sup>24,31,32</sup> Estes genes são estudados de acordo com sua possível relação com os modelos de neurobiologia, de resposta a fármacos, e também por modelos animais da doença.

Os genes do sistema dopaminérgico, pelas razões acima, foram os mais estudados. O achado mais robusto em TDAH é a associação de um polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) no éxon 3 do gene do receptor D4 de dopamina (*DRD4*).<sup>33</sup> A maior parte dos estudos tem se focado no alelo de 7 repetições (7R) do polimorfismo VNTR de 48 pares de base. No nosso meio, um estudo demonstrou uma pequena mas significativa associação entre a presença do alelo de 7 repetições e TDAH.<sup>34</sup>

Uma meta-análise avaliou os tamanhos de efeito dos genes e encontrou para o *DRD4* uma razão de chances de 1,4 nos estudos familiares e 1,9 em estudos de caso controle.<sup>28</sup> Mais recentemente, diversos estudos com resultados positivos<sup>35,36,37,38</sup> e negativos<sup>39,40</sup> foram publicados. Cabe ressaltar que, mesmo com esse nível de evidência, ainda não está estabelecido o papel funcional deste gene.

O gene do transportador da dopamina (*DAT1*) também tem sido implicado nos estudos de TDAH. O transportador da dopamina é o sítio inibido pelo metilfenidato.<sup>41,42</sup> O alelo associado é o de 480 pares de base de um VNTR localizado na região 3' não traduzida do gene, que corresponde a 10 cópias de uma unidade de repetição. Embora existam achados positivos,<sup>43,44,45,46</sup> a presença

concomitante de diversos estudos com resultado negativo<sup>39,47,48</sup> gera dúvidas sobre a associação. Uma meta-análise avaliou a associação do *DAT1* com TDAH e resultou em uma razão de chances estimada combinada não significativa de 1,27 para o alelo de 10 repetições.<sup>36</sup> Um trabalho mais recente encontrou uma razão de chances agrupada significativa para o *DAT1* de 1.13 em estudos familiares.<sup>11</sup>

Estudos com outros genes do sistema dopaminérgico (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *DβH* e *COMT*) também foram investigados, apresentando resultados positivos. Entretanto, o número de investigações que aborda estes genes é bastante reduzido.<sup>48,49,52</sup> O gene *DRD5* apresenta uma razão de chances agrupada significativa de 1.24 em estudos familiares.<sup>11,49,50,51</sup>

Genes do sistema noradrenérgico como o transportador da noradrenalina (*NET1*) também vêm sendo estudados. Um estudo achou resultados positivos,<sup>52</sup> porém outras investigações não replicaram esses achados.<sup>53,54,55,56</sup> O gene do receptor adrenérgico α2 (*ADRA2α*) foi avaliado inicialmente por Comings et al.<sup>57</sup> Quatro de outros cinco estudos publicados,<sup>58,59,60,61,62</sup> e um entre dois estudos ainda não-publicados<sup>63</sup> (Wang and Faraone, comunicação pessoal) também avaliaram a associação entre o *ADRA2α* e o TDAH e sugeriram um papel para este polimorfismo na suscetibilidade para o Transtorno. Um papel específico para o polimorfismo *ADRA2α* –1291 C>G na dimensão desatenção foi demonstrado em várias destas investigações.<sup>60,63</sup>

Estudos de associação e ligação com TDAH também foram realizados com genes serotoninérgicos. O interesse surgiu devido às observações em estudo com ratos *DAT1* “knock-out” que apresentaram comportamento hiperativo. Após a



administração de estimulantes e agentes que aumentam a transmissão serotoninérgica estes ratos demonstraram uma diminuição da hiperlocomoção. A partir destes experimentos, os autores sugeriram que a serotonina pode modular o comportamento hiperativo, independente de mudanças extracelulares de dopamina.<sup>64</sup> Além disso, também foi demonstrada uma associação entre baixa atividade serotoninérgica e comportamento desinibido e impulsivo em animais e humanos.<sup>65,66</sup> Dentre os polimorfismos do sistema serotoninérgico estudados no TDAH, o mais investigado é o que ocorre na região promotora do gene do transportador da serotonina (*5-HTT*). Kent et al. agruparam dados de três estudos e encontraram uma pequena, mas significativa associação (razão de chances combinada = 1,33).<sup>67</sup> Estudos de associação com polimorfismos dos receptores da serotonina *5HT<sub>1B</sub>*, *5HT<sub>2A</sub>* são reduzidos e têm resultados contraditórios.<sup>68,69,70</sup> Hawi et al. não encontraram associação com TDAH do polimorfismo His452Tyr do *5HT<sub>2A</sub>* na sua amostra total, mas na subamostra Irlandesa de seu estudo encontraram uma transmissão preferencial do alelo His452.<sup>68</sup> Entretanto, Quist et al. encontraram uma transmissão preferencial do alelo 452Tyr no *5HT<sub>2A</sub>* nos filhos com TDAH, sugerindo desequilíbrio de ligação deste polimorfismo com o TDAH.<sup>70</sup> Hawi et al. evidenciaram uma transmissão preferencial do alelo 861G do *5HT<sub>1B</sub>* em crianças com TDAH.<sup>68</sup> Na mesma direção, Quist et al. encontraram uma tendência para uma transmissão excessiva do alelo 861G do *5HT<sub>1B</sub>*, e uma maior transmissão paterna significativa do alelo G para o filho afetado.<sup>69</sup>

Embora existam bastantes estudos apresentando dados sobre a participação da genética na etiologia do TDAH (para uma revisão, ver Faraone et al., 2005)<sup>28</sup> e sobre o papel dos estimulantes e sua eficácia no tratamento dos

sintomas do TDAH, poucas investigações foram realizadas, até hoje, sobre os efeitos desta associação – estudos de farmacogenética.<sup>9</sup>

Além do pequeno número de estudos, existem muitas diferenças metodológicas que impossibilitam uma generalização dos resultados, além do fato de que uma parte dos estudos tem pequenos tamanhos amostrais ou avaliam apenas alguns polimorfismos dos genes candidatos.

# ESTIMULANTES NO TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DO TDAH

A farmacoterapia é parte fundamental do tratamento do TDAH. Os estudos demonstraram que os tratamentos medicamentosos isolados ou combinados com terapia comportamental são mais efetivos que os tratamentos psicossociais isolados.<sup>71</sup> Há mais de 160 estudos demonstrando a efetividade dos estimulantes,<sup>8,72,73</sup> que vêm sendo usados há mais de 50 anos.<sup>74</sup> Os estimulantes estão entre as drogas mais seguras para o tratamento de alterações de comportamento em crianças e adolescentes.<sup>75</sup>

As medicações estimulantes empregadas no tratamento do TDAH incluem o metilfenidato, dextro-(D)-anfetamina, sais mistos de anfetamina e pemolina.<sup>73</sup> O uso da pemolina é contra-indicado devido a um efeito raro mas potencialmente fatal de hepatotoxicidade.<sup>76</sup> Há estudos demonstrando que os estimulantes são geralmente comparáveis em eficácia, mas pode haver diferenças no grau de resposta. Em uma metanálise, aproximadamente 40% dos pacientes tiveram semelhantes respostas positivas a metilfenidato ou D-anfetamina, mas 26% responderam melhor ao metilfenidato, e 35% tiveram melhor resposta á D-anfetamina.<sup>77</sup>

Um estudo aberto não demonstrou diferenças no uso de metilfenidato e atomoxetina (um inibidor da recaptção da noradrenalina), porém importantes limitações metodológicas foram observadas.<sup>78</sup> Um recente estudo duplo-cego

randomizado comparou o uso de sais mistos de anfetamina e atomoxetina e encontrou uma melhor resposta ao estimulante.<sup>79</sup>

O único estimulante disponível no Brasil é o metilfenidato. O metilfenidato é o estimulante mais utilizado no tratamento do TDAH e estudos evidenciam uma redução estatística e clinicamente significativa dos sintomas do TDAH, assim como melhora do funcionamento em vários outros domínios.<sup>8,73</sup>

Entretanto, cerca de 30% dos pacientes tratados não apresentam a mesma resposta, podendo ainda apresentar eventos adversos, o que pode aumentar as taxas de não-adesão ao tratamento.<sup>9,80</sup> Os eventos adversos mais comuns são insônia, redução de apetite, dores de estômago e cefaléia<sup>10,80</sup> e são dose-dependentes, geralmente de leves a moderados e diminuem com alterações da dosagem ou dos horários de tomada.<sup>81</sup> E além disto, foi observado em um seguimento de dois anos que 30% dos pacientes interromperam o tratamento, mesmo mostrando resposta satisfatória.<sup>9</sup>

Modelos neurobiológicos também sugerem a possibilidade de participação de fatores genéticos no surgimento de eventos adversos.<sup>12,13</sup> Porém, os eventos adversos não foram avaliados em nenhum estudo até o momento.

Grizenko et al. comparou o padrão de agregação familiar da psicopatologia em crianças com TDAH que eram boas ou mau-respondedoras ao tratamento com metilfenidato e observou um risco significativamente maior de TDAH em parentes de primeiro grau das bom-respondedoras do que nos parentes de mau-respondedoras.<sup>82</sup>

Existe uma demanda significativa de pacientes que podem se beneficiar de saber a priori se terão uma boa resposta ao tratamento com metilfenidato,

evitando eventos adversos e buscando então alternativas eficazes de tratamento. Os estudos de farmacogenética e farmacogenômica podem auxiliar a montar uma base para a identificação destes indivíduos.

## FARMACOGENÉTICA – GENES DOPAMINÉRGICOS

A maior parte dos estudos tem como foco os genes do sistema dopaminérgico, devido aos achados de modelos animais, à resposta clínica ao metilfenidato (que age no transportador da dopamina) e ao papel crítico das vias dopaminérgicas no funcionamento executivo, no sistema de recompensas, e na inibição de respostas.<sup>29,83</sup>

Atualmente, existem 16 investigações independentes avaliando a associação entre genes dopaminérgicos e resposta aos estimulantes. O gene mais investigado é o gene do transportador da dopamina. Um estudo pioneiro de Winsberg e Comings demonstrou um significativo aumento na frequência de indivíduos homocigotos para o alelo de 10 cópias do gene para o transportador de dopamina (*DAT1*) nos pacientes não respondedores.<sup>84</sup> Nosso grupo foi capaz de replicar esse achado, demonstrando também uma associação entre a homocigose para o alelo de 10 repetições no gene *DAT1* e pior resposta clínica ao metilfenidato em uma amostra de 50 crianças e adolescentes com o transtorno. Neste ensaio naturalístico, enquanto 75% (15/20) dos pacientes sem o genótipo 10/10 demonstraram uma melhora maior de 50% nos sintomas nucleares do Transtorno após tratamento com metilfenidato, somente 47% (14/30) dos sujeitos com o genótipo 10/10 atingiu o mesmo nível de melhora com a medicação ( $p$  unicaudal = 0.04).<sup>85</sup> Um terceiro estudo replicou este achado, demonstrando que crianças coreanas que apresentavam a homocigose do alelo de 10 repetições

demonstravam pior resposta ao metilfenidato.<sup>86</sup> Entretanto, o tamanho amostral era de apenas 11 crianças. Outras investigações trouxeram resultados diferentes.

Duas investigações de um grupo irlandês (a segunda numa sub-amostra do primeiro estudo) demonstraram que a transmissão do alelo de 10 repetições do *DAT1* era significativamente maior em crianças nas quais o metilfenidato tinha uma resposta “muito boa” comparada com aqueles com resposta “média” ou “sem resposta”.<sup>87,88</sup>

Três estudos relataram não encontrar evidências de associação entre a homozigose do alelo de 10 repetições do *DAT1* e resposta ao tratamento.<sup>89,90,91</sup> Langley et al. avaliaram o efeito da presença da homozigose do alelo de 10 repetições e resposta aos estimulantes. Nenhuma associação foi encontrada ( $P = 0.65$ ).<sup>89</sup> Nenhuma associação foi encontrada entre a resposta ao metilfenidato e presença do homozigose do alelo de 10 repetições na população holandesa.<sup>90</sup> Hamarman et al. relataram que os sujeitos homozigotos para o alelo de 10 repetições no gene *DAT1* ( $n = 15$ ) precisavam de doses semelhantes de estimulantes (39mg vs 38mg;  $p = 0.62$ ) para a normalização dos sintomas de TDAH quando comparados com crianças com um ou nenhum alelo de 10 repetições ( $n = 30$ ).<sup>91</sup>

Dois estudos avaliaram o papel do alelo de 9 repetições do mesmo polimorfismo VNTR no *DAT1*. Um estudo relatou que as crianças que apresentavam o genótipo 9/9 apresentavam uma curva dose-resposta distinta dos outros genótipos, e pior resposta.<sup>92</sup> Um outro estudo avaliou a presença da

homozigose do alelo de 9 repetições em adultos sadios relatando uma resposta subjetiva diminuída à administração aguda de anfetamina.<sup>93</sup>

Seis estudos avaliaram o papel do alelo de 7 repetições em um polimorfismo VNTR de 48 pares de base (48pb) do receptor 4 de dopamina (*DRD4-7*). Tahir et al. relatou em uma amostra de 111 crianças com TDAH da Turquia que somente as respondedoras ao metilfenidato apresentavam a transmissão excessiva do alelo 7 do *DRD4*.<sup>94</sup> Dois estudos não encontraram associação significativa entre a presença do alelo de 7 repetições e resposta ao metilfenidato.<sup>84,95</sup> Van der Meulen et al. demonstrou uma correlação significativa entre irmãos para a taxa de resposta ao metilfenidato e uma associação positiva mas não estatisticamente significativa entre a presença do alelo de 7 repetições e melhor resposta à medicação em uma amostra de crianças holandesas.<sup>90</sup> Um estudo comparou a dose necessária para atingir uma redução de dez pontos na Connors` Global Index – avaliação pelos pais e encontrou que os pacientes que apresentavam o *DRD4-7R* precisavam de doses maiores para a melhora dos sintomas.<sup>96</sup> Um ensaio prospectivo de 8 semanas em uma amostra de crianças coreanas com TDAH avaliou crianças que apresentavam a homozigose do alelo de 4 repetições do *DRD4* e demonstrou uma associação com uma melhor resposta ao metilfenidato.<sup>97</sup> Ben Amor avaliou um polimorfismo diferente no gene *DRD4*, em um estudo de duas semanas duplo-cego cruzado com placebo, relatando uma melhor resposta ao metilfenidato em pacientes que apresentavam o genótipo T/T do polimorfismo -521C/T do *DRD4*.<sup>95</sup> Entretanto, Hamarman não encontrou evidência da influência do polimorfismo -521CT no desfecho clínico.<sup>98</sup>



Os estudos avaliando outros genes dopaminérgicos são escassos. Um único estudo avaliou o gene *DRD2* e relatou não ter encontrado diferença significativa na resposta ao metilfenidato de acordo com os polimorfismos Taq I A.<sup>84</sup> Tahir relatou que os respondedores ao metilfenidato apresentavam uma transmissão preferencial do alelo de 151 pares de base no *DRD5*.<sup>94</sup> Hamarman et al. não encontrou associação entre um polimorfismo TaqI no íntron 5 no *DBH* e dose de metilfenidato necessária para normalizar os sintomas nas crianças com TDAH.<sup>91</sup>

As razões para as diferenças entre os estudos não são claras, porém algumas possibilidades são levantadas: diferenças metodológicas, tais como o tipo de pacientes incluídos nos estudos (pacientes virgens de tratamento, com diferentes tipos de comorbidade e idade), delineamento dos estudos, estratégia para avaliação da resposta à farmacoterapia (avaliação retrospectiva vs prospectiva, uso de diferentes escalas, nível de melhora que define resposta).<sup>14</sup> A não replicação de achados positivos também é um achado esperado em estudos de associação, seja por tamanhos amostrais sem poder suficiente para a detecção do resultado, ou por variabilidade genética real entre as populações avaliadas.<sup>99</sup> Uma outra possibilidade é que os efeitos atribuídos a determinado gene possam representar associações com outras regiões ou com marcadores desconhecidos, em desequilíbrio de ligação com o polimorfismo.<sup>14</sup>

É importante lembrar também que o número de estudos é pequeno, tornando difícil a comparação dos resultados. A maior parte dos estudos é de associação, sem o estudo de haplótipos ou da combinação de genótipos. Não há

estudos que avaliem outros fármacos, apenas os estimulantes foram investigados até o momento. Os eventos adversos, apesar de também serem mediados por monoaminas não têm sido investigados. Muito há por ser feito nesta área em desenvolvimento.

## FARMACOGENÉTICA – GENES SEROTONINÉRGICOS

Alterações na quantidade da serotonina podem causar importantes mudanças comportamentais em humanos sendo relacionadas com comportamentos impulsivos e agressivos.<sup>100,101</sup> A diminuição da hiperlocomoção em ratos “DAT1 knock-out” após a administração de estimulantes ou agentes que aumentam a transmissão serotoninérgica sugere que o efeito dos estimulantes nestes animais dependa da neurotransmissão serotoninérgica.<sup>64</sup>

O envolvimento do sistema serotoninérgico no TDAH parece ocorrer devido ao controle regulatório do serotonina sobre a dopamina através das projeções neuronais dos neurônios serotoninérgicos que regulam o disparo dos neurônios dopaminérgicos e a liberação da dopamina. Problemas no sistema serotoninérgico resultam em problemas no sistema dopaminérgico e afetam comportamentos mediados pela dopamina. Diferentes receptores de serotonina mediam a regulação de serotonina sobre a dopamina: o  $5HT_{1A}$ , o  $5HT_{1B}$ , e o  $5HT_{2A}$ .<sup>102</sup>

Os modelos animais, a resposta a fármacos como a imipramina e a influência das vias serotoninérgicas sobre as vias dopaminérgicas apóiam a idéia de que os genes serotoninérgicos tenham papel na resposta ao tratamento.

Não encontramos estudos farmacogenéticos na literatura abordando os efeitos específicos dos genes serotoninérgicos na resposta aos estimulantes no TDAH, embora existam relatos positivos da associação dos genes serotoninérgicos com o TDAH.<sup>28</sup>

Um estudo prévio avaliou a interação entre genes dopaminérgicos e serotoninérgicos no TDAH e encontrou que os pacientes que apresentavam o genótipo *DRD4\*7/5HTT LL* demonstravam uma pior resposta no funcionamento global com o tratamento com metilfenidato.<sup>100</sup>

Como visto, os estudos de farmacogenética no TDAH são iniciais nos sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos, embora promissores. Entretanto, eles são de extrema importância clínica, pois poderão auxiliar na determinação de subgrupos de pacientes que responderão a farmacoterapia e, mais adiante, a qual tipo de medicação. Além disso, ajudarão no esclarecimento das bases biológicas desse importante problema de saúde mental que afeta crianças, adolescentes e adultos.

## OBJETIVO GERAL

Avaliar a associação de genes dopaminérgicos e serotoninérgicos e resposta ao metilfenidato em crianças e adolescentes com TDAH.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar se a associação encontrada previamente entre a homozigose para o alelo de 10 repetições no *DAT1* (VNTR de 40pb – 480pb) e uma pior resposta clínica ao metilfenidato é replicada nessa nova amostra, fortalecendo a evidência anterior.

Verificar a existência de associação entre a presença da homozigose para o alelo de 9 repetições no *DAT1* (VNTR de 40pb – 440pb) e resposta clínica ao metilfenidato na amostra coletada.

Verificar a existência de associação entre a presença do alelo de 7 repetições no *DRD4* (VNTR de 48 pb) e resposta clínica ao metilfenidato na amostra coletada.

Verificar a existência de associação entre a presença da homozigose para o alelo de 4 repetições no *DRD4* e resposta clínica ao metilfenidato na amostra coletada.

Verificar a existência de associação entre três polimorfismos de genes do sistema serotoninérgico (polimorfismo na região promotora, variante longa (VNTR de 528pb) no gene *5-HTT*; polimorfismo HincII no *5HT<sub>1B</sub>* - presença do alelo HTR861G; e polimorfismo His452Tyr no *5HT<sub>2A</sub>* –presença da homozigose do alelo HTR2A/His452) e a resposta clínica ao metilfenidato na amostra coletada.

Verificar a existência de associação entre os polimorfismos nos genes dos sistemas dopaminérgico ou serotoninérgico citados acima e surgimento de eventos adversos secundários ao tratamento do TDAH com metilfenidato.

## **PROTEÇÃO DOS DIREITOS HUMANOS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os pacientes eram informados dos objetivos da pesquisa e de sua participação voluntária. Solicitou-se a assinatura pelo paciente e por um dos pais ou responsáveis legais do termo de consentimento livre e esclarecido (anexo IV).

## REFERÊNCIAS

1. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol Psychiatry* 2005;57:1215-20.
2. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Diseases*, fourth edition (DSM-IV). Washington, DC: APA; 1994.
3. Fonte: Projeto IBGE/Fundo de População das Nações Unidas, UNFPA/BRASIL (BRA/98/P08). Sistema Integrado de Projeções e Estimativas Populacionais e Indicadores Sociodemográficos). Disponível em [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) e [ftp://ftp.ibge.gov.br/Indicadores Sociais/Crianças e Adolescentes/1997/Características Gerais](ftp://ftp.ibge.gov.br/Indicadores_Sociais/Crianças_e_Adolescentes/1997/Características_Gerais)
4. Biederman J, Newcorn J, Sprich S. Comorbidity of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder With Conduct, Depressive, Anxiety, and Other Disorders. *Am J Psychiatry* 1991;148:564-77.
5. Rohde LA, Biederman J, Busnello ED, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S et al. ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: A study of prevalence, comorbid conditions and impairments. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1999;38:716-22.
6. Barkley RA. Major life activity and health outcomes associated with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychiatry* 2002;63:10-5.
7. Fergusson DM, Horwood JP. Validity of Categorical and Dimensionally Scored Measures of Disruptive Childhood Behaviors. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1995;34:477-87.
8. Spencer T, Biederman J, Wilens T, Harding M, O'Donnell D, Griffin S. Pharmacotherapy of attention-deficit/hyperactivity disorder across the life cycle. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1996;35:409-28.
9. McGough JJ. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Pharmacogenomics. *Biol Psychiatry* 2005;57:1367-73.
10. Barkley RA, McMurray MB, Edelbrock CS, Robbins K. Side effects of methylphenidate in children with attention deficit hyperactivity disorder: a systemic, placebo-controlled evaluation. *Pediatrics* 1990;86:184-92.
11. Biederman J, Faraone S. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 2005;366:237-48.



12. Wellman PJ. Modulating of eating by central catecholamine systems. *Curr Drug Targets* 2005;6:191-9.
13. Boutrel B, Koob GF. What keeps us awake: the neuropharmacology of stimulants and wakefulness-promoting medications. *Sleep* 2004;27:1181-94.
14. Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA. Attention-deficit/hyperactivity disorder: advancing on pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2005;6:225-34.
15. Smalley SL. Genetic influences in childhood-onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Hum Genet* 1997 Jun;60(6):1276-82.
16. Gaub M, Carlson CL. Gender differences in ADHD: a meta analysis and critical review. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997;36:1036-45.
17. Rohde LA, Ketzer C. Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. In: Fichtner N, editor. *Transtornos mentais na infância e adolescência*. Porto Alegre: Editora Artes Médicas; 1997. p106-19.
18. Shastry BS. Molecular genetics of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): an update. *Neurochemistry International* 2004;44:469–74.
19. American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. Practice parameters for the assessment and treatment of children, adolescents and adults with Attention – Deficit/Hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36:85S-121S.
20. Rohde LA, Mattos, P. *Princípios e práticas em TDAH*. Porto Alegre: Artes Médicas, 2003. 236 p.
21. Wilens TE, Biederman J, Spencer TJ. Attention deficit/hyperactivity disorder across the lifespan. *Annu Rev Med*. 2002;53:113-31.
22. Birnbaum HG, Kessler RC, Lowe SW, Secnik K, Greenberg PE, Leong SA et al. Costs of attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD) in the US: excess costs of persons with ADHD and their family members in 2000. *Curr Med Res Opin* 2005;21:195-206.
23. Leibson CL, Barbaresi WJ, Ransom J, Colligan RC, Kemner J, Weaver AL, Katusic SK. Emergency department use and costs for youth with attention-deficit/hyperactivity disorder: associations with stimulant treatment. *Ambul Pediatr* 2006;6:45-53.

24. Roman, T.; Schmitz, M.; Polanczick, G.; Hutz, M. Etiologia. In: Rohde, L.A.; Mattos, P. (Orgs.). *Princípios e práticas em TDAH*. Porto Alegre: Artes Médicas, 2003. p. 35-52.
25. Aylward GP. Neurodevelopmental outcomes of infants born prematurely. *J Dev Behav Pediatr* 2005;6:427-40.
26. Thapar A, Fowler T, Rice F, Scourfield J, van den BM, Thomas H et al. Maternal smoking during pregnancy and attention-deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. *Am J Psychiatry* 2003;160:1985-9.
27. Button TM, Thapar A, McGuffin P. Relationship between antisocial behaviour, attention-deficit hyperactivity disorder and maternal prenatal smoking. *Br J Psychiatry* 2005;187:155-60.
28. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005;57:1313-23.
29. Rohde LA, Zeni C, Polanczyk G, Hutz M. New insights on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Pharmacogenomics. *Drug Development Research* 2004;51:1-8.
30. Rohde LA, Roman T, Hutz M. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Current Aspects on Pharmacogenetics. *The J Pharmacogenomics* 2003;3:11-3.
31. Ohashi J, Tokunaga K. The power of genome-wide association studies of complex genes: statistical limitations to indirect approaches using SNP markers. *J Hum Genet* 2001;46:478-82.
32. Barr CL, Swanson JM, Kennedy JL. Molecular Genetics of ADHD. In: Levy F (ed). *Attention, Genes and ADHD*. United Kingdom, Brunner-Rouledge, 2001.p173-195.
33. Asherson PJ, Curran S. Approaches to gene mapping in complex disorders and their application in child psychiatry and psychology. *Br J Psychiatry* 2001;179:122-8.
34. Roman T, Schmitz M, Polanczick G, Eizirik M, Rohde LA, Hutz M. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A study of association with both DAT and DRD4 genes. *Am J Med Genet* 2001;105:471-8.
35. Qian Q, Wang Y, Zhou R, Yang L, Faraone SV. Family-based and case-control association studies of DRD4 and DAT1 polymorphisms in Chinese attention deficit hyperactivity disorder patients suggest long repeats contribute to genetic risk for the disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;128:84-9.

36. Maher BS, Marazita ML, Ferrel RE, Vanyukov MM. Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: *Psychiatr Genet* 2002;207-15.
37. Seeger G, Schloss P, Schmidt MH, Ruter-Jungfleisch A, Henn FA. Gene-environment interaction in hyperkinetic conduct disorder (HD+CD) as indicated by season of birth variations in dopamine receptor (DRD4) gene polymorphism. *Neurosci Lett* 2004;366:282-6.
38. Qian Q, Wang Y, Li J, Yang L, Wang B, Zhou R. Association studies of dopamine D4 receptor gene and dopamine transporter gene polymorphisms in Han Chinese patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2003;35:412-8.
39. Marino C, Giorda R, Vanzin L, Molteni M, Lorusso ML, Nobile M et al. No evidence for association and linkage disequilibrium between dyslexia and markers of four dopamine-related genes. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2003;12:198-202.
40. Frank Y, Pergolizzi RG, Perilla MJ. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr Neurol* 2004;31:345-8.
41. Amara SG, Kuhar MJ. Neurotransmitter transporters: recent progress. *Annu Rev Neurosci* 1993;16:73-93.
42. Cook EH Jr, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet* 1995;56:993-8.
43. Hawi Z, Lowe N, Kirley A, Gruenhage F, Nothen M, Greenwood T et al. Linkage disequilibrium mapping at DAT1, DRD5 and DBH narrows the search for ADHD susceptibility alleles at these loci. *Mol Psychiatry* 2003;8:299-308.
44. Kustanovich V, Ishii J, Crawford L, Yang M, McGough JJ, McCracken JT et al. Transmission disequilibrium testing of dopamine-related candidate gene polymorphisms in ADHD: confirmation of association of ADHD with DRD4 and DRD5. *Mol Psychiatry* 2004;9:711-7.
45. Chen CK, Chen SL, Mill J, Huang YS, Lin SK, Curran S. The dopamine transporter gene is associated with attention deficit hyperactivity disorder in a Taiwanese sample. *Mol Psychiatry* 2003;8:393-6.
46. Kirley A, Hawi Z, Daly G, McCarron M, Mullins C, Millar N et al. Dopaminergic system genes in ADHD: toward a biological hypothesis. *Neuropsychopharmacology* 2002;27:607-19.

47. Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, Lanphear BP. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors. *J Pediatr* 2003;143:104-10.
48. Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R et al. Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003;119:77-85.
49. Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol Psychiatry* 1999;4:192-6.
50. Barr CL, Wigg KG, Feng Y, Zai G, Malone M, Roberts W et al. Attention-deficit hyperactivity disorder and the gene for the dopamine D5 receptor. *Mol Psychiatry* 2000;5:548-51.
51. Lowe N, Kirley A, Hawi Z, Sham P, Wickham H, Kratochvil CJ et al. Joint analysis of the DRD5 marker concludes association with attention-deficit/hyperactivity disorder confined to the predominantly inattentive and combined subtypes. *Am J Hum Genet* 2004;74:348-56.
52. Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK et al. Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;134:67-72.
53. De Luca V, Muglia P, Jain U, Kennedy JL. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene Mnl polymorphism and adult ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2004;124:38-40.
54. Barr CL, Kroft J, Feng Y, Wigg K, Roberts W, Malone M et al. The norepinephrine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet* 2002;114:255-9.
55. McEvoy B, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene polymorphisms and ADHD in the Irish population. *Am J Med Genet* 2002; 114:665-6.
56. Xu X, Knight J, Brookes K, Mill J, Sham P, Craig I et al. DNA pooling analysis of 21 norepinephrine transporter gene SNPs with attention deficit hyperactivity disorder: no evidence for association. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;134:115-8.
57. Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Blake H, Wu S, MacMurray JP. Additive effect of three noradrenergic genes (ADRA2a, ADRA2C, DBH) on

- attention-deficit hyperactivity disorder and learning disabilities in Tourette syndrome subjects. *Clin Genet* 1999;55:160-72.
58. Park L, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rappley M et al. Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Mol Psychiatry* 2005;10:572-80.
  59. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2003; 120:116-20.
  60. Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde L A, Hutz MH. Further evidence of the involvement of alpha 2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional scores of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry* 2005;in press.
  61. Stevenson J, Langley K, Pay H et al. Attention deficit hyperactivity disorder with reading disabilities: preliminary genetic findings on the involvement of the ADRA2A gene. *J Child Psychol Psychiatry* 2005; 10:1081-8.
  62. Xu C, Schachar R, Tannock R et al. Linkage study of the alpha2A adrenergic receptor in attention-deficit hyperactivity disorder families. *Am J Med Genet* 2001;105(2):159-62.
  63. Schmitz M, Denardin D, Silva TL et al. Association between Alfa-2A adrenergic receptor gene and ADHD inattentive type. 2005.
  64. Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, Levin ED, Jaber M, Caron MG. Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. *Science* 1999;283:397-401.
  65. Heffner TG, Seiden LS. Possible involvement of serotonergic neurons in the reduction of locomotor hyperactivity caused by amphetamine in neonatal rats depleted of brain dopamine. *Brain Res* 1982;244:81-90.
  66. Spivak B, Vered Y, Yoran-Hegesh R, Averbuch E, Mester R, Graf E et al. Circulatory levels of catecholamines, serotonin and lipids in attention deficit hyperactivity disorder. *Acta Psychiatr Scand* 1999;99:300-4.
  67. Kent L, Doerry U, Hardy E, Parmar R, Gingell K, Hawi Z et al. Evidence that variation at the serotonin transporter gene influences susceptibility to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): analysis and pooled analysis. *Mol Psychiatry* 2002;7:908-12.
  68. Hawi Z, Dring M, Kirley A, Foley D, Kent L, Craddock N, et al. Serotonergic system and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A potential

- susceptibility locus at the 5-HT(1B) receptor gene in 273 nuclear families from a multi-centre sample. *Mol Psychiatry* 2002;7:718-25.
69. Quist JF, Barr CL, Schachar R, Roberts W, Malone M, Tannock R, et al. The serotonin 5-HT1B receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry* 2003;8:98-102.
70. Quist JF, Barr CL, Schachar R, Roberts W, Malone M, Tannock R, et al. Evidence for the serotonin HTR2A receptor gene as a susceptibility factor in attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol Psychiatry* 2000;5:537-541.
71. The MTA Cooperative Group. A 14-month randomized clinical trial of treatment strategies for attention-deficit/hyperactivity disorder. Multimodal Treatment Study of Children with ADHD. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:1073-86.
72. Swanson J, Lerner M, Williams L. More frequent diagnosis of attention deficit-hyperactivity disorder. *N Engl J Med* 1995;333:944.
73. Greenhill LL, Pliszka S, Dulcan MK, Bernet W, Arnold V, Beichman J et al. Practice Parameter for the use of stimulant medications in the treatment of children, adolescents, and adults. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002;41:26S-49S.
74. Efron D, Jarman F, Barker M. Side Effects of Methylphenidate and Dexamphetamine in Children With Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Double-blind, Crossover Trial. *Pediatrics* 1997;100:662-6.
75. Gadow KD. Pediatric psychopharmacotherapy: a review of recent research. *J Child Psychol Psychiatry* 1992;33:153-95.
76. Fonte: Alert for Healthcare Professionals Pemoline Tablets and Chewable Tablets (marketed as CYLERT): FDA [10/2005]: Liver Injury Risk and Market Withdrawal. Disponível em:  
[http://www.fda.gov/cder/foi/label/2003/016832s022\\_017703s018lbl.pdf](http://www.fda.gov/cder/foi/label/2003/016832s022_017703s018lbl.pdf)
77. Greenhill LL, Abikoff HB, Arnold E, Cantwell DP, Conners CK, Elliott G et al. Medication treatment strategies in the MTA study: relevance to clinicians and researchers. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1996;35:1304-13.
78. Kratochvil CJ, Heiligenstein JH, Dittmann R, Spencer TJ, Biederman J, Wernicke J et al. Atomoxetine and methylphenidate treatment in children with ADHD: a prospective, randomized, open-label trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002;41:776-84.
79. Wigal SB, McGough JJ, McCracken JT, Biederman J, Spencer TJ, Posner KL et al. A laboratory school comparison of mixed amphetamine salts extended

- release (Adderall XR) and atomoxetine (Strattera) in school-aged children with attention deficit/hyperactivity disorder. *J Atten Disord* 2005;9:275-89.
80. Ahmann PA, Waltonen SJ, Olson KA, Theye FW, Van Erem AJ, LaPlant RJ. Placebo-controlled evaluation of Ritalin side effects. *Pediatrics* 1993;91:1101-6.
  81. Weiss G, Hechtman LT. Medication treatment of ADHD. In: Weiss G, Hechtman LT, eds. *Hyperactive Children Grown Up*. 2nd ed. New York, NY: Guilford Press; 1993:348-65
  82. Grizenko N, Kovacina B, Amor LB, Schwartz G, Ter-Stepanian M, Joober R. Relationship between response to methylphenidate treatment in children with ADHD and psychopathology in their families. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2006;45:47-53.
  83. Castellanos FX. Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin Pediatr* 1997;36:381-93.
  84. Winsberg BG, Comings DE. Association of the dopamine transporter gene (DAT1) with poor methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1999;38:1474-7.
  85. Roman T, Szobot C, Martins S, Biederman J, Rohde LA, Hutz MH. Dopamine transporter gene and response to methylphenidate in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pharmacogenetics* 2002;12:497-9.
  86. Cheon KA, Ryu YH, Kim JW, Cho DY. 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* 2005a;15:95-101.
  87. Kirley A, Lowe N, Hawi Z, Mullins C, Daly G, Waldman I et al. Association of the 480 bp DAT1 allele with methylphenidate response in a sample of Irish children with ADHD. *Am J Med Genet* 2003;121:50-4.
  88. Bellgrove MA, Hawi Z, Kirley A, Fitzgerald M, Gill M, Robertson IH. Association between dopamine transporter (DAT1) genotype, left-sided inattention, and an enhanced response to methylphenidate in attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology* 2005;12:2290-7.
  89. Langley K, Turic D, Peirce TR, Mills S, Van Den Bree MB, Owen MJ et al. No support for association between the dopamine transporter (DAT1) gene and ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;139:7-10.
  90. van der Meulen EM, Bakker SC, Pauls DL, Oteman N, Kruitwagen CL, Pearson PL et al. High sibling correlation on methylphenidate response but no

association with DAT1-10R homozygosity in Dutch sibpairs with ADHD. *J Child Psychol Psychiatry* 2005;46:1074-80.

91. Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. Influence of dopamine genes on stimulant response in ADHD children. 50th Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. Miami, USA, 2003.
92. Stein MA, Waldman ID, Sarampote CS, Seymour KE, Robb AS, Conlon C et al. Dopamine transporter genotype and methylphenidate dose response in children with ADHD. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:1374-82.
93. Lott DC, Kim SJ, Cook EH, de Wit H. Dopamine Transporter Gene Associated with Diminished Subjective Response to Amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 2005;30:602-9.
94. Tahir E, Yazgan Y, Cirakoglu B, Ozbay F, Waldman I, Asherson PJ. Association and linkage of DRD4 and DRD5 with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in a sample of Turkish children. *Mol Psychiatry* 2000;5:396-404.
95. Ben Amor L, Grizenko N, Schwartz G, Ter-Stepanian N, Torkman-Zehi A, Sengupta S et al. Association between three polymorphisms in the dopamine receptor D4 (DRD4) gene and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A pharmacogenetic study. Abstracts for the XIIth World Congress of Psychiatric Genetics. Burlington Hotel, Dublin, Ireland 9th–13th October 2004 Sponsored by the International Society of Psychiatric Genetics.
96. Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. Dopamine receptor 4 (DRD4) 7-repeat allele predicts methylphenidate dose response in children with attention deficit hyperactivity disorder: a pharmacogenetics study. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2004;14:564-74.
97. Cheon KA, Kim B, Cho S. DRD4 polymorphism and response to methylphenidate in Korean ADHD children. New Research Posters of the AACAP/CACAP. 2005b AACAP/CACAP Scientific Proceedings, pp. 169-70. Toronto, Canada.
98. Hamarman S, Ulger C, Dermody J. ADHD children with -521 DRD4 C/C do not need higher stimulant doses. New Research Posters of the AACAP/CACAP. 2005 AACAP/CACAP Scientific Proceedings, p. 170. Toronto, Canada.
99. Colhoun HM, McKeigue P, Smith GD. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003;361:865-72.



100. Seeger G, Schloss P, Schmidt MH. Marker gene polymorphisms in hyperkinetic disorder--predictors of clinical response to treatment with methylphenidate? *Neurosci Lett* 2001;313:45-8.
101. Gaspar P, Cases O e Maroteaux L The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nature Reviews* 2003;4:1002-11.
102. Quist JF, Kennedy JL. Genetics of childhood disorders. XXIII. ADHD, Part 7: The serotonin system. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2001;40:253-6.

# **Ausência de associação significativa entre resposta clínica e eventos adversos ao metilfenidato e genes dos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico em uma amostra de crianças brasileiras com Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade**

Cristian Patrick Zeni, M.D.<sup>1</sup>; Ana Paula Guimarães M.Sc.<sup>2</sup>; Guilherme V. Polanczyk, M.D.<sup>1</sup>; Julia P. Genro, B.Sc.<sup>2</sup>; Tatiana Roman, Ph.D.<sup>3</sup>; Mara H. Hutz, Ph.D.<sup>2</sup>; Luis Augusto Rohde, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ambulatório de TDAH, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Morfológicas, Fundação Federal Faculdades de Ciências Médicas de Porto Alegre, Brasil.

Correspondência: Dr. Luis Augusto Rohde, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. CEP: 90035-003. E-mail: lrohde@terra.com.br

Este trabalho foi parcialmente patrocinado por verbas de pesquisa de: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) (Bolsa 471761/03-6), Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX, Brasil) e Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Palavras-chave: TDAH, farmacogenética, metilfenidato, dopamina, serotonina.

## RESUMO

Poucos estudos sobre a farmacogenética do Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) foram conduzidos até o momento. A maior parte deles avaliou genes do sistema dopaminérgico, e resultou em achados tanto positivos quanto negativos. Nós avaliamos os efeitos dos polimorfismos em genes candidatos dopaminérgicos (*DRD4*, *DAT1*) e serotoninérgicos (*HTR1B*, *HTR2A* e *5-HTT*) na resposta ao tratamento em pacientes para os quais metilfenidato foi prescrito. As medidas de desfecho (Swanson, Nolan, and Pelham scale - versão IV, Children Global Assessment Scale, Barkley's Stimulants Side Effects Rating Scale) foram avaliadas no momento de avaliação e um mês após a intervenção. Participaram do estudo 111 famílias de crianças e adolescentes eurobrasileiros de ambos os sexos que apresentavam TDAH segundo o DSM-IV. Estes pacientes foram consecutivamente triados no Programa de Déficit de Atenção/Hiperatividade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre janeiro de 2003 e maio de 2004. Não foi detectada nenhuma associação significativa entre os polimorfismos avaliados e resposta ao fármaco ou presença de eventos adversos. Ensaios controlados multicêntricos prospectivos com maiores tamanhos amostrais são necessários para desvendar o papel dos genes candidatos na resposta ao tratamento para o TDAH.

A farmacogenética se refere ao entendimento da base hereditária da variabilidade entre indivíduos na resposta e presença de reações adversas a agentes farmacológicos. (Masellis et al., 2002). O Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) é uma área promissora para estudos de farmacogenética, devido ao fato de que foram demonstrados tanto uma alta herdabilidade (Faraone et al., 2005) quanto uma resposta clinicamente significativa aos agentes farmacológicos (Swanson et al., 2001).

Entre os dezesseis estudos sobre farmacogenética dos genes dopaminérgicos no TDAH encontrados na literatura (para revisões, ver McGough, 2005; Polanczyk et al., 2005), dez estudos avaliaram o gene que codifica o transportador de dopamina (*DAT1*). Em um estudo anterior, encontramos uma associação entre a homozigose do alelo de 10 repetições no *DAT1* e uma pior resposta ao metilfenidato (MPH) (Roman et al., 2002), replicando os resultados prévios de Winsberg e Comings (1999). Recentemente, Cheon et al. (2005a) também replicaram esta associação em uma pequena amostra da Coreia. Entretanto, vários outros pesquisadores encontraram resultados diferentes (Bellgrove et al., 2005; Hamarman et al., 2003; Kirley et al., 2003; Langley et al., 2005; Lott et al., 2005; Stein et al., 2005; Van der Meulen et al., 2005).

Cinco estudos avaliaram a associação entre o polimorfismo de 48-pb (VNTR) do Receptor D4 da dopamina (*DRD4*) e resposta ao MPH. (Ben Amor et al., 2004; Cheon et al., 2005b; Hamarman et al., 2004; Van der Meulen et al., 2005; Winsberg and Comings, 1999). Hamarman et al. (2004) relataram que os pacientes que apresentavam o *DRD4\*7* precisavam de doses mais altas para melhora dos sintomas. Outros estudos não apresentaram associações

significativas entre a presença do *DRD4\*7* e resposta ao MPH. Cheon et al. (2005b) relatou que crianças que apresentavam a homozigose do alelo de 4 repetições do *DRD4* tinham melhor resposta ao MPH.

A integração destes resultados é virtualmente impossível devido a grande diversidade da metodologia entre os estudos. Nossos objetivos no presente estudo foram: 1) verificar a replicabilidade de nossos achados prévios em uma amostra maior completamente independente; e 2) avaliar a associação entre resposta ao metilfenidato e presença de polimorfismos de quatro outros genes candidatos (*DRD4*; *5-HTT*; *HTR1B*; *HTR2A*). Decidimos investigar os genes serotoninérgicos porque eles foram recentemente implicados no TDAH (Faraone et al., 2005) e somente um estudo farmacogenético anterior avaliou o papel do gene *5-HTT* na resposta ao MPH relatando uma pior resposta nos pacientes que apresentavam a combinação dos genótipos *5-HTT\*LL* e *DRD4\*7* (Seeger et al., 2001). Além disso, avaliamos os efeitos dos alelos/genótipos sobre os eventos adversos pela primeira vez. Investigamos especificamente redução de apetite e insônia, pois são os eventos adversos mais proeminentes dos estimulantes (Vitiello, 2001).

A amostra foi composta por crianças e adolescentes consecutivamente avaliadas durante dois anos no Programa Ambulatorial de TDAH do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para as quais tínhamos dados da resposta ao MPH do primeiro mês de tratamento. A investigação foi aprovada pela Comissão de Ética de nosso hospital universitário.

Os critérios de inclusão foram: a) Diagnóstico de TDAH de acordo com os critérios do DSM-IV (APA, 1994); b) idade entre 4 e 17 anos; c) etnia

eurobrasileira; d) sem uso anterior de metilfenidato; e) dose prescrita de MPH  $\geq$  0.3 mg/kg/dia. Os procedimentos diagnósticos em nosso ambulatório estão descritos em detalhe em publicação prévia (Rohde, 2002). Brevemente: o diagnóstico de TDAH e comorbidades são avaliados através de entrevistas semi-estruturadas, discussão diagnóstica em um comitê clínico, e avaliação clínica por um psiquiatra de crianças e adolescentes cegado para o genótipo. O QI foi avaliado através dos subtestes vocabulário e cubos do WISC-III e o nível sócio econômico através da escala ABIPEME. (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa, 2003)

As avaliações foram realizadas antes de iniciar o tratamento com MPH e 30 dias depois. A escala Swanson, Nolan, and Pelham scale - versão IV (SNAP-IV) – a medida primária de desfecho – é uma revisão da Swanson, Nolan and Pelham (SNAP) Questionnaire (Swanson et al., 2001). As suas subescalas geram pontuações para sintomas de desatenção, hiperatividade e oposição. A escala foi completada através de entrevistas com os pais dos sujeitos. As medidas secundárias de desfecho incluíram a Clinical Global Assessment (CGAS - Shaffer et al., 1983) e a Barkley's Side Effect Rating Scale (SERS) para avaliar os eventos adversos de estimulantes (Barkley et al., 1990).

Doses de MPH de curta ação foram aumentadas até não haver possibilidade de melhora clínica, ou se houvesse eventos adversos limitantes. A dose média de metilfenidato prescrito foi de 0.5 mg/kg/dia.

DNA genômico de alto peso molecular foi extraído a partir de linfócitos por um procedimento "salting out" (Lahiri and Nurberger, 1991). As regiões dos polimorfismos a serem analisados foram genotipadas usando primers e protocolos

específicos para cada um deles, descritos previamente (ver Sano et al., 1993; Lichter et al., 1993; Heils et al., 1996; Ozaki et al., 1996; Lappalainen et al., 1993).

Os efeitos da presença de alelos ou genótipos específicos sobre as medidas de desfecho em um mês de tratamento foram avaliados através da ANCOVA (análise de covariância) considerando os escores basais como covariáveis. Os potenciais confundidores (características demográficas, QI, tipo de TDAH, comorbidades, uso prévio de medicação, e dose de MPH) foram incluídos como covariáveis com base em uma análise conceitual da literatura e usando uma definição estatística (associação com ambos fator em estudo e desfecho com um  $P \leq 0.10$ ). Além disto, restringimos as análises para os pacientes apresentando escores basais  $> 1$  nas subescalas da SNAP-IV e  $< 70$  na CGAS para permitir espaço suficiente para melhora, como foi feito em investigações prévias (Roman et al., 2002; Winsberg e Comings, 1999). Um nível de significância de 1% foi aceito em todas as análises devido à testagem múltipla. Os testes eram bicaudais.

Durante o período do estudo, 111 famílias cujos filhos preencheram os critérios de inclusão aceitaram participar da investigação. Perdemos dados de 5 sujeitos: dados basais inválidos (2 casos), uso irregular de MPH (2 casos), e problemas na genotipagem (1 caso). A idade média na amostra 10.26 anos (dp: 3.07); 82 pacientes (77.4%) eram do sexo masculino. O QI médio da amostra foi de 94,06 (desvio padrão - dp=15,07). Transtorno de Conduta estava presente em 17 pacientes (16%), Transtorno de Oposição Desafiante (TOD) em 55 pacientes (51.9%), Transtorno de Humor eram presentes em 10 sujeitos (9,4%), e Transtornos de Ansiedade em 25 (23.8%). A média dos valores basais e desvio padrão das medidas de desfecho foram, respectivamente: Snap-IV – subescala

desatenção: 1,29 (dp=0,56); Snap-IV subescala hiperatividade: 1,07 (dp=0,66); Snap IV subescala oposição: 0,87 (dp=0,60); Snap IV total: 1,08 (dp=0,51) e CGAS: 65,94 (dp=10,24). A pontuação média da SERS basal foi de 34,67, e o desvio padrão de 21,10. 11 pacientes (10,4%) realizaram tratamento psicossocial prévio á entrada em nosso programa, 7 (6,6%) fizeram uso de outras medicações previamente e 10 (9,4%) receberam outra medicação concomitante ao metilfenidato. Os casos não coletados devido à recusa dos pais ou do paciente (por oposição ou sintomas fóbicos) foram comparados com os casos coletados, e nenhuma diferença significativa foi encontrada.

Para confirmar inicialmente a eficácia do tratamento com MPH nesta amostra, nós exploramos os efeitos do seu uso no escore total da SNAP-IV durante o primeiro mês de tratamento. Uma redução nos escores totais foi detectada durante o período de seguimento (n=95; t = 11.09;  $P < 0.001$ ; Tamanho de Efeito = 1.15).

Não conseguimos detectar efeitos significativos dos polimorfismos/genótipos investigados sobre a resposta ao MPH no escore total da SNAP-IV, ou em qualquer domínio dimensional da SNAP-IV e na CGAS (Tabela I). Além disto, nenhum efeito foi detectado sobre efeitos adversos, assim como nenhum efeito sobre insônia ou redução de apetite foi encontrado (Tabela II)

INSERIR AS TABELAS I e II AQUI

Não conseguimos replicar os achados de nosso estudo anterior que demonstrou uma significativa pior resposta ao metilfenidato nos pacientes com o genótipo 10/10 no *DAT1*. Conforme sugerido por Colhoun et al. (2003), isto não é



um achado inesperado em estudos tentando replicar achados anteriores no campo da genética molecular, dada a heterogeneidade real que pode existir entre as amostras dos estudos de associação gene-resposta, ou porque pode faltar poder aos estudos secundários para encontrar os mesmos achados positivos. Entretanto, este foi o primeiro estudo a avaliar uma amostra maior completamente independente na mesma população. Os achados relacionados ao *DRD4\*7* são semelhantes aos de Winsberg and Commings (1999) e Ben Amor (2004), que relataram não ter encontrado nenhuma associação significativa entre resposta ao tratamento e genótipos, mas diferem dos achados de Hamarman et al. (2004).

As diferenças entre os resultados dos estudos possivelmente refletem questões metodológicas, tais como tamanhos amostrais, certas características importantes dos pacientes (inclusão de pacientes sem uso prévio de medicação, diferentes etnias ou comorbidades), avaliação por pais ou professores, avaliação retrospectiva ou prospectiva da resposta ao tratamento, diferentes instrumentos de medida de desfecho, entre outros (ver Polanczyk et al., 2005).

Este foi o primeiro estudo a avaliar especificamente os efeitos dos genes serotoninérgicos na resposta ao MPH e na presença de eventos adversos. Nossos achados não sinalizam nenhuma associação.

Algumas limitações devem ser consideradas no entendimento destes resultados. Não havia um grupo controle com placebo neste ensaio, assim que não tínhamos um controle interno para correção de qualquer efeito de tempo. Entretanto, a razão de melhora dos sintomas de TDAH foi semelhante á encontrada nos ensaios clínicos controlados com placebo. Como realizamos

análises estatísticas bastante conservadoras (p valor em nível 0.01 e inclusão de potenciais confundidores com covariáveis) em uma amostra de tamanho moderado, não podemos excluir a presença de Erro tipo II. Grupos colaborativos multicêntricos maiores, como o ADHD Molecular Genetics Network são necessários para lidar com essa limitação potencial.

A publicação de achados negativos é relevante (Colhoun et al., 2003), especialmente em uma área com poucos estudos, e sua maior parte apresentado achados discrepantes. Nossos achados podem auxiliar outros investigadores na decisão de onde colocar seus esforços em novos estudos farmacogenéticos.

## REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Diseases, fourth edition (DSM-IV). Washington, DC: APA.

Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. 2003. Critério de classificação econômica Brasil. Available at: <http://www.anep.org.br/codigosguias/CCEB.pdf>. Accessed April 18, 2005

Barkley RA. 1990. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: A Handbook for Diagnosis and Treatment. New York: Guilford Press.

Bellgrove MA, Hawi Z, Kirley A, Fitzgerald M, Gill M, Robertson IH. 2005. Association between dopamine transporter (*DAT1*) genotype, left-sided inattention, and an enhanced response to methylphenidate in attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology* 12:2290-2297.

Ben Amor L, Grizenko N, Schwartz G, Ter-Stepanian N, Torkman-Zehi A, Sengupta S, Lageix P, Baron C, Mbekou V, Joober R. 2004. Association between three polymorphisms in the dopamine receptor D4 (*DRD4*) gene and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A pharmacogenetic study. Abstracts for the XII World Congress of Psychiatric Genetics, p. 92. Dublin, Ireland.

Cheon KA, Ryu YH, Kim JW, Cho DY. 2005a. 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.

Cheon KA, Kim B, Cho S. 2005b. *DRD4* polymorphism and response to methylphenidate in Korean ADHD children. New Research Posters of the AACAP/CACAP. AACAP/CACAP Scientific Proceedings, pp. 169-170. Toronto, Canada.

Colhoun HM, McKeigue P, Smith GD. 2003. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 361: 865-872.

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.

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. 2003. Influence of dopamine genes on stimulant response in ADHD children. Scientific Proceedings of the 50th Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. p. 36. Miami, USA.

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. 2004. Dopamine receptor 4 (*DRD4*) 7-repeat allele predicts methylphenidate dose response in children with attention deficit hyperactivity disorder: a pharmacogenetic study. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 14: 564-574.

Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. 1996. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression, *J. Neurochem* 66: 2621–2624.

Kirley A, Lowe N, Hawi Z, Mullins C, Daly G, Waldman I, McCarro M, O'Donnel D, Fitzgerald M, Gill M. 2003. Association of the 480 bp *DAT1* allele with

methylphenidate response in a sample of Irish children with ADHD. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatr Genet)* 121B : 50-54.

Lahiri DK, Nurberger JI. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 19:5444.

Langley K, Turic D, Peirce TR, Mills S, Van Den Bree MB, Owen MJ, O'donovan MC, Thapar A. 2005. No support for association between the dopamine transporter (*DAT1*) gene and ADHD. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatr Genet)* 139:7-10.

Lappalainen J, Dean M, Charbonneau L, Virkkunen M, Linnoila M, Goldman D. 1995. Mapping of the serotonin *5-HT1D* beta autoreceptor gene on chromosome 6 and direct analysis for sequence variants. *Am J Med Genet* 24; 60:157-161.

Lichter JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kidd KK, Livak KJ. 1993. A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (*DRD4*) gene. *Hum Mol Genet* 2:767-773.

Lott DC, Kim SJ, Cook EH, de Wit H. 2005. Dopamine Transporter Gene Associated with Diminished Subjective Response to Amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 30:602-609.

Masellis M, Basile VS, Muglia P, Ozdemir V, Macciardi FM, Kennedy JL. 2002. Psychiatric Pharmacogenetics: personalizing psychostimulant therapy in attention deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research* 130: 85-90.

McGough JJ. 2005. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Pharmacogenomics. *Biol Psychiatry* 57: 1367-1373.

Ozaki N, Rosenthal NE, Ullamari P, Lappalainen J, Feldman-Naim S, Schwartz PJ, Turner E, Goldman D. 1996. Two naturally occurring amino acid substitutions of the *5-HT<sub>2A</sub>* receptor: similar prevalence in patients with seasonal affective disorder and controls. *Biol Psychiatry* 40: 1267-1272.

Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA. 2005. Attention-deficit/hyperactivity disorder: advancing on pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 6: 225-234.

Rohde LA. 2002. ADHD in Brazil: the DSM-IV criteria in a culturally different population. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 41:1131-1133.

Roman T, Szobot C, Martins S, Biederman J, Rohde LA, Hutz MH. 2002. Dopamine transporter gene and response to methylphenidate in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pharmacogenetics* 12: 497-499.

Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. 1993. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 91: 405-406.

Seeger G, Schloss P, Schmidt MH. 2001. Marker gene polymorphisms in hyperkinetic disorder--predictors of clinical response to treatment with methylphenidate? *Neurosci Lett* 313:45-48.

Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, Aluwahlia S. 1983. A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry* 40:1228-1231.

Stein MA, Waldman ID, Sarampote CS, Seymour KE, Robb AS, Conlon C, Kim SJ, Cook EH. 2005. Dopamine transporter genotype and methylphenidate dose response in children with ADHD. *Neuropsychopharmacology* 30:1374-1382.

Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB, Clevenger W, Davies M, Elliot GR, Greenhill LL, Hechtman L, Hoza B, Jensen P, March JS, Newcorn J, Owens EB, Pelham WE, Schiller E, Severe JB, Simpson S, Vitiello B, Wells K, Wigal T, Wu M. 2001. Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 40: 168-179.

Van der Meulen EM, Bakker SC, Pauls DL, Oteman N, Kruitwagen CL, Pearson PL, Sinke RJ, Buitelaar JK. 2005. High sibling correlation on methylphenidate response but no association with *DAT1*-10R homozygosity in Dutch sibpairs with ADHD. *J Child Psychol Psychiatry* 46:1074-1080.

Vitiello B. 2001. Long-term side effects of stimulant medications on the brain: possible relevance to the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 11: 25-34.

Winsberg BG, Comings DE. 1999. Association of the dopamine transporter gene (*DAT1*) with poor methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 38(12): 1474-1477.

Tabela I. Associação dos Polimorfismos dos Genes Candidatos e Reposta ao MPH - ANCOVA nas Medidas de Desfecho após 1 mês de tratamento com MPH (dose média prescrita = 0,5 mg/kg/dia) em 111 crianças e adolescentes com TDAH de acordo com o DSM-IV.

Gene	Polimorfismo/Genótipo	SNAP Total (n=95)		SNAP Desatenção (n=106)		SNAP Hiperatividade (n=83)		SNAP Oposição (n=66)		CGAS (n=101)	
		F	p	F	p	F	P	F	p	F	P
<i>DAT1</i>	Homozigose 10R	0,32 <sup>a</sup>	0,57	0,08	0,77	0,54	0,46	0,23 <sup>b</sup>	0,88	0,40 <sup>a</sup>	0,52
	Homozigose 9R	0,44	0,50	0,10 <sup>c</sup>	0,74	0,49 <sup>a</sup>	0,48	0,27 <sup>c</sup>	0,60	0,08 <sup>c,d</sup>	0,76
<i>DRD4</i>	Presença 7R	0,62 <sup>e</sup>	0,43	0,09	0,75	1,88 <sup>a,e</sup>	0,17	0,21 <sup>e</sup>	0,88	0,03	0,85
	Homozigose 44R	0,13	0,71	0,01	0,91	1,18	0,27	0,37	0,54	0,07	0,78
<i>5-HTT</i>	Homozigose LL	0,06	0,80	0,22	0,63	1,10 <sup>e</sup>	0,29	0,47 <sup>e</sup>	0,49	1,79	0,18
<i>HTR1B</i>	Presença alelo G	2,90	0,09	0,27	0,60	1,81	0,18	0,12	0,72	0,00	0,97
<i>HTR2A</i>	Homozigose His	0,07 <sup>f</sup>	0,78	0,49	0,48	0,06	0,80	0,47	0,49	0,00	0,93

Covariáveis consideradas nas análises (quando na comparação entre os grupos,  $p \leq 0.20$ ): a) Transtorno de Oposição Desafiante; b) Transtorno de Ansiedade; c) Uso prévio de medicação (exceto MPH); d) dose de MPH; e) Transtorno de Conduta; f) uso de MPH e medicação concomitante. O valor basal das medidas foi considerado uma covariável em todas as análises.



Tabela II. Associação dos Polimorfismos dos Genes Candidatos e Eventos adversos dos Estimulantes - ANCOVA das Medidas de Eventos Adversos dos estimulantes após 1 mês de tratamento com MPH (dose média prescrita = 0,5 mg/kg/dia) em 111 crianças e adolescentes com TDAH de acordo com o DSM-IV.

Gene	Polimorfismo/Genótipo	SERS (n=106)		Insônia (n=97)		Redução de Appetite (n=97)	
		F	p	F	P	F	P
<i>DAT1</i>	Homozigose 10R	0,45 <sup>a</sup>	0,50	0,80 <sup>a</sup>	0,37	0,14 <sup>a</sup>	0,90
	Homozigose 9R	0,26	0,61	2,27	0,13	0,34	0,55
<i>DRD4</i>	Presença 7R	0,48	0,48	0,00	0,97	0,38	0,53
	Homozigose 44R	0,60	0,43	1,85	0,17	0,21	0,64
<i>5-HTT</i>	Homozigose LL	0,86	0,35	0,37	0,54	0,00	0,95
<i>HTR1B</i>	Presença alelo G	0,00 <sup>b</sup>	0,99	0,40 <sup>b</sup>	0,52	0,09 <sup>b</sup>	0,75
<i>HTR2A</i>	Homozigose His	0,00	0,92	0,46	0,49	1,03	0,31

Covariáveis consideradas nas análises (quando na comparação entre os grupos através de  $\chi^2$ ,  $p < 0.20$ ): a) Transtorno de Oposição Desafiante; b) TDAH – subtipo combinado. O valor basal das medidas foi considerado uma covariável em todas as análises.

**No significant association between clinical response and adverse events to methylphenidate and genes of the dopaminergic and serotonergic systems in a sample of Brazilian children with Attention–Deficit/Hyperactivity Disorder**

Cristian Patrick Zeni, M.D.<sup>1</sup>; Ana Paula Guimarães, M.Sc.<sup>2</sup>, Guilherme V. Polanczyk, M.D.<sup>1</sup>; Julia P. Genro, M.Sc.; Tatiana Roman, Ph.D.<sup>3</sup>; Mara H. Hutz, Ph.D.<sup>2</sup>; Luis Augusto Rohde, M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ADHD outpatient clinic, Child and Adolescent Psychiatric Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>2</sup>Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Morphological Sciences, Federal School of Medical Sciences of Porto Alegre, Brazil.

Correspondence to: Dr. Luis Augusto Rohde, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Zip code: 90035-003.

This work was partially supported by research grants from: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) (Grant 471761/03-6) Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX, Brazil), and Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Word count: 2906

2 Tables

Running title: ADHD Pharmacogenetics

Key-words: ADHD, pharmacogenetics, methylphenidate, dopamine, serotonin.

## ABSTRACT

Few studies on pharmacogenetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder have been conducted. Most of them evaluated dopaminergic genes resulting in positive and negative findings. We assessed effects of polymorphisms in candidate dopaminergic (*DRD4*, *DAT1*) and serotonergic genes (*HTR1B*, *HTR2A*, and the 5-*HTT*) on the response to treatment in patients for whom methylphenidate was prescribed. Outcome measures (Swanson, Nolan, and Pelham scale - version IV, Children Global Assessment Scale, Barkley's Stimulants Side Effects Rating Scale) were assessed at baseline and one month after the intervention. 111 families of eurobrazilian children and adolescents of both genders who presented ADHD according to DSM-IV joined the study. These patients were consecutively evaluated in the Attention-Deficit/Hyperactivity Outpatient Program of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre from January, 2003 to May, 2004. No significant association was detected between polymorphisms assessed and both response and side effects to methylphenidate. Prospective multi-site controlled studies with larger sample sizes are needed in order to disentangle the role of candidate genes in response to ADHD treatment.

Pharmacogenetics refers to the understanding of the hereditary basis for variability in response and adverse reactions to pharmacological agents among individuals (Masellis et al., 2002). Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) is a very promising area for pharmacogenetic studies, since both huge heritability for the disorder (Faraone et al., 2005) and clinically significant response to pharmacological agents have been documented (Swanson et al., 2001).

Among the sixteen ADHD pharmacogenetic dopaminergic studies in the literature (for reviews, see McGough, 2005; Polanczyk et al., 2005), ten investigations addressed the Dopamine Transporter gene (*DAT1*). In a previous study, we found an association between homozygosity for the 10-repeat allele at *DAT1* and worse response to methylphenidate (MPH) (Roman et al., 2002), replicating previous results from Winsberg and Commings (1999). Recently, Cheon et al. (2005a) also replicated this association in a small sample from Korea. However, several others found different results (Bellgrove et al., 2005; Hamarman et al., 2003; Kirley et al., 2003; Langley et al., 2005; Lott et al., 2005; Stein et al., 2005; Van der Meulen et al., 2005).

Five studies addressed the association between the 48-bp VNTR polymorphism at the D4 Dopamine Receptor (*DRD4*) and response to MPH (Ben Amor et al., 2004; Cheon et al., 2005b; Hamarman et al., 2004; Van der Meulen et al., 2005; Winsberg and Commings, 1999). Hamarman et al. (2004) found that patients presenting the 7 repeat allele at *DRD4* (*DRD4\*7*) required higher doses for symptom improvement. Other studies did not find significant association between *DRD4\*7* and response to MPH. Cheon et al. (2005b) reported that children who

were homozygous for the 4-repeat allele at the *DRD4* presented a better response to MPH.

The integration of these findings is virtually impossible due to extreme methodological diversity among studies. Our objectives in the present study were: 1) to check the replicability of our previous findings in a completely independent larger sample; and 2) to evaluate the association between response to methylphenidate and polymorphisms at four other candidate genes (*DRD4*; *5-HTT*; *HTR1B*; *HTR2A*). We decided to investigate serotonergic genes since they have been recently implicated in ADHD (Faraone et al., 2005) and only one previous pharmacogenetic study has assessed the role of the *5-HTT* in response to MPH reporting a reduced improvement in those presenting *5-HTT\*LL* and *DRD4\*7* genotype (Seeger et al., 2001). Additionally, we assessed the effects of allele/genotypes on adverse events for the first time. We assessed specifically appetite reduction and insomnia, since they are the most prominent side effects of stimulants (Vitiello, 2001).

The sample comprised children and adolescents consecutively evaluated during two years in the ADHD Outpatient Program at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre for whom we had data on response to MPH for the first month of treatment. The investigation was approved by the Ethical Committee of our University Hospital.

The inclusion criteria were: a) ADHD diagnosis according to DSM-IV criteria (APA, 1994); b) age between 4 and 17 years-old; c) European-Brazilian ethnicity; d) drug naïve for MPH; e) prescribed dose of MPH  $\geq$  0.3 mg/kg/day. The diagnostic procedures in our unit were extensively described elsewhere (Rohde, 2002).

Briefly, diagnoses of ADHD and comorbidities were achieved through semi-structured interviews, diagnostic discussion in a clinical committee, and clinical evaluation by child psychiatrists blind to the genotype. IQ was assessed through the vocabulary and cubes subscales of the WISC-III test, and socioeconomic level through the ABIPEME scale.(Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa, 2003)

Assessments were performed at baseline and after 30 days of treatment with MPH. The Swanson, Nolan, and Pelham scale - version IV (SNAP-IV) - the primary outcome measure – is a revision of the Swanson, Nolan and Pelham (SNAP) Questionnaire (Swanson et al., 2001). Its subscales provide scores for inattention, hyperactivity and oppositional symptoms. The scale was completed by the subjects' parents. Secondary outcome measures included the Clinical Global Assessment (CGAS - Shaffer et al., 1983) and the Barkley's Stimulants Side Effects Rating Scale (SERS) to assess stimulants side events (Barkley et al., 1990).

Doses of short-acting MPH were augmented until there was no further clinical improvement or there were limiting side effects. Mean dose of MPH prescribed was 0.5 mg/kg/day.

High molecular weight genomic DNA was extracted from whole blood lymphocytes by a salting out procedure (Lahiri and Nurberger, 1991). The polymorphic regions were amplified and genotyped using specific primers and protocols described previously (see Heils et al., 1996; Lappalainen et al., 1993; Lichter et al., 1993; Ozaki et al., 1996; Sano et al., 1993).

Effects of the presence of specific alleles or genotypes on outcome measures at 1 month of treatment were assessed through ANCOVA considering baseline scores as covariates. Potential confounders (demographic characteristics, IQ, ADHD type, comorbidity, previous use of medication, and MPH dose) were included as covariables based on conceptual analyses of the literature and using a statistical definition (association with both the study factor and outcome for a  $P \leq 0.10$ ). In addition, we restricted analyses to patients presenting baseline scores  $> 1$  in the SNAP-IV subscales and  $< 70$  in the CGAS to allow sufficient room for improvement as it has been done in previous investigations (Roman et al., 2002; Winsberg and Comings, 1999). A significance level of 1 % was accepted in all analyses due to multiple testing. Tests were two-tailed.

During the study period, 111 families accepted to take part of the study and their affected children fulfilled inclusion criteria. We lost data for 5 subjects: invalid baseline data (2 cases), irregular use of MPH (2 cases), and problems in genotyping (1 case). The mean age in the sample was 10.26 years (SD: 3.07); 82 patients (77.4%) were male. Mean IQ was 94.06 (SD=15.07). Conduct Disorder was present in 17 patients (16%), Oppositional Defiant Disorder (ODD) in 55 patients (51.9%), Mood Disorders were present in 10 subjects (9.4%), and Anxiety Disorders in 25 (23.8%). Mean baseline scores were: Snap-IV – inattention subscale: 1.29 (SD=0.56); Snap-IV hyperactivity subscale: 1.07 (SD=0.66); Snap-IV opposition subscale: 0.87 (SD=0.60); Total Snap-IV score: 1.08 (SD=0.51), and CGAS: 65.94 (SD=10.24). Mean baseline SERS score was 34.67 (SD=21.10). 11 patients (10.4%) underwent psychosocial intervention before joining our program; 7 (6.6%) used other medication other than methylphenidate previously to our

evaluation, and 10 (9.4%) received another medication concomitantly to methylphenidate. Cases not collected due to parental or child refusal (because of phobic or oppositional symptoms) were compared to the collected sample, and no significant difference was found.

We were not able to detect significant effects of the polymorphisms/genotypes assessed on the response to MPH in both SNAP-IV total and subscale scores and in the CGAS scores (Table I). In addition, no effect on adverse events was detected. Moreover, no effect was detected on appetite reduction or insomnia (Table II).

INSERT TABLE I and II AROUND HERE

We were not able to replicate findings from our previous study suggesting a significant worse response to MPH in patients with the *DAT1* 10/10 genotype. As suggested by Colhoun et al. (2003), this is not an unexpected result in studies trying to replicate previous findings in the molecular genetics arena, since true heterogeneity in gene-response associations might exist among samples or these secondary studies may lack power to observe the same previous positive findings. However, this has been the first study to assess a completely independent larger sample in the same population. The results regarding *DRD4\*7* concur with those from Winsberg and Commings (1999) and Ben Amor (2004), who reported no association between response to treatment and genotypes, but differ from Hamarman et al. (2004) findings.

The discrepancies in results among studies possibly reflect methodological issues, such as sample sizes, important patients characteristics (inclusion of drug



naïve patients, different ethnicities and comorbidities), different study design (prospective or retrospective; clinical trial or naturalistic), information sources and instruments to assess drug response (see Polanczyk et al., 2005).

This has been the first study to assess specifically effects of serotonergic genes on response to MPH and adverse events. Our findings do not suggest any association.

Some limitations should be considered in the understanding of our results. We did not have a placebo arm in this trial, so we did not have an internal control for any effect of time. However, the rate of improvement of ADHD symptoms was similar to those generally found in placebo-controlled studies (significant reduction in the SNAP total scores along time -  $P < 0.001$ ; Effect Size = 1.15; data available upon request). Since we performed very conservative analyses (p value set at 0.01 level and inclusion of potential confounders in analyses as covariables) in a moderate sample, we can not exclude Error type II. Larger multicenter collaborative groups as the ADHD Molecular Genetics Network are needed to deal with this potential limitation.

Publication of negative findings are relevant (Colhoun et al., 2003), especially in an area with few studies and the majority of them reporting discrepant results. Our findings might also serve to guide other investigators in deciding where to put efforts in new pharmacogenetic studies.

## REFERENCES

American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Diseases, fourth edition (DSM-IV). Washington, DC: APA.

Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. 2003. Critério de classificação econômica Brasil. Available at: <http://www.anep.org.br/codigosguias/CCEB.pdf>. Accessed April 18, 2005

Barkley RA. 1990. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: A Handbook for Diagnosis and Treatment. New York: Guilford Press.

Bellgrove MA, Hawi Z, Kirley A, Fitzgerald M, Gill M, Robertson IH. 2005. Association between dopamine transporter (*DAT1*) genotype, left-sided inattention, and an enhanced response to methylphenidate in attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology* 12:2290-2297.

Ben Amor L, Grizenko N, Schwartz G, Ter-Stepanian N, Torkman-Zehi A, Sengupta S, Lageix P, Baron C, Mbekou V, Joobor R. 2004. Association between three polymorphisms in the dopamine receptor D4 (*DRD4*) gene and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A pharmacogenetic study. Abstracts for the XII World Congress of Psychiatric Genetics, p. 92. Dublin, Ireland.

Cheon KA, Ryu YH, Kim JW, Cho DY. 2005a. 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.

Cheon KA, Kim B, Cho S. 2005b. *DRD4* polymorphism and response to methylphenidate in Korean ADHD children. New Research Posters of the AACAP/CACAP. AACAP/CACAP Scientific Proceedings, pp. 169-170. Toronto, Canada.

Colhoun HM, McKeigue P, Smith GD. 2003. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 361: 865-872.

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.

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. 2003. Influence of dopamine genes on stimulant response in ADHD children. Scientific Proceedings of the 50th Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. p. 36. Miami, USA.

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J. 2004. Dopamine receptor 4 (*DRD4*) 7-repeat allele predicts methylphenidate dose response in children with attention deficit hyperactivity disorder: a pharmacogenetic study. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 14: 564-574.

Heils A, Teufel A, Petri S, Stober G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. 1996. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression, *J. Neurochem* 66: 2621–2624.

Kirley A, Lowe N, Hawi Z, Mullins C, Daly G, Waldman I, McCarro M, O'Donnel D, Fitzgerald M, Gill M. 2003. Association of the 480 bp *DAT1* allele with

methylphenidate response in a sample of Irish children with ADHD. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatr Genet)* 121B : 50-54.

Lahiri DK, Nurnberger Jr. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 19:5444.

Langley K, Turic D, Peirce TR, Mills S, Van Den Bree MB, Owen MJ, O'donovan MC, Thapar A. 2005. No support for association between the dopamine transporter (*DAT1*) gene and ADHD. *Am J Med Genet B (Neuropsychiatr Genet)* 139:7-10.

Lappalainen J, Dean M, Charbonneau L, Virkkunen M, Linnoila M, Goldman D. 1995. Mapping of the serotonin *5-HT1D* beta autoreceptor gene on chromosome 6 and direct analysis for sequence variants. *Am J Med Genet* 24; 60:157-161.

Lichter JB, Barr CL, Kennedy JL, Van Tol HH, Kidd KK, Livak KJ. 1993. A hypervariable segment in the human dopamine receptor D4 (*DRD4*) gene. *Hum Mol Genet* 2:767-773.

Lott DC, Kim SJ, Cook EH, de Wit H. 2005. Dopamine Transporter Gene Associated with Diminished Subjective Response to Amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 30:602-609.

Masellis M, Basile VS, Muglia P, Ozdemir V, Macciardi FM, Kennedy JL. 2002. Psychiatric Pharmacogenetics: personalizing psychostimulant therapy in attention deficit/hyperactivity disorder. *Behavioural Brain Research* 130: 85-90.

McGough JJ. 2005. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Pharmacogenomics. *Biol Psychiatry* 57: 1367-1373.

Ozaki N, Rosenthal NE, Ullamari P, Lappalainen J, Feldman-Naim S, Schwartz PJ, Turner E, Goldman D. 1996. Two naturally occurring amino acid substitutions of the *5-HT2A* receptor: similar prevalence in patients with seasonal affective disorder and controls. *Biol Psychiatry* 40: 1267-1272.

Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA. 2005. Attention-deficit/hyperactivity disorder: advancing on pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 6: 225-234.

Rohde LA. 2002. ADHD in Brazil: the DSM-IV criteria in a culturally different population. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 41:1131-1133.

Roman T, Szobot C, Martins S, Biederman J, Rohde LA, Hutz MH. 2002. Dopamine transporter gene and response to methylphenidate in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Pharmacogenetics* 12: 497-499.

Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. 1993. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 91: 405-406.

Seeger G, Schloss P, Schmidt MH. 2001. Marker gene polymorphisms in hyperkinetic disorder--predictors of clinical response to treatment with methylphenidate? *Neurosci Lett* 313:45-48.

Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, Aluwahlia S. 1983. A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry* 40:1228-1231.

Stein MA, Waldman ID, Sarampote CS, Seymour KE, Robb AS, Conlon C, Kim SJ, Cook EH. 2005. Dopamine transporter genotype and methylphenidate dose response in children with ADHD. *Neuropsychopharmacology* 30:1374-1382.

Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB, Clevenger W, Davies M, Elliot GR, Greenhill LL, Hechtman L, Hoza B, Jensen P, March JS, Newcorn J, Owens EB, Pelham WE, Schiller E, Severe JB, Simpson S, Vitiello B, Wells K, Wigal T, Wu M. 2001. Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 40: 168-179.

Van der Meulen EM, Bakker SC, Pauls DL, Oteman N, Kruitwagen CL, Pearson PL, Sinke RJ, Buitelaar JK. 2005. High sibling correlation on methylphenidate response but no association with *DAT1*-10R homozygosity in Dutch sibpairs with ADHD. *J Child Psychol Psychiatry* 46:1074-1080.

Vitiello B. 2001. Long-term side effects of stimulant medications on the brain: possible relevance to the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 11: 25-34.

Winsberg BG, Comings DE. 1999. Association of the dopamine transporter gene (*DAT1*) with poor methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 38: 1474-1477.

Table I. Association of Candidate Gene Polymorphisms and Response to MPH – ANCOVA in Outcome Measures after 1 month of treatment with MPH (mean doses prescribed = 0.5mg/kg/day) in 111 children and adolescents with DSM-IV ADHD.

Gene	Polymorphism/Genotype	Total SNAP (n=95)		SNAP Inattention (n=106)		SNAP Hyperactivity (n=83)		SNAP Opposition (n=66)		CGAS (n=101)	
		F	p	F	p	F	P	F	p	F	P
<i>DAT1</i>	Homozygous 10R	0,32 <sup>a</sup>	0,57	0,08	0,77	0,54	0,46	0,23 <sup>b</sup>	0,88	0,40 <sup>a</sup>	0,52
	Homozygous 9R	0,44	0,50	0,10 <sup>c</sup>	0,74	0,49 <sup>a</sup>	0,48	0,27 <sup>c</sup>	0,60	0,08 <sup>c,d</sup>	0,76
<i>DRD4</i>	Presence 7R	0,62 <sup>e</sup>	0,43	0,09	0,75	1,88 <sup>a,e</sup>	0,17	0,21 <sup>e</sup>	0,88	0,03	0,85
	Homozygous 44R	0,13	0,71	0,01	0,91	1,18	0,27	0,37	0,54	0,07	0,78
<i>5-HTT</i>	Homozygous LL	0,06	0,80	0,22	0,63	1,10 <sup>e</sup>	0,29	0,47 <sup>e</sup>	0,49	1,79	0,18
<i>HTR1B</i>	Allele G	2,90	0,09	0,27	0,60	1,81	0,18	0,12	0,72	0,00	0,97
<i>HTR2A</i>	Homozygous His	0,07 <sup>f</sup>	0,78	0,49	0,48	0,06	0,80	0,47	0,49	0,00	0,93

Confounders considered in analyses ( $\chi^2$ ,  $p < 0.20$ ): a) Oppositional Defiant Disorder; b) Anxiety Disorder; c) Previous use of medication (other than MPH); d) MPH dose; e) Conduct Disorder; f) use of concomitant medication. Baseline values were considered as covariates in all analyses.

Table II. Association of Candidate Gene Polymorphisms and Stimulants Side Effects - ANCOVA in Adverse Events after 1 month of treatment with MPH (mean doses prescribed = 0.5mg/kg/day) in 111 children and adolescents with DSM-IV ADHD.

Gene	Polymorphism/Genotype	SERS (n=106)		Insomnia (n=97)		Appetite Reduction (n=97)	
		F	p	F	P	F	P
<i>DAT1</i>	Homozygous 10R	0,45 <sup>a</sup>	0,50	0,80 <sup>a</sup>	0,37	0,14 <sup>a</sup>	0,90
	Homozygous 9R	0,26	0,61	2,27	0,13	0,34	0,55
<i>DRD4</i>	Presence 7R	0,48	0,48	0,00	0,97	0,38	0,53
	Homozygous 44R	0,60	0,43	1,85	0,17	0,21	0,64
<i>5-HTT</i>	Homozygous LL	0,86	0,35	0,37	0,54	0,00	0,95
<i>HTR1B</i>	Allele G	0,00 <sup>b</sup>	0,99	0,40 <sup>b</sup>	0,52	0,09 <sup>b</sup>	0,75
<i>HTR2A</i>	Homozygous His	0,00	0,92	0,46	0,49	1,03	0,31

Confounders considered in analyses ( $\chi^2$ ,  $p < 0.20$ ): a) Oppositional Defiant Disorder; b) ADHD – Combined Subtype. Baseline values were considered as covariates in all analyses.



## DISCUSSÃO

O aumento de estudos farmacogenéticos é notável, considerando que o primeiro estudo sobre o efeito dos genes dopaminérgicos na resposta aos estimulantes foi realizado em 1999. Em menos de dez anos, 16 estudos foram conduzidos. Porém, muito ainda deve ser explorado para que uma melhor compreensão da farmacogenética do TDAH possa ser atingida.

Nossos achados em relação aos genes dopaminérgicos corroboram resultados prévios demonstrando a ausência de efeito destes genes na resposta clínica ao metilfenidato em pacientes com TDAH.

Este é o primeiro estudo que temos acesso na literatura sobre o efeito de genes serotoninérgicos na resposta ao metilfenidato. Da mesma forma, é inovador ao avaliar o efeito de genes nos eventos adversos associados à medicação. Nenhum resultado positivo foi encontrado. Porém, novos estudos necessitam ser realizados.

As análises destes polimorfismos não excluem que outros sejam os responsáveis pela resposta clínica e pelo surgimento de eventos adversos secundários ao tratamento. Entretanto, as análises foram baseadas em todos os dados disponíveis na literatura sobre a farmacogenética do TDAH dos genes avaliados.

Muitos dados ainda devem ser explorados antes que se possa dizer que este estudo está terminado. Outras formas de análise também podem e serão realizadas, um número maior de pacientes deve ser alocado, assim como o uso de medidas categóricas ao invés de dimensionais nas análises estatísticas ou o uso

dos subtipos de TDAH ou apenas de casos graves ou do estudo de diferentes níveis socioeconômicos; a avaliação dimensional das doses dos fármacos e sua relação com os polimorfismos também deverá ser avaliada, e uma investigação da interação entre os sistemas dopaminérgico, noradrenérgico e serotoninérgico também deve ser conduzida. Muito ainda há por ser feito. Este trabalho é uma contribuição importante na área, sobretudo pelo controle de confundidores e pela análise de diversos polimorfismos em genes de diferentes sistemas monoaminérgicos, em uma amostra de tamanho moderado. Vários outros trabalhos estão sendo realizados a partir desta investigação, dos quais citamos como exemplos o estudo farmacogenético de genes noradrenérgicos, a interação entre os testes neuropsicológicos. Acreditamos que estes são passos importantes para o estabelecimento de uma maior compreensão dos fatores que influenciam tanto no entendimento do TDAH quanto do seu tratamento.

Ainda carecemos de um maior entendimento das interações entre os genes e ambiente, que tentamos minimizar através da análise das variáveis confundidoras. Estas podem ter agido salientando ou mesmo mascarando o efeito dos genes. Pouco se sabe sobre o efeito dos genes nestes confundidores – mediadores – moderadores, e esperamos que estudos futuros possam elucidar estas dúvidas.

São necessárias iniciativas como a do “ADHD Molecular Genetics Network”, grupo de estudos do qual este estudo faz parte. O “ADHD Molecular Genetics Network” visa agrupar resultados de vários investigadores ao redor do mundo, facilitando a obtenção de tamanhos amostrais que possibilitem a detecção de pequenos tamanhos de efeito. Isto facilitará o entendimento das bases

farmacogenéticas do TDAH podendo produzir a longo prazo a possibilidade de uma prescrição mais individualizada. Os resultados dos estudos de farmacogenética também podem orientar o entendimento das bases neurobiológicas do TDAH facilitando o desenvolvimento de compostos mais específicos para o seu tratamento.

## ANEXO I.

### MTA SNAP – IV Escala de pontuação para pais e professores

Nome: .....	Sexo: .....	Idade: .....	Escolaridade: .....	Etnia: .....
Avaliado por: .....		Tipo de classe: .....	Tamanho da Classe: .....	

Para cada item, marque a coluna que melhor descreve esta criança:

	NEM UM POUCO	UM POUCO	BASTANTE	DEMAIS
1. Não consegue prestar muita atenção a detalhes ou comete erros por descuido nos trabalhos da escola ou tarefas.				
2. Tem dificuldade de manter atenção em tarefas ou atividades de lazer.				
3. Parece não estar ouvindo quando se fala diretamente com ele.				
4. Não segue instruções até o fim e não termina deveres de escola, tarefas ou obrigações.				
5. Tem dificuldade para organizar tarefas e atividades.				
6. Evita, não gosta ou se envolve contra a vontade em tarefas que exigem esforço mental prolongado.				
7. Perde coisas necessárias para atividades (p.ex: brinquedos, deveres da escola, lápis ou livros).				
8. Distrai-se com estímulos externos.				
9. É esquecido em atividades do dia-a-dia.				
10. Mexe com as mãos ou os pés ou se remexe na cadeira.				
11. Sai do lugar na sala de aula ou em outras situações em que se espera que fique sentado.				
12. Corre de um lado para outro ou sobe demais nas coisas em situações em que isto é inapropriado.				
13. Tem dificuldade em brincar ou envolver-se em atividades de lazer de forma calma.				
14. Não para ou freqüentemente está "a mil por hora".				
15. Fala em excesso.				
16. Responde as perguntas de forma precipitada antes delas terem sido terminadas.				
17. Tem dificuldade de esperar sua vez.				
18. Interrompe os outros ou se intromete (p.ex: mete-se nas conversas / jogos).				
19. Descontrola-se.				
20. Discute com adultos.				
21. Desafia ativamente ou se recusa a atender pedidos ou regras de adultos.				
22. Faz coisas de propósito que incomodam outras pessoas.				
23. Culpa os outros pelos seus erros ou mau comportamento.				
24. É irritável ou facilmente incomodado pelos outros.				
25. É raivoso e ressentido.				
26. É rancoroso ou vingativo.				

## ANEXO II.

### ESCALA DE AVALIAÇÃO GLOBAL DE CRIANÇAS (CGAS)

Considere o funcionamento psicológico, social e escolar da criança/adolescente numa linha hipotética de saúde-doença mental.

Pontue de acordo com a sua visão do funcionamento real da criança/adolescente, independente de tratamento ou prognóstico. Os exemplos dados de comportamento são somente ilustrativos, não são, portanto, necessários para qualquer pontuação particular.

Use níveis intermediários (por exemplo: 35,82,58).

**Período de tempo especificado: 1 mês.**

#### **Escore**

**100-91 – Funcionamento superior em todas as áreas** (em casa, na escola, com os amigos); a criança/adolescente está envolvida numa grande variedade de atividades e tem muitos interesses (por exemplo, tem passatempos, participa em atividades fora do colégio, participa de organizações ou grupos como os escoteiros, grupo da igreja, etc.); estimado, confiante; consegue lidar com as preocupações do dia-a-dia; bem na escola; sem sintomas.

**90-81 – Bom funcionamento em todas as áreas:** seguro na família, escola e com amigos. Podem existir dificuldades transitórias e preocupações do dia-a-dia com as quais tem, ocasionalmente, dificuldade em lidar (por exemplo, ansiedade leve associada a uma prova importante, “explosões” ocasionais com irmãos, pais ou amigos).

**80-71 – Não mais do que prejuízo leve no funcionamento** em casa, na escola ou com amigos; alguma alteração do comportamento ou angústia emocional pode estar presente em resposta a problemas da vida (por exemplo, separação dos pais, morte, nascimento do irmão), mas estas alterações duram pouco e o prejuízo na vida da criança também dura pouco; estas crianças/adolescentes são vistas pelos outros como causando uma perturbação mínima e não são consideradas problemáticas por quem as conhece.

**70-61 – Alguma dificuldade numa única área, mas funcionando geralmente bastante bem** (por exemplo, atos anti-sociais uma vez que outra ou isolados, como sacanagens ou roubos sem grande valor de vez em quando; dificuldades menores, mas constantes, com os deveres escolares; variações de humor de duração curta, medos e ansiedade que não implicam em comportamento evitativo grosseiro; dúvidas sobre si mesmo); têm algumas relações significativas com pessoas (amigos, familiares); a maioria das pessoas que não conhecesse esta criança/adolescente não o/a consideraria problemático (a), mas aqueles que realmente o/a conhecem bem, podem expressar preocupação.

**60-51 – Funcionamento variável com dificuldades uma vez que outra ou sintomas em várias, mas não em todas as áreas sociais;** perturbações podem ser enxergadas por aqueles que encontram a criança/adolescente num ambiente ou momento disfuncional, mas não para aqueles que vêem a criança/adolescente em outros ambientes.

**50-41 – Grau moderado de problemas no funcionamento na maioria das áreas sociais ou prejuízo grave do funcionamento em uma área,** como pode resultar de, por exemplo, presença de preocupações e idéias repetidas suicidas, recusa em ir á escola e outras formas de ansiedade, rituais, queixas físicas por “nervoso” (sem causa médica), ataques de ansiedade freqüentes, capacidades de relacionamento pobres e inapropriadas, episódios freqüentes de comportamentos agressivos ou anti-sociais com alguma manutenção de relações sociais significativas.

**40-31 – Prejuízo importante no funcionamento em várias áreas e incapacidade para funcionar em uma destas áreas,** ou seja, perturbação em casa, na escola, com companheiros ou na sociedade em geral, por exemplo, agressão constante sem clara provocação; marcadamente retirado e com comportamento isolado, devido á perturbação do humor ou no pensamento; tentativa de suicídio com ou sem intenção de morrer; estas crianças/adolescentes provavelmente necessitem de escola especial e/ou hospitalização ou retirada da escola (entretanto, este último critério não é suficiente para inclusão nesta faixa).

**30-21 – Incapaz de funcionar em quase todas as áreas**, por exemplo, fica em casa, numa sala, ou na cama todo o dia sem tomar parte em atividades sociais, ou prejuízo grave do contato com a realidade, ou prejuízo grave na comunicação (por exemplo, às vezes fala coisas que não tem nada a ver com a ocasião ou com o assunto; não emenda um assunto no outro).

**20-11 – Necessita considerável supervisão para prevenir que machuque os outros ou a si mesmo** (por exemplo, frequentemente violento, tentativas de suicídio repetidas), ou para manter a higiene pessoal, ou prejuízo grosseiro em todas as formas de comunicação, por exemplo, anormalidades na fala e nos gestos, marcada indiferença social, desligado do mundo, etc.

**10-1 – Necessita supervisão constante** (cuidados 24 horas) devido ao comportamento gravemente agressivo ou auto-destrutivo ou prejuízo grave no contato com a realidade, na fala e no pensamento, no afeto ou na higiene pessoal.

**Score:** \_\_\_\_\_

### ANEXO III.

#### ESCALA DE AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS DE MEDICAÇÕES ESTIMULANTES

**Nome:**  
**Pessoa que completou este questionário:**

**Data:**

#### INSTRUÇÕES

Por favor, pontue cada comportamento de 0 (ausente) até 9 (grave). Circule somente um número ao lado de cada item. Um zero significa que você não tem visto o comportamento nesta criança durante a última semana, e um 9 significa que você tem notado o comportamento e acredita que ele seja ou muito grave ou ocorra muito frequentemente.

<b>Comportamento</b>	<b>Ausente</b>										<b>Sério</b>									
<b>Insônia ou dificuldade para dormir</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Pesadelos</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Fica com olhar perdido ou sonha acordado</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Fala menos com os outros</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Desinteressado pelos outros</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Apetite diminuído</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Irritável</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Dores de estômago</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Dores de cabeça</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Sonolência</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Triste / Infeliz</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Chora fácil</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Ansioso</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Roe as unhas</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Eufórico / Feliz fora do comum</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Tontura</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Tiques ou movimentos de nervoso</b>	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

ANEXO IV.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E  
HIPERATIVIDADE - SUSCETIBILIDADE GENÉTICA E  
IDENTIFICAÇÃO DE GENES CANDIDATOS

Antes de sua participação neste estudo, é preciso esclarecer alguns detalhes importantes, para que possíveis dúvidas sejam resolvidas. Em caso de qualquer outra dúvida quanto à pesquisa ou sobre os seus direitos, vocês poderão contatar Luis Augusto Rohde, Professor de Psiquiatria da Infância e Adolescência da UFRGS, responsável pelo estudo, pelos telefones (051) 3316-8294.

*Qual o objetivo desta pesquisa?*

O objetivo do nosso estudo é conhecer um pouco mais sobre algumas das causas do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). Pretendemos esclarecer a possível contribuição genética no TDAH e na resposta do transtorno ao tratamento farmacológico. Para este fim, as crianças e os pais vão ser avaliados através de uma análise de DNA.

*Como é feita esta análise do DNA?*

Será coletada de cada indivíduo uma amostra de 5ml de sangue, através de punção venosa, usando-se agulhas e seringas descartáveis. Esta coleta será feita por um indivíduo treinado. De cada amostra de sangue será extraído o DNA, em laboratório. Com o DNA teremos acesso à informação genética que pode estar relacionada com a doença, conforme explicado no item anterior. As amostras são identificadas por números, diferentes daqueles utilizados pelo Hospital. A quantidade de sangue coletada será suficiente para se extrair o DNA necessário ao estudo, que será completamente utilizado durante o mesmo. Após a investigação, o DNA não ficará armazenado, sendo desprezadas possíveis sobras deste material.

*Quais os riscos em participar?*

Poderá haver a formação de um pequeno hematoma local em função da coleta de sangue. Além deste, não há qualquer outro risco, nem para o paciente, nem para os pais, em participar deste projeto.



*O que a família ganha com este estudo?*

Este estudo poderá trazer vários benefícios, mesmo que a longo prazo. Com a análise do DNA, poderemos saber se diferentes genes atuam como fatores causadores da doença, e se estes genes atuam diferentemente em cada caso, como estamos supondo. Tendo-se observado isto, poderemos determinar com mais precisão que mecanismos biológicos estão envolvidos, e quais os medicamentos mais adequados, o que facilitará a escolha do tratamento, e o tornará mais eficiente. Além disso, havendo determinantes genéticos, estes poderão ser observados precocemente, o que contribuirá para estratégias de prevenção. Por fim, a sua participação ajudará no desenvolvimento de novos conhecimentos, que poderão eventualmente beneficiar vocês e outras pessoas que tenham o mesmo problema.

*Quais são os seus direitos?*

Os seus registros médicos serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados deste estudo poderão ser usados para fins científicos, mas vocês não serão identificados por nomes.

Sua participação no estudo é voluntária, de forma que, caso vocês decidam não participar, isto não afetará o tratamento normal a que a criança tem direito.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PACIENTES  
ACORDO EM PARTICIPAR DE UM ESTUDO EM GENÉTICA

Número do estudo:

Cód de Ident do Indivíduo:

Nome do Indivíduo:

Data de Nascimento: / /

Nome do Pai:

Nome da Mãe:

Médico Supervisor:

Assinatura do Paciente:

Assinatura do Pai:

Assinatura da Mãe:

Assinatura do Médico Supervisor:

Data: / /