

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

**TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE TIPO
DESATENTO: UM ESTUDO DE FARMACOGENÔMICA**

Tatiana Laufer da Silva

Porto Alegre

2009

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

TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE TIPO
DESATENTO: UM ESTUDO DE FARMACOGENÔMICA

Tatiana Laufer da Silva

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 Rohde

Porto Alegre

2009

S586t Silva, Tatiana Laufer da

Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade tipo desatento : um estudo de farmacogenômica / Tatiana Laufer da Silva ; orient. Luis Augusto Rohde. – 2009.

95 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Transtorno da falta de atenção com hiperatividade 2. Polimorfismo genético 3. Farmacogenética 4. Metilfenidato 5. Receptores alfa-1 adrenérgicos 6. Proteínas da membrana plasmática de transporte de dopamina I. Rohde, Luis Augusto Paim II. Título.

NLM: WM 190

Catalogação Biblioteca FAMED/HCPA

Para meus pais

Marlene e Arlindo

AGRADECIMENTOS

Ao Dr Luis Augusto Rohde, por ter acreditado em mim num momento tão precoce da minha formação. Incentivador, continente, exigente, justo, exemplo de entusiasmo e dedicação. Mais do que o orientador é um modelo para uma escolha que hoje me faz muito feliz.

À equipe do PRODAH, especialmente ao Prof. Marcelo Schmitz pelo trabalho que tornou possível essa pesquisa, às psicólogas Heloísa Kaefer, Márcia Knijnik e Natália Soncini Kapczinski pela dedicação e à Prof Mara Hutz, à Dra. Tatiana Roman e às biólogas Ana Paula Guimarães e Júlia Genro pela minuciosa análise genética.

Aos amigos Daniel Denardin e Thiago Pianca pelo empenho durante a execução do projeto.

Às escolas, às crianças e adolescentes e suas famílias pela disponibilidade.

Ao CNPq, pela bolsa de mestrado recebida durante elaboração da dissertação.

Aos meus pais, Marlene e Arlindo, pelo amor e apoio incondicionais e por me mostrarem que com dedicação e esforço é possível alcaçar os sonhos mais distantes.

Aos meus irmãos, Luciano e Daniel, por serem sempre um modelo de superação e dignidade.

À minha avó Edi e às minhas tias Marly e Norma pela torcida, carinho e apoio.

À Aline Jackisch Biesdorf por estar presente em todas as etapas da minha vida. Me apoiando nos momentos mais alegres e mais difíceis. E aos amigos, David Lucena, Fabiana da Silva Durães, Larriany Giglio, Paula Barros Antunes e Maurício Kunz sempre disponíveis, fazendo os obstáculos parecerem mais simples.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
INTRODUÇÃO	10
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
TDAH COM PREDOMÍNIO DE DESATENÇÃO	13
FARMACOGENÔMICA TDAH.....	21
OBJETIVOS	28
METODOLOGIA	29
ASPECTOS ÉTICOS	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ARTIGO.....	61
CARTA DE PESQUISA	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
ANEXO I - Termo de Consentimento Informado	90
ANEXO II - MTA SNAP – IV ESCALA DE PONTUAÇÃO PARA PAIS E PROFESSORES	93
ANEXO III - Escala de Avaliação Global de Crianças (CGA)	94

RESUMO

Introdução: O transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) é um transtorno muito comum na infância e adolescência. Apresenta uma série de prejuízos associados, afetando diferentes domínios funcionais. Pesquisas apontam para uma diferença entre os subtipos que podem ser mais do que fenomenológicas, cada subtipo tem um perfil próprio de características epidemiológicas, neuropsicológicas, de evolução e de prejuízos associados. No TDAH, estudos já evidenciam a associação de alguns polimorfismos a resposta ao tratamento; especialmente com metilfenidato, o estimulante mais usado. Os estimulantes bloqueiam a recaptação de dopamina e noradrenalina no receptor pré-sináptico, regulando a concentração desses neurotransmissores na fenda sináptica. Dessa forma, genes envolvidos no sistema dopaminérgico e noradrenérgico são os mais estudados. O gene transportador de dopamina (*DAT1*) é um gene do sistema dopaminérgico bastante estudado, evidências apontam para uma associação da homozigose de 10 repetições e uma pior resposta ao tratamento com metilfenidato. No sistema noradrenérgico observa-se uma associação do gene receptor adrenérgico alfa2a (*ADRA2A*) com sintomas atencionais e que a presença do alelo G do *ADRA2A* está relacionada a uma melhor resposta ao tratamento.

Entretanto, poucos estudos de farmacogenética foram realizados avaliando subtipos específicos de TDAH.

Métodos: Nós avaliamos 59 crianças adolescentes com TDAH com predomínio de desatenção (TDAH-D) provenientes de uma amostra não clínica. Verificamos a

associação entre a resposta ao tratamento com metilfenidato e a presença do polimorfismo 1291 C>G do gene do receptor adrenérgico alfa2a (*ADRA2A*) e da homozigose de 10 repetições no polimorfismo VNTR 3'-UTR do gene transportador de dopamina (*DAT1*). As medidas de desfecho foram: a) SNAP-IV (Questionário de Swanson, Nolan e Pelham) (Swanson 2001); b) CGAS (Clinical Global Assessment Scale) (Shaffer 1983). Foram aplicadas no momento de avaliação e um mês após a intervenção por psiquiatra treinado e cego para os genótipos. Este é um estudo de naturalístico de farmacogenética.

Resultados: Detectamos uma associação significativa entre a presença do alelo G do *ADRA2A* e uma melhor resposta ao tratamento com metilfenidato ($n=59$; $F=6,14$; $P=0,016$). Ao mesmo tempo, encontramos uma associação significativa da homozigose de 10 repetições do *DAT1* com uma pior resposta aferida pelo CGAS ($n = 59$; $F = 5,59$; $p = 0,018$) e, apontando na mesma direção, uma tendência de pior resposta nos escores de desatenção da escala SNAP IV na presença da homozigose ($n = 59$; $F = 3,44$; $p = 0,069$).

Discussão: Nossos resultados replicam achados de estudos prévios em amostras independentes, estendendo-os para um fenótipo refinado com predomínio de desatenção e contribuindo para o conhecimento na área da farmacogenômica do TDAH.

INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) é um transtorno de saúde mental muito comum em crianças e adolescentes. Se caracterizada por sintomas marcados de desatenção, hiperatividade e impulsividade (Rohde 2002, APA 1994). A desatenção inclui comportamentos como distração, dificuldade de concentração, de organização e finalização de tarefas. Inquietude e fala excessiva são sinais de hiperatividade. A impulsividade pode ser reconhecida principalmente em atividades em grupo: a criança interrompe as outras, tem dificuldade em esperar pela sua vez, e troca de atividades facilmente.

Uma recente revisão sistemática que incluiu mais de 171mil crianças e adolescentes em amostras de diversos países (incluindo o Brasil) apontou uma prevalência do transtorno de 5,29% (Polanczyk 2007a). E uma herdabilidade em torno de 0,8 (Faraone 2001a). Outros estudos indicam que seus sintomas persistem em pelo menos 70% dos adolescentes e 50% dos pacientes na vida adulta (American Academy of Child and Adolescent Psychiatry 1997, Rohde 1999, Rohde 2003a, Spencer 2002, Barkley 2002), mesmo que não haja continuidade dos sintomas do TDAH, a hiperatividade infantil parece predispor a certas desvantagens específicas e afetar importantes domínios funcionais (Dulcan 1997, Manuzza 1997, Biederman 1998). O impacto dessa patologia na sociedade é enorme, considerando-se o custo financeiro (nos Estados Unidos, em torno de US\$ 30 bilhões ao ano), nível de estresse nas famílias, prejuízo nas atividades acadêmicas e vocacionais, bem como efeitos negativos na auto-estima das crianças e adolescentes (Barkley 2002, Birnbaum 2005). Além disso, é fator

de risco para inúmeros outros problemas de saúde mental como uso abusivo ou dependência de drogas (Biederman 1991, Rohde 1999). O TDAH está associado a maior risco de baixo desempenho escolar, repetências, suspensões e expulsões, dificuldades de relacionamento com familiares e com pares, ansiedade e depressão, problemas de conduta e delinqüência, violações de trânsito e acidentes automobilísticos, assim como prejuízo na vida adulta nos relacionamentos sociais, maritais e profissionais (Barkley 1990, Barkley 1993, Skansgaard 1998). Pelas razões expostas, foi considerado prioridade em termos de saúde pública nos Estados Unidos (National Institute of Health, 2000). Também proveniente de um estudo realizado em nosso meio (Rohde 1999) o prejuízo escolar acentuado entre adolescentes com o diagnóstico de TDAH é evidente: mais repetências, suspensões e expulsões do que os controles sem TDAH.

O TDAH subdivide-se, de acordo com a quarta edição do Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos Mentais, DSM-IV (APA 1994), em três subtipos, conforme a presença de seis ou mais sintomas dos grupos de desatenção e/ou hiperatividade/impulsividade: o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção (TDAH-D), o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de hiperatividade (TDAH-H) e o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com combinado (TDAH-C).

Pesquisas sugerem que as diferenças entre os subtipos possam ser mais do que fenomenológicas, cada subtipo tem um perfil próprio de características epidemiológicas, neuropsicológicas, de evolução e de prejuízos associados, como será revisado a seguir (Baeyens 2006).

O presente estudo, visa colaborar para o melhor entendimento do subtipo desatento do transtorno e sua variabilidade em relação a resposta ao tratamento com metilfenidato.

A presente dissertação é composta por duas partes. A primeira comprehende uma revisão da literatura científica sobre o TDAH com predomínio de desatenção e sobre a farmacogenômica do transtorno. A segunda parte é composta pelos objetivos da pesquisa e pelo artigo resultante e por uma carta de pesquisa.

TDAH COM PREDOMÍNIO DE DESATENÇÃO

Baseado na fenomenologia, um indivíduo com TDAH pode apresentar a configuração dos sintomas em três tipos, de acordo com os critérios do DSM IV: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção (TDAH-D), o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de hiperatividade (TDAH-H) e o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com combinado (TDAH-C). Evidências apontam que além das diferenças fenomenológicas, existem diversos parâmetros que distinguem esses subtipos.

Uma breve revisão da nomenclatura do transtorno faz-se importante. Em primeiro lugar para observar de como a ênfase do transtorno passou dos sintomas de agitação para os atencionais e em segundo lugar, para perceber como a divisão em subtipos é resultado de questionamentos científicos acerca do transtorno ser apenas um dividido em subtipos ou ser na verdade mais de um transtorno (Baeyens 2006).

As primeiras nomenclaturas descrevendo o que hoje equivaleria ao TDAH, baseavam-se na suposta etiologia orgânica. O primeiro termo empregado foi Transtorno comportamental pósencefálico (Hohman 1992). Posteriormente, acreditou-se que um dano cerebral pudesse ser a causa do comportamento, passando a denominá-lo Agitação orgânica (Kahn 1934). Em seguida, postulou-se que pudesse haver um atraso no desenvolvimento, que causasse dano, originado os nomes: Síndrome do cérebro danificado da criança ou Síndrome do dano cerebral mínimo (Strauss 1947, Strauss 1955). Como não se conseguiu

evidenciar o componente do dano orgânico, Clements e Peters (1962) associaram os sintomas com danos em estruturas específicas do cérebro, denominando de Disfunção cerebral mínima.

A seguir a demonimação começou a ser baseada na sintomatologia de hiperatividade, desatenção e impulsividade. Inicialmente os termos Síndrome de Inquietação (Levin 1938), Transtorno do impulso hipercinético (Laufer 1957a), Síndrome do comportamento hipercinético (Laufer 1957b) e finalmente Síndrome da criança hiperativa (Chess 1960) indicavam a importância da hiperatividade e da impulsividade como problemas.

O que hoje conhecemos como TDAH foi pela primeira vez descrito no DSM (Manual de Diagnóstico e Estatística de Transtornos Mentais da Associação americana de Psiquiatria) na sua segunda edição em 1968 (APA 1968) com o nome de Reação hipercinética da infância. O DSM III (APA 1980) trouxe um novo conceito com a abordagem multidimensional. O transtorno passou pela primeira vez a girar em torno da desatenção e a hiperatividade deixou de ser essencial. O diagnóstico se denominou transtorno de déficit de atenção com hiperatividade ou transtorno de déficit de atenção sem hiperatividade. Entretanto, já na edição seguinte do DSM, o DSM III-R (APA 1987), pela primeira vez o diagnóstico foi chamado de transtorno de déficit de atenção/hiperatividade. Mas retornou para o conceito unidimensional, parecendo retroceder a multidimensionalidade evidenciada por alguns estudos baseados no DSM III (Baeyens 2006). Mais tarde o DSM IV (APA 1994) retornou ao aspecto multimensional (Lahey 1997) mantendo o diagnóstico como transtorno de déficit de atenção/hiperatividade, mas introduzindo os subtipos.

Embora em algumas amostras clínicas as prevalências de TDAH-H e TDAH-D sejam, respectivamente 55% e 27% (Lahey 1994), no nosso meio, em uma amostra clínica de 285 pacientes com TDAH encontrou-se uma prevalência de 62,5% para o tipo combinado, 26,5% para o desatento e 11,2% para o hiperativo-impulsivo (Rohde 2002). Entretanto em amostras populacionais o subtipo desatento é o mais prevalente dos subtipos, correspondendo a aproximadamente metade dos casos (Faraone 1998, Gaub 1997, Graetz 2001, Woo 2005), refletindo uma diferença da população para aqueles que procuram ou são encaminhados para avaliação e tratamento. A idade de início de tratamento também é diferente e os pacientes com o TDAH-D costumam buscar atendimento cerca de um ano mais tarde quando comparados com o subtipo combinado: 9,1 e 10,4 anos respectivamente (Carlson 2000). Esse início mais precoce de busca de avaliação provavelmente ocorre porque os sintomas de hiperatividade e impulsividade são mais causadores de problemas na escola, na família e entre os pares. Outra diferença marcada entre os subtipos é em relação ao gênero. Enquanto no subtipo combinado a prevalência de meninos é de até quatro vezes a prevalência de meninas (3,2–4,1:1), no subtipo desatento, essa diferença diminui sendo de 2,1-2,5:1 (Milich 2001).

Em relação ao curso e a evolução também há diferença entre os subtipos. Os sintomas de hiperatividade e impulsividade são os primeiros a se manifestar (Taylor 2004). Os sintomas de desatenção tentam a iniciar também na infância, mas permanecem ao longo do desenvolvimento e da idade adulta, enquanto, os sintomas de hiperatividade e impulsividade tendem a diminuir ao longo do desenvolvimento, sendo a desatenção o sintoma com menor taxa de remissão

(Biederman 2000, Barkley 2003, Hart 1995). Embora haja essa diminuição na quantidade de sintomas os prejuízos associados ao transtorno ao longo do desenvolvimento, permanecem significativos (Ingram 1999). Sabe-se que o diagnóstico se mantém em pelo menos metade dos pacientes na vida adulta (Spencer 2002, Barkley 2002). Observa-se uma maior prevalência na proporção de mulheres com o diagnóstico TDAH-D (Faraone 2000).

A hiperatividade e a impulsividade estão associadas desfechos como agressividade e transtorno de conduta, quando comparados ao subtipo desatento que tentam a apresentar taxas mais altas de depressão, ansiedade e disfunção social (Lynam 1996, Biederman 1998, Biederman 1999a, Babinsk 1999, Rohde 1998, Rohde 2000a). Contudo, há estudos mostrando resultados diferentes. Power e colaboradores (2004) descreveram níveis semelhantes de ansiedade nos subtipos desatento e combinado, quando a severidade dos transtornos externalizantes foi controlada. Alguns estudos que compararam os 3 subtipos mostraram maiores taxas de ansiedade e depressão nos subtipos desatento e combinado, indicando que se há diferença neste aspecto seria em relação ao subtipo com predomínio de hiperatividade (Willcutt 1999, Wolraich 1996 Faraone 1998).

O TDAH-D parece estar associado ao uso de drogas. Enquanto a maioria dos estudos conclui que o TDAH na ausência de TC não aumenta o risco para o uso de drogas (Disney 1999, Lynskey 1995), isto parece não ser verdade para esse subtipo. Flory e colaboradores (2003) avaliaram 481 adultos jovens e encontraram que a presença de sintomas de desatenção interagindo com sintomas de TC predizia desfechos de uso e dependência de drogas. Nessa

mesma direção, Tapert e colaboradores (2002) documentaram que adolescentes com dificuldades atencionais apresentavam risco significativamente maior de uso problemático de álcool e drogas oito anos após o diagnóstico do que aqueles adolescentes sem essas dificuldades. Os achados se mantiveram mesmo após controle para inúmeros fatores de confusão, como TC. Também em relação ao fumo de cigarros, Tercyak e colaboradores (2002) encontraram uma maior associação com TDAH-D.

Carlson e colaboradores (1986) publicaram o primeiro estudo a sugerir que estudantes portadores de TDA sem hiperatividade, critérios do DSM III, têm um risco maior para apresentar problemas acadêmicos, particularmente no desempenho de matemática, comparados com os hiperativos. Já com os critérios do DSM IV, Morgan e colaboradores (1996) também relataram que o subtipo desatento apresentava maior taxa de transtornos do aprendizado em matemática. Num estudo com amostra comunitária, observou-se pior desempenho acadêmico e maior uso de recursos de educação especial para crianças e adolescentes com TDAH-D e TDAH-C (Todd 2002). Esses dados somados a outros estudos bem desenhados indicam que o tipo com predomínio de desatenção parece apresentar, conjuntamente com o tipo combinado, uma taxa mais elevada de comprometimento acadêmico, sugerindo a necessidade da presença do espectro de desatenção para que o prejuízo seja maior. (Carlson 2000, Rohde 2000b, Biederman 1999a).

Alguns estudos mostram que o TDAH está associado a alterações neurofisiológicas nas regiões frontais e parietais (Zametkin 1990, Harter 1998). Quando se leva em consideração os subtipos, observa-se alterações

quantitativas e não qualitativas nos estudos de eletroencefalograma (EEG). O subtipo desatento tenta a apresentar medidas intermediárias entre os controles o subtipo combinado (Robaey 1992, Chabot 1996, Clarke 2001).

Com o DSM III (APA 1980) e a abordagem multidimensional do transtorno, estudos controlados começaram a investigar possíveis diferenças entre os subtipos de TDAH em relação a também a testes neuropsicológicos direcionados especificamente a comprometimento de lobo frontal, apresentando resultados divergentes. Carlson e colaboradores (1986) concluíram que havia falta de evidências que apontassem para a existência de perfis diferentes cognitivos entre os subtipos de TDAH. Por outro lado, em outros dois estudos, os resultados mostraram diferenças significativas em apenas algumas variáveis investigadas, não permitindo inferências maiores sobre distintos desempenhos neuropsicológicos entre os subtipos (Barkley 1990, Todd 2002). Barkley e colaboradores (1992) haviam postulado que crianças com o subtipo desatento (que denominaram sem hiperatividade) apresentavam mais problemas com a memória, destreza visomotora e velocidade de processamento cognitivo geral.

Após o DSM IV, os estudos seguiam tentando investigar diferenças neuropsicológicas entre os subtipos do TDAH. Faraone e colaboradores (1998a) não encontraram diferenças nas medidas neuropsicológicas entre os subtipos. Entretanto, estudos posteriores apontavam numa direção oposta, Klorman e colaboradores (1999) relataram um pior desempenho nas funções executivas no subtipo combinado. No nosso meio, Schmitz e colaboradores (2002) em estudo avaliando com testes neuropsicológicos os três subtipos do TDAH encontraram que o grupo de desatentos e o de combinados tiveram pior desempenho, sendo

que os desatentos foram os mais prejudicados no teste que avalia mais especificamente o funcionamento do lobo frontal. Alguns autores relatam, ainda que os indivíduos com TDAH com predomínio de desatenção demonstram grande dificuldade nas tarefas que requerem controle mental, tais como mudança de objetivos e planejamento enquanto os do tipo combinado demonstram mais déficit na inibição do comportamento e apresentam respostas lentificadas a teste neuropsicológicos (Collings 2003, Gansler 1998, Kempton 1999, Seidman 2000). Habilidades motoras também apresentam diferenças entre os subtipos. Observa-se que meninos com predomínio de desatenção tinham pior habilidade motora fina. Mais interessante foi o achado de que a severidade da sintomatologia de desatenção foi um preditor significativo de dificuldades de coordenação motora (Piek 1999, Pitcher 2002, Pitcher 2003).

As crianças desatentas podem apresentar um nível mais alto de isolamento social e retraimento (Biederman 1998, Pfiffner 2000), apresentando inabilidade social, o que pode ser o causa da imaturidade, já que crianças isoladas, têm menor oportunidade de exercitar interações sociais, ou da ansiedade e da retutância de participar em atividades de grupo. Num estudo com amostra comunitária, evidenciaram que as crianças desatentas foram pontuadas como tendo menos auto-estima, mais problemas sociais e maiores problemas com os professores do que os hiperativos. O impacto emocional que os problemas das crianças causam nos pais também foi maior no grupo de desatentos (Graetz 2001, Pfiffner 2000).

Como pode se observar vários estudos tentam avaliar as diferenças entre os subtipos, entretanto algumas dificuldades são encontradas. Um aspecto de

extrema relevância é que a maioria dos estudos com amostras tanto referidas quanto não clínicas incluem casos com até cinco sintomas de hiperatividade (abaixo do ponto de corte da DSM-IV) no grupo de TDAH-D. Esse ponto de corte embora respeite critérios diagnósticos estabelecidos, não tem maior sentido do ponto de vista neurobiológico. Assim, esse artefato classificatório pode contribuir para a dificuldade de diferenciação em relação a diversos desfechos entre os subtipos combinado e desatento em muitos estudos. Outra limitação importante de ser lembrada é que o número de participantes tende a ser pequeno na maioria dos estudos, dificultando a generalização dos resultados. Assim, considerando as investigações já existentes, fica claro que o TDAH-D tem um perfil próprio de características epidemiológicas, neuropsicológicas, de evolução e de prejuízos associados, sendo mais caracterizado por problemas acadêmicos e de mais longa duração. Dessa forma, fica clara a necessidade de estudos que foquem esse subtipo específico de TDAH.

FARMACOGENÔMICA DO TDAH

A farmacogenômica é a ciência que se dedica a estudar a influência genética na resposta a farmacoterapia; investiga as bases hereditárias para a variabilidade da resposta farmacológica entre os indivíduos (Mesellis 2002). A farmacogenômica envolve o estudo da associação entre os polimorfismos estruturais dos genes e a variabilidade de resposta as drogas (Tribut 2002).

Em diversas áreas da medicina ela vem sendo de extrema importância para a personalização dos tratamentos. Na oncologia, por exemplo, farmacogenômica é útil identificando mutações genéticas que otimizem o tratamento de câncer de mama (Slamon 1987, Lohrisch 2001) e leucemia mieloide crônica (La 2002).

Como a imensa maioria dos transtornos psiquiátricos são multifatoriais, a resposta a um tratamento pode depender de fatores ambientais e do papel de vários genes que determinam uma variabilidade farmacodinâmica e farmacocinética (Arranz, 2008). Mesmo com essas dificuldades, os estudos de farmacogenômica têm se tornado bastante promissores na psiquiatria. Algumas evidências da influência genética ao tratamento sugerem que gêmeos monozigóticos apresentam resposta similar (Ariyoshi 2001, Vojvoda 1996) e aumento de peso semelhante (Wehmeier 2005) induzido pelo tratamento com antipsicóticos, bem como de agranulocitose associada a clozapina (Horacek 2001).

A maioria dos estudos de farmacogenômica parte de genes candidatos. A definição de genes candidatos é baseada em evidências diversas como rotas bioquímicas, processos biológicos que sugerem a associação do gene com o

transtorno. Muitos genes têm sido estudados em diferentes transtornos psiquiátricos.

No TDAH, estudos já evidenciam a associação de alguns polimorfismos a resposta ao tratamento; especialmente com metilfenitado, o estimulante mais usado (AAP 2001). Os estimulantes bloqueiam a recaptação de dopamina e noradrenalina no receptor pré-sináptico, aumentando esses neurotransmissores na fenda sináptica (Biederman 2004, Faraone 2004). Dessa forma, genes envolvidos no sistema dopaminérgico e noradrenérgicos são os mais estudados (McGough 2005, Polanczyk 2005 Rohde 2003b)

Muitos estudos avaliam polimorfismos dos genes dopaminérgicos. Os genes dopaminérgicos foram candidatos para estudos moleculares baseados em modelos animais e eficácia dos estimulantes no tratamento do TDAH (Kirley 2002). Os estudos de farmacogenômica com o gene transportador de dopamina (DAT1) são vários e controversos (Roman 2004). Uma recente metanálise apontou para o papel do gene do transportador de dopamina (DAT1) e o TDAH. O resultado do estudo evidencia que a presença do alelo de 10 repetições no polimorfismo VNTR 3'-UTR tem um papel pequeno, mas significativo na suscetibilidade ao transtorno (Yang 2007). Os estudos que investigam associação do DAT com a resposta ao TDAH são muitos, mas controversos. O primeiro estudo da associação do DAT1 com resposta ao metilfenidato foi realizado com 30 crianças afro-americanas com TDAH. Observou-se que a homozigose para o alelo de 10 repetições estava associada a uma pior resposta ao tratamento (Winsberg 1999). O mesmo achado foi replicado numa amostra de 50 meninos brasileiros com TDAH (Roman 2002a), numa amostra de crianças coreanas

(Cheon 2005a). Também num estudo comparando metilfenidato e atomoxetina, um inibidor seletivo da recaptação da noradrenalina, onde as duas medicações tiverem um pior resposta na presença do alelo de 10 repetições do DAT1 (Gilbert 2006). Seguindo a mesma tendência, um recente estudo com adultos aponta para uma pior resposta ao tratamento com metilfenidato na presença de homozigose para o alelo de 10 repetições (Kooij 2008). Entretanto, num estudo holandês com 102 pacientes com TDAH tratados com metilfenidato, não foi encontrada associação entre a presença do alelo de risco de 10 repetições do DAT1 e resposta a medicação (van der Meulen 2005). Da mesma forma, Hamarman e colaboradores (2003) observaram que sujeitos com homozigose para o alelo de 10 repetições do DAT1 necessitam de doses similares de estimulantes no tratamento do TDAH, quando comparados com aqueles com um ou nenhum alelo de 10 repetições. Um estudo com 106 crianças brasileiras não encontrou associação entre o polimorfismo de 10 repetições do DAT1 e a resposta ao metilfenidato (Zeni 2007). Outros vários estudos não encontraram a associação da presença do alelo de 10 repetições e a resposta ao tratamento com metilfenidato (Bellgrove 2005, Langley 2005, Stein 2005, Lott 2005). Por outro lado, existe evidência de que a presença do alelo de 10 repetições possa estar associada a uma melhor resposta ao tratamento (Kirley 2003). Apesar de toda a controvérsia, recentemente, Purper-Ouakil e colaboradores (2008), numa metanalise sugerem que a homozigose para o alelo de 10 repetições está associado a uma pior resposta.

O gene receptor de dopamina 4 (DRD4), que é expresso em níveis elevados no córtex préfrontal (Falzone 2002) é outro gene bastante estudado na

associação com TDAH. La Hoste e colaboradores (1996) foram os primeiros a apontar essa associação. Eles detectaram uma associação do alelo de 7 repetições com o TDAH. No nosso meio, esse achado foi replicado com um pequeno, mas significativo efeito do alelo de 7 repetições de DRD4 e o transtorno (Roman 2001). A primeira meta-análise dos estudos com o gene DRD4 foi realizada por Faraone e colaboradores (2001b) que incluiu estudos de associação, sendo o efeito estimado significativo, mas muito pequeno com uma razão combinada de 1,4 de acordo com os estudos de base familiar e 1,9 com estudos de caso-controle. Maher e colaboradores (2002) realizaram uma meta-análise investigando a associação do DRD4 e o TDAH usando análise com teste de desequilíbrio de transmissão (TDT). Foram incluídos 14 estudos. A razão de chances foi de 1,41 demonstrando uma associação positiva. Embora estudos posteriores confirmassem a associação (Qian 2003, Seeger 2004), há também resultados que apontam na direção contrária (Marino 2003, Frank 2004).

Apesar das controvérsias em relação ao papel do gene, Tahir e colaboradores (2000) foram os primeiros pesquisadores a avaliar a associação do gene DRD4 e a resposta ao tratamento do TDAH com metilfenidato numa amostra de 111 crianças turcas. Eles observaram que a presença o alelo de 7 repetições e o TDAH era mais freqüente nos indivíduos respondedores a medicação do que os não respondedores, entretanto não avaliaram um grupo controle. Hamarman e colaboradores (2004) encontraram em 45 crianças com TDAH que os indivíduos que possuíam o alelo de 7 repetições necessitavam de doses 1,5 vez maior de metilfenidato quanto comparado aqueles sem o alelo para obter a mesma melhora de sintomas. Por outro lado um estudo realizado com 30

crianças afro-americanas não encontrou associação entre o alelo de 7 repetições do DRD4 e a resposta ao metilfenidato (Winsberg e Comings 1999). Outros dois estudos também não encontraram associação (Van der Meulen 2005, Ben Amor 2004). Recentemente Tharoor e colaboradores (2008) também não encontraram associação do DRD4 com resposta ao metilfenidato. Já Cheon e colaboradores (2005b) observaram que crianças com a homozigose para o alelo de 4 repetições do DRD4 apresentavam uma melhor resposta ao tratamento com metilfenidato.

Seeger e colaboradores (2001) realizaram um estudo de interação gene-gene e resposta ao metilfenidato. Eles avaliaram crianças com transtorno hipercinético (Classificação Internacional de Doenças – CID 10), observaram que indivíduos portadores do alelo de 7 repetições do DRD4 que também possuíam homozigose para o alelo longo (L) (uma inserção de 44 pb na região promotora) do gene transportador de serotonina (5-HTT, SLC6A4), apresentavam uma melhora reduzida no funcionamento geral durante o tratamento com metilfenidato.

Alguns estudos têm avaliado polimorfismos noradrenérgicos e a associação a com TDAH. A primeira hipótese de que o sistema noradrenérgico estivesse envolvido como o TDAH foi feita por Kornetsky em 1970, quando observou o efeito das anfentaminas no comportamento. Ele associou a hiperatividade do TDAH com um aumento da transmissão noradrenérgica (Kornetsky 1970). Evidências apontam genes relacionados ao sistema noradrenérgicos, entre eles o gene receptor adrenérgico alfa2A (ADRA2A) e o dopamina beta-hidroxilase (DBH) e o transportador de noradrenalina (NET). O sistema noradrenérgico tem uma grande influência na atenção. A noradrenalina age, entre outros locais, no córtex pré-frontal, região responsável por funções cognitivas como memória de

trabalho, atenção, motivação e comportamento. Essa ação ocorre basicamente através de receptores pós sinápticos alfa-2 (Biederman 1999b, Arnsten 2005, Lapiz 2006).

Atualmente poucos estudos avaliam especificamente a associação dos genes noradrenérgicos e resposta ao tratamento com metilfenidato, entretanto algumas evidências apontam para uma associação.

O gene do receptor adrenérgico alfa 2A está localizado no cromossomo 10q24-26. Lario e colaboradores (1997) identificaram o polimorfismo -1291C>G na região promotora do gene. Vários estudos avaliaram a associação desse polimorfismo com o TDAH e apontam para um papel desse polimorfismo na suscetibilidade ao transtorno. Estudos mais recentes têm apontado para um papel específico do polimorfismo na dimensão atencional (Roman 2003, Roman 2006, Schmitz 2006a). Em relação a resposta ao tratamento com metilfenidato, Polanczyk e colaboradores (2007b) avaliaram 106 crianças e adolescentes com diagnóstico e TDAH utilizando metilfenidato de curta ação. Com doses diárias de até 0,65 mg/kg. Observou-se que a presença do alelo G estava associada a uma melhora significativa nos escores atencionais avaliados pelo SNAP IV (Swanson 2001). Recentemente, Cheon e colaboradores (2009) examinaram 114 crianças coreanas com TDAH e observaram que a homozigose do alelo G do ADRA2A está associada a uma melhor resposta ao tratamento com metilfenidato.

Estudos do sistema noradrenérgico também concentram-se no gene que codifica a enzima dopamina beta-hidroxilase (DBH), que converte a dopamina em noradrenalina. Daly e colaboradores (1999) foram os primeiros a evidenciar associação entre o polimorfismo (*TaqI*) desse gene e o TDAH. Posteriormente

outros três estudos apontaram na mesma associação (Smith 2003, Wigg 2002, Roman 2002b). Entretanto Hamarman e colaboradores (2003) não encontraram associação entre o polimorfismo e a dose de metilfenidato para normalizar os sintomas de TDAH. Da mesma forma, Polanczyk e colaboradores (comunicação pessoal) não encontraram associação entre o DBH e a resposta ao tratamento com metilfenidato.

Com o transportador de noradrenalina (NET), estudos são controversos em relação ao seu papel no TDAH. Bobb e colaboradores (2005) encontrou a associação de dois polimorfismos. Entretanto em outros estudos não se observou essa associação (De Luca 2004, Barr 2002 McEvoy 2002 Xu 2005). Yang e colaboradores (2004) avaliaram 45 jovens com TDAH tratados com metilfenidato em doses de 0,45-0,60 mg/kg/dia. Eles encontraram uma associação positiva entre o polimorfismo G1287A do gene do transportador de noradrenalina e resposta ao metilfenidato nos escores de impulsividade e hiperatividade, mas não para os escores atencionais. Sujeitos com genótipos G/G e G/A ($7,15 \pm 4,25$ e $6,94 \pm 5,6$) apresentaram maior redução nos sintomas quando comparados aos indivíduos A/A ($2,13 \pm 4,29$; $p = 0,01$).

Todos esses resultados são bastante controversos. Isso parece refletir uma imensa diversidade metodológica e possível variabilidade genética entre populações (Polanczyk 2008).

Entretanto os estudos de farmacogenômica podem continuar a traçar um perfil de pacientes respondedores ao tratamento, e estimular a busca de novas drogas, personalizando o tratamento.

OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Replicar achados positivos de associação entre genes do sistemas dopaminérgicos e noradrenérgicos com a resposta ao tratamento farmacológico com metilfenidato em uma amostra de sujeitos com o subtipo desatento do TDAH.

Objetivos Específicos:

1. Verificar a existência de associação entre o gene receptor adrenérgico alfa2A (ADRA2A) já associados ao transtorno e resposta clínica ao metilfenidato no TDAH-D.
2. Verificar se a associação encontrada entre o gene para o transportador de dopamina (DAT 1) e uma pior resposta clínica ao metilfenidato no TDAH é replicada no TDAH-D, fortalecendo a evidência de que esse subtipo faz parte do constructo maior.

METODOLOGIA

A amostra desse estudo é composta por crianças e adolescentes (6 a 18 anos) com TDAH-D, participantes de um estudo prévio com amostra não clínica (para maiores detalhes Schmitz 2006a, Schmtiz 2006b). Esse estudo era composto por 100 indivíduos com TDAH-D. O diagnóstico de TDAH-D com ou sem comorbidade foi realizado em nossa clínica através de um processo de três estágios: a) avaliação com uma entrevista semi-estruturada (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version – K-SADS- E) (Orvaschel 1985), modificada para avaliar os critérios do DSM-IV e aplicada aos pais por assistentes de pesquisa treinados. Esta entrevista já se encontrando traduzida para o português e em uso clínico em centros de referência nacionais de Psiquiatria da Infância e Adolescência. A confiabilidade inter-avaliador para o diagnóstico de TDAH foi avaliada previamente (coeficiente Kappa = 0.94; p < 0.001) (Polanczyk 2003); b) revisão de cada diagnóstico derivado do K-SADS-E em comitê clínico coordenado por um experiente psiquiatra de crianças e adolescentes (LAR); c) avaliação clínica do TDAH-D e comorbidades usando os critérios do DSM-IV realizada por um psiquiatra de crianças e adolescentes que previamente recebia os resultados do K-SADS-E, entrevistando os pais e o paciente.

A estimativa de QI foi realizada pela aplicação dos subtestes cubos e vocabulário da Escala de Inteligência Wechsler – Terceira Edição (WISC III) (Wechesler 1991) por psicólogas treinadas.

Os critérios de exclusão foram pré-definidos como um QI estimado < 70 e o diagnóstico de psicose. Para garantir que estávamos tratando realmente com casos de TDAH-D, somente incluímos casos que preenchessem os critérios do DSM-IV para TDAH-D, mas com no máximo três sintomas de hiperatividade-impulsividade após esta extensa avaliação.

Seguindo processo padronizado no programa, nesse estudo naturalístico, todos os 100 indivíduos com TDAH-D e com indicação de uso de medicação foram convidados a receber tratamento com metilfenidato. Cinquenta e nove concordaram em participar desta parte do projeto. Foram avaliados antes do uso da medicação e 1 mês após o início do uso da medicação, através da aplicação de escalas objetivas: SNAP-IV (Questionário de Swanson, Nolan e Pelham) (Swanson 2001) e CGAS (Clinical Global Assessment Scale) (Shaffer 1983). Os pacientes receberam metilfenidato de curta ação. O incremento de doses da medicação segue um protocolo pré-estabelecido no programa com aumentos de dose até que não exista mais espaço para melhora, ou haja presença de efeitos adversos significativos. O metilfenidato era administrado preferencialmente duas vezes por dia (8hs e meio dia), mas uma dose extra às 17 ou 18 horas era permitida. A dose média foi de 0,63 mg/kg/dia. As avaliações de resposta a farmacoterapia e presença de eventos adversos são feitas de forma cega para o genótipo. Os pacientes em uso de farmacoterapia para TDAH nos últimos 6 meses antes da avaliação não participaram nesse protocolo.

DNA genômico de alto peso molecular foi extraído do sangue total pelo método de “salting-out” (Miller 1988). Os protocolos para as amplificações das amostras de DNA genômico e as genotipagens foram conduzidas como

previamente descrito, bem como o uso dos “primers” (Daly 1994, Lario 1997,Sano 1993).

Os efeitos da presença dos alelos em estudo sob o escores da subescala de desatenção do SNAP IV foram avaliados através da ANCOVA utilizando os escores da avaliação inicial como covariaveis. Potenciais confundidores (características demográficas, QI, comorbidades, dose de metilfenidato) foram incluídos como covariáveis de acordo com a definição conceitual baseada na literatura (estar associado tanto com o fator em estudo quanto com o desfecho $p \leq 0,20$). O nível de significância aceito foi de 5% para todas as outras análises.

ASPECTOS ÉTICOS

Todos os pacientes e seus responsáveis assinaram o termo de consentimento informado previamente ao estudo. Foi assegurada a interrupção em qualquer momento do estudo e o sigilo dos dados.

Posteriormente foram coletados dos pacientes 5mL de sangue venoso. As amostras foram armazenadas de forma a assegurar que a identificação de cada participante fosse possível apenas por um pesquisador.

Este estudo abrangeu os princípios bioéticos de autonomia, beneficência, não-maleficência, veracidade e confidencialidade, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Psychiatric Association (1968) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 2nd ed. American Psychiatric Press, Washington DC

American Psychiatric Association (1980) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 3rd ed. American Psychiatric Press, Washington DC

American Psychiatric Association (1987) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 3rd edn-revised. American Psychiatric Press, Washington DC

American Psychiatric Association (1994) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed. American Psychiatric Press, Washington DC

American Academy of Child and Adolescent Psychiatry (1997) Practice parameters for the assessment and treatment of children, adolescents and adults with Attention – Deficit/Hyperactivity disorder. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 36(supl. 10):85S-121S

American Academy of Pediatrics (2001) Clinical Practice Guideline: Treatment of school age children with ADHD. Pediatrics 108:1033-1044

Arranz MJ, Kapur S (2008) Pharmacogenetics in Psychiatry: Are We Ready for Widespread Clinical Use? Schizophrenia Bulletin vol. 34(6):1130–1144

Ariyoshi N, Sawamura Y, Kamataki T (2001) A novel single nucleotide polymorphism altering stability and activity of CYP2a6. *Biochem Biophys Res Commun* 281:810–814

Arnsten AF, Dudley AG (2005) Methylphenidate improves prefrontal cortical cognitive function through alpha2 adrenoceptor and dopamine D1 receptor actions: Relevance to therapeutic effects in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Behav Brain Funct* 1(1):2

Babinski LM, Hartsough CS, Lambert NM (1999) Childhood conduct problems, hyperactivity–impulsivity, and inattention as predictors of adult criminal activity. *J Child Psychol Psychiatry* 40:347–355

Baeyens D, Roeyers H, VandeWalle J (2006) Subtypes of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): Distinct or Related Disorders Across Measurement Levels? *Child Psychiatry Hum Dev* 36:403–417

Barkley RA (2003) Issues in the diagnosis of attention-deficit-hyperactivity disorder in children. *Brain Dev* 25:77–83

Barkley RA (2002) Major life activity and health outcomes associated with Attention–Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Clin Psychiatry* 63(supl. 12):10-15

Barkley RA, Guevremont DC, Anastopoulos AD, DuPaul GJ, Shelton TL (1993) Driving-related risks and outcomes of attention deficit hyperactivity disorder in adolescents and young adults: a 3- to 5-year follow-up survey. *Pediatrics* 92:212-218

Barkley RA, Grodzinsky G, DuPaul GJ (1992) Frontal lobe functions in attention deficit disorder with and without hyperactivity: a review and research report. *J Abnorm Child Psychol* 20:163-188

Barkley RA, McMurray MB, Edelbrock CS, Robbins K (1990) Side effects of methylphenidate in children with attention deficits hyperactivity disorder: a systemic, placebo-controlled evaluation. *Pediatrics* 86:184-192

Barr CL, Kroft J, Feng Y, Wigg K, Roberts W, Malone M, Ickowicz A, Schachar R, Tannock R, Kennedy JL. (2002) The norepinephrine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet* 114:255-259

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. *Neuropsychopharmacol* 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

Biederman J Spencer T Wilens T (2004) Evidence-based pharmacotherapy for ADHD. *Int J Neuropsychopharmacol* 7: 77-97

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

Biederman J, Faraone SV, Mick E, Williamson S, Wilens TE, Spencer TJ, Weber W, Jetton J, Kraus I, Pert J, Zallen B (1999a) Clinical correlates of ADHD in females: findings from a large group of girls ascertained from pediatric and psychiatric referral sources. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 38:966-975

Biederman J Spencer T (1999b) Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol Psychiatry* 46: 1234-1242

Biederman J (1998) Attention-deficit/hyperactivity disorder: A life span perspective. *J Clin Psychiatry* 59 (suppl 7): 4-16

Biederman J Newcorn J Sprich S (1991) Comorbidity of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder With Conduct, Depressive, Anxiety, and Other Disorders. *Am J Psychiatry* 148(5):564-577

Birnbaum HG, Kessler RC, Lowe SW, Secnik K, Greenberg PE, Leong SA, Swensen AR (2005) 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* 21(2): 195-206

Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK, Clasen LS, Sharp WS, Inoff-Germain G, Wavrant-De Vrièze F, Arcos-Burgos M, Straub RE, Hardy JA, Castellanos FX, Rapoport JL (2005) Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 134:67-72

Carlson CC, Mann M (2000) Attention Deficit Hyperactivity Disorder, predominantly inattentive subtype. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 9:499–510

Carlson C, Lahey B, Neper R (1986) Direct Assessment of the cognitive correlates of attention deficit disorders with and without hyperactivity. *J.Behv Assessm Psychopathology* 8:69-86

Chabot R, Serfontein G (1996) Quantitative electroencephalographic profiles of children with attention deficit disorder. *Biol Psychiatry* 40:951–963

Cheon KA, Cho DY, Koo MS, Song DH, Namkoong K (2009) Association Between Homozygosity of a G Allele of the Alpha-2a-Adrenergic Receptor Gene and Methylphenidate Response in Korean Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biol Psychiatry*. 2009 Jan 14 in press

Cheon KA, Ryu YH, Kim JW, Cho DY (2005a) The Homozygosity or 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

Chess S (1960) Diagnosis and treatment of the hyperactive child. *NY State J Med* 60:2379–2385

Clarke AR, Barry RJ, McCarthy R, Selikowitz M (2001) Electroencephalogram differences in two subtypes of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Psychophysiol* 38:212–221

Clements SD, Peters J (1962) Task force one: minimal brain damage dysfunction in the schoolaged child. Arch Gen Psychiatry 6:185–197

Collings RD (2003) Differences between ADHD inattentive and combined types on the CPT. J Psychopathol Behav Assess 25:177–189

Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M (1999) Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. Mol Psychiatry 4:192-196

Disney ER, Elkins IJ, McGue M, Iacono WG (1999) Effects of ADHD, conduct disorder, and gender on substance use and abuse in adolescence. Am J Psychiatry 156:1515-1521

De Luca V, Muglia P, Jain U, Kennedy JL (2004) No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene MnII polymorphism and adult ADHD. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 124:38-40

Dulcan M (1997) Practice parameters for the assessment and treatment of children, adolescents, and adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry 36:85S-121S

Falzone TL, Gelman DM, Young JI, Grandy DK, Low MJ, Rubinstein M (2002) Absence of dopamine D4 receptors results in enhanced reactivity to unconditioned, but not conditioned, fear. *Eur J Neurosci* 15:158-164

Faraone SV, Spencer T, Aleardi M, Pagano C, Biederman J (2004) Meta-analysis of the efficacy of methylphenidate for treating adult attention deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychopharmacol* 24:24–29

Faraone SV, Doyle AE (2001a) The nature and heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 10:299-ix

Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J (2001b) Meta-analysis of the association between the dopamine D4 gene 7-repeated allele and Attention-deficit/hyperactive disorder. *Am J Psychiatry* 158:1052-1057

Faraone SV, Biederman J, Spencer T, Wilens T, Seidman LJ, Mick E, Doyle AE (2000a) Attention-Deficit Hyperactivity Disorders in adults: an overview. *Biol Psychiatry* 48:9–20

Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL (1998) Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-

deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 37:185-193

Flory K, Milich R, Lynam DR, Leukefeld C, Clayton R (2003) Relation between childhood disruptive behavior disorders and substance use and dependence symptoms in young adulthood: individuals with symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder are uniquely at risk. *Psychol Addict Behav* 17:151-158

Frank Y, Pergolizzi RG, Perilla MJ (2004) Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr Neurol* 31:345-348

Gansler DA, Fucetola R, Krengel M, Stetson S, Zimering R, Makary C (1998) Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J Nerv Ment Dis* 186:776-781

Gaub M, Carlson CL (1997) Behavioural characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J Abnorm Child Psychol* 25:103–111

Gilbert DL, Wang Z, Sallee FR, Ridel KR, Merhar S, Zhang J, Lipps TD, White C, Badreldin N, Wassermann EM (2006) Dopamine transporter genotype influences the physiological response to medication in ADHD. *Brain* 129:2038–2046

Graetz BW, Sawyer MG, Hazell PL, Arney F, Baghurst P (2001) Validity of DSM-IVADHD subtypes in a nationally representative sample of Australian children and adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 40:1410-1417

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 pharmacogenetics study. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 14, 564–574

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J (2003) Influence of dopamine genes on stimulant response in ADHD children. Proceedings of the 50th Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, Miami, USA, 7A

Hart EL, Lahey BB, Loeber R, Applegate B, Frick PJ (1995) Developmental change in attention-deficit hyperactivity disorder in boys: a four-year longitudinal study. *J Abnorm Child Psychol* 23:729–749

Harter MR, Anello-Vento L, Wood FB, Schroeder MM (1998) Separate brain potential characteristics in children with reading disability and attention deficit disorder. *Brain Cogn* 7:115–140

Hohman LB (1992) Postencephalitic Disorder in children. *Johns Hopkins Hosp Bull* 33:372–375

Horacek J, Libiger J, Hoschl C, Borzova K, Hendrychova I (2001) Clozapine-induced concordant agranulocytosis in monozygotic twins. *Int J Psychiatry Clin Pract* 5:71–73

Ingram S, Hechtman L, Morgenstern G (1999) Outcome issues in ADHD: adolescent and adult longterm outcome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 5:243–250

Kahn E, Cohen L (1934) Organic drivenness: a brainstem syndrome and experience. *N Engl J Med* 210:748–754

Kempton S, Vance A, Maruff P, Luk E, Costin J, Pantelis C (1999) Executive function and attention deficit hyperactivity disorder: stimulant medication and better executive function performance in children. *Psychol Med* 29:527–538

Kirley A, Lowe N, Hawi Z, Mullins C, Daly G, Waldman I, McCarron M, O'Donnell 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* 121B:50–54

Kirley A, Hawi Z, Daly G, McCarron M, Mullins C, Millar N, Waldman I, Fitzgerald M, Gill M (2002) Dopaminergic system genes in ADHD: toward a biological hypothesis. *Neuropsychopharmacol* 27:607–619

Klorman R, Hazel-Fernandez LA, Shaywitz SE, Fletcher JM, Marchione KE, Holahan JM, Stuebing KK, Shaywitz BA (1999) Executive functioning deficits in attention-deficit/hyperactivity disorder are independent of oppositional defiant or reading disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 38:1148-1155

Kooij JS, Boonstra AM, Vermeulen SH, Heister AG, Burger H, Buitelaar JK, Franke B (2008) Response to methylphenidate in adults with ADHD is associated with a polymorphism in SLC6A3 (DAT1). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 5;147B(2):201-208

Kornetsky C (1970): The psychopharmacology of the immature organism. *Psychopharmacol* 17:105–136

La RP, Corbin AS, Stoffregen EP, Deininger MW, Druker BJ (2002) Activity of the Bcr-Abl kinase inhibitor PD180970 against clinically relevant Bcr-Abl isoforms that cause resistance to imatinib mesylate (Gleevec, STI571). *Cancer Res* 62:7149–7153

Lahey BB, Carlson CL, Frick PJ (1997) Attention-deficit disorder without hyperactivity. In: Widiger TA, Frances AJ, Pincus AH, Ross R, First MB, Davis W (ed) *DSM-IV source book*. American Psychiatric Association, Washington DC

Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW, Barkley RA, Newcorn J, Jensen P, Richters J, Garfinkel B, Kerdyk L, Frick PJ, Ollendick T, Perez D, Hart EL, Waldman I, Shaffer D (1994) DSM-IV field trials for Attention Deficit Hyperactivity Disorder in children and adolescents. Am J Psychiatry 151:1673–1685

LaHoste GJ, Swanson JM, Wigal SB, Glabe C, Wigal T, King N, Kennedy JL (1996) Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder. Mol Psychiatry 1:121-124

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

Lapiz MD, Morilak DA (2006) Noradrenergic modulation of cognitive function in rat medial prefrontal cortex as measured by attentional set shifting capability. Neuroscience 137(3):1039-1049

Lario S, Calls J, Cases A, Oriola J, Torras A, Rivera F (1997) Msp I identifies a biallelic polymorphism in the promoter region of the alpha 2A-adrenergic receptor gene. Clin Genet 51(2):129-130

Laufer M, Denhoff E, Solomons G (1957a) Hyperkinetic impulse disorder in children's behaviour problems. *Psychosom Med* 19:38–49

Laufer MW, Denhoff E (1957b) Hyperkinetic behaviour syndrome in children. *J Pediatr* 50:463–474 Levin PM (1938) Restlessness in children. *Arch Neurol Psychiatry* 39:764–770

Levin PM (1938) Restlessness in children. *Arch Neurol Psychiatry* 39:764–770

Lohrisch C, Piccart M (2001) HER2/neu as a predictive factor in breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2:129–135

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

Lynam DR (1996) The early identification of chronic offenders: who is the fledgling psychopath? *Psychol Bull* 120:209–234

Lynskey MT, Fergusson DM (1995) Childhood conduct problems, attention deficit behaviors, and adolescent alcohol, tobacco, and illicit drug use. *J Abnorm Child Psychol* 23:281-302

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

Mannuzza S, Klein RG, Bessler A, Malloy P, Hynes ME (1997) Educational and occupational outcome of hyperactive boys grown up. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1997;36(9):1222-1227

Marino C, Giorda R, Vanzin L, Molteni M, Lorusso ML, Nobile M, Baschirotto C, Alda M, Battaglia M (2003) No evidence for association and linkage disequilibrium between dyslexia and markers of four dopamine-related genes. Eur Child Adolesc Psychiatry 12:198-202

Masellis M, Basile VS, Muglia P, Ozdemir V, Macciardi FM, Kennedy JL (2002) Psychiatric pharmacogenetics: personalizing psychostimulant therapy in attention deficit/hyperactivity disorder. Behav Brain Res 130:85–90

McEvoy B, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M (2002) No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene polymorphisms and ADHD in the Irish population. Am J Med Genet 114:665-666

McGough JJ (2005) Attention-deficit/hyperactivity disorder pharmacogenomics. Biol Psychiatry 57:1367-1373

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 11;16(3):1215

Milich R, Balentine AC, Lynam DR (2001) ADHD combined type and ADHD predominantly inattentive type are distinct and unrelated disorders. Clin Psychol Sci Pract 8:463–488

Morgan A, Hynd GW, Riccio C, Hall J (1996) Validity of DSM IV ADHD predominantly inattentive and combined types: relationship to previous DSM diagnoses/subtype differences. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 35:325-333

National Institute of Health (2000) National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Diagnosis and treatment of ADHD. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 39:182-193

National Institute of Mental Health (NIMH) (1985) Clinical Global Impression (CGI) Scale. Psychopharmacology Bulletin 21(4):839-844

Orvaschel H (1985) Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents. Psychopharmacol Bull 21:737-745

Piek JP, Pitcher TM, Hay DA (1999) Motor coordination and kinaesthesia in boys with attention deficit-hyperactivity disorder. Dev Med Child Neurol 41:159-165

Pfiffner LJ, Calzada E, McBurnett K (2000) Interventions to enhance social competence. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 9:689-709 x

Pitcher TM, Piek JP, Hay DA (2003) Fine and gross motor ability in males with ADHD. *Dev Med Child Neurol* 45:525-535

Pitcher TM, Piek JP, Barrett NC (2002) Timing and force control in boys with attention deficit hyperactivity disorder: subtype differences and the effect of comorbid developmental coordination disorder. *Hum Mov Sci* 21:919-945

Polanczyk G, Faraone SV, Bau CH, Victor MM, Becker K, Pelz R, Buitelaar JK, Franke B, Kooij S, van der Meulen E, Cheon KA, Mick E, Purper-Ouakil D, Gorwood P, Stein MA, Cook EH Jr, Rohde LA (2008) The impact of individual and methodological factors in the variability of response to methylphenidate in ADHD pharmacogenetic studies from four different continents. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 5;147B(8):1419-1424

Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA (2007a) The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry* 164(6):942-948

Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Guimarães AP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA (2007b) Association of the Adrenergic α_2A Receptor Gene With Methylphenidate Improvement of Inattentive Symptoms in Children and Adolescents With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Arch Gen Psychiatry 64:218-224

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

Polanczyk GV, Eizirik M, Aranovich V, Denardin D, da Silva TL, da Conceição TV, Pianca TG, Rohde LA (2003) Interrater agreement for the schedule for affective disorders and schizophrenia epidemiological version for school-age children (K-SADS-E). Rev Bras Psiquiatr 25:87-90

Power TJ, Costigan TE, Eiraldi RB, Leff SS (2004) Variations in anxiety and depression as a function of ADHD subtypes defined by DSM-IV: do subtype differences exist or not? J Abnorm Child Psychol 32:27-37

Purper-Ouakil D, Wohl M, Orejarena S, Cortese S, Boni C, Asch M, Mouren MC, Gorwood P (2008) Pharmacogenetics of Methylphenidate Response in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder: Association With the Dopamine Transporter Gene (SLC6A3). Am J of Med Gen Part B (Neuropsych Gen) 147B:1425–1430

Qian Q, Wang Y, Li J, Yang L, Wang B, Zhou R (2003) Association studies of dopamine D4 receptor gene and dopamine transporter gene polymorphisms in Han Chinese patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Beijing Da Xué Xué Bao* 35:412-418

Robaey P, Breton F, Dugas M, Renault B (1992) An event-related study on controlled and automatic processes in 6- to 8-year old boys with ADHD. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 82:330–340

Rohde LA, Mattos P (2003a) Princípios e práticas em TDAH. Porto Alegre: Artes Médicas: 236 p.

Rohde LA, Roman T, Hutz MH (2003b) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Current aspects on Pharmacogenetics. *The J Pharmacogenomics* 3:11-13

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

Rohde LA, Barbosa G, Tramontina S, Polanczyk G (2000a) Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade: Atualização diagnóstica e terapêutica. *Revista da Associação Brasileira de Psiquiatria* 22(2)7-11

Rohde LA, Biederman J, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S, Tramontina S (2000b) Exploring ADHD age-of-onset criterion in Brazilian adolescents. Eur Child Adolesc Psychiatry 9:212-218

Rohde LA, Biederman J, Busnello EA, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S, Tramontina S (1999) ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: A study of prevalence, comorbid conditions and impairments. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 38(6):716-722

Rohde LA, Ferreira MH, Zomer A, Forster L, Zimmermann H (1998) The impact of living on the streets on latency children's friendships. Rev Saude Publica 32:273-280

Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde LA, Hutz M (2006) Further evidence of the involvement of alpha-2A-adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional scores of ADHD. Mol Psychiatry 11:8-10

Roman T, Rohde LA, Hutz MH (2004) Polymorphisms of the dopamine transporter gene: influence on response to methylphenidate in attention deficit-hyperactivity disorder. Am J Pharmacogenomics 4(2):83-92

Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH (2003a) Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? Am Journal of Medical Genetics 120B:116-120

Roman T, Szobot C, Martins S, Biederman J, Rohde LA, Hutz MH (2002a) Dopamine transporter gene and response to methylphenidate in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Pharmacogenetics* 12(6):497-499

Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH (2002b) Further evidence for the association between DBH gene and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Am J Med Genet* 114:154-158

Roman T, Schmitz M, Polanczyk G, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH (2001) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A study of association with both DAT and DRD4 genes. *Am J Med Genet* 105:471-478

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.

Schmitz M, Denardin D, Silva TL, Pianca T, Roman T, Hutz MH, Faraone SV, Rohde LA (2006a) Association between alpha-2a-adrenergic receptor gene and ADHD inattentive type. *Biol Psychiatry* 60:1028-1033

Schmitz M, Denardin D, Laufer Silva T, Pianca T, Hutz MH, Faraone S, Rohde LA (2006b) Smoking during pregnancy and attention-deficit/hyperactive disorder - predominantly inattentive type: a case-control study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 45:1338-1345

Schmitz M, Cadore L, Paczko M, Kipper L, Chaves M, Rohde LA, Moura C, Knijnik M (2002) Neuropsychological performance in DSM-IV ADHD subtypes: an exploratory study with untreated adolescents. Can J Psychiatry 47:863-869

Seeger G, Schloss P, Schmidt MH, Ruter-Jungfleisch A, Henn FA (2004) Gene-environment interaction in hyperkinetic conduct disorder (HD + CD) as indicated by season of birth variations in dopamine receptor (DRD4) gene polymorphism. Neurosci Lett 366:282-286

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

Seidman LJ, Biederman J, Monuteaux MC, Weber W, Faraone SV (2000) Neuropsychological functioning in nonreferred siblings of children with attention deficit/hyperactivity disorder. J Abnorm Psychol 109:252-265

Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, Aluwahlia S. (1983) Children's Global Assessment Scale (CGAS). Arch Gen Psychiatry 40:1228-1231

Skansgaard EP, Burns GL (1998) Comparison of DSM-IV ADHD combined and predominantly inattention types: coorespondence between teacher ratings and direct observations of inattentive, hyperactivity/impulsivity, slow cognitive tempo,

oppositional defiant, and overt conduct disorder symptoms. *Child Fam Behav Ther* 20:1–14

Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987) Human Creast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235:177–182

Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R, Navia BA (2003) 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* 119:77-85

Spencer T, Biederman J, Wilens T, Faraone SV (2002) Overview and neurobiology of Attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychiatry* 63(supl. 12):3-9

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. *Neuropsychopharmacol* 30:1374-1382

Strauss AA, Kephart NC (1955) *Psychopathology and education of the brain-injured child*. Grune & Stratton, New York, NY

Strauss AA, Lehtinen LE (1947) Psychopathology and education of the brain-injured child. Grune & Stratton, New York, NY

Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB, Clevenger W, Davies M, Elliott GR, Greenhill LL, Hechtman L, Hoza B, Jensen PS, March JS, Newcorn JH, 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

Tahir E, Yazgan Y, Cirakoglu B, Ozbay F, Waldman I, Asherson PJ (2000) Association and linkage of DRD4 and DRD5 with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in a sample of Turkish children. *Mol Psychiatry* 5:396–404

Tapert SF, Granholm E, Leedy NG, Brown SA (2002) Substance use and withdrawal: neuropsychological functioning over 8 years in youth. *J Int Neuropsychol Soc* 8:873-883

Taylor E, Döpfner M, Sergeant J, Asherson P, Banaschewski T, Buitelaar J, Coghill D, Danckaerts M, Rothenberger A, Sonuga-Barke E, Steinhausen HC, Zuddas A (2004) European guidelines for hyperkinetic disorder – first upgrade. *Eur J Child Adolesc Psychiatry* 13:1–30

Tercyak KP, Lerman C, Audrain J (2002) Association of attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms with levels of cigarette smoking in a community sample of adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 41:799-805

Tharoor H, Lobos EA, Todd RD, Reiersen AM (2008) Association of dopamine, serotonin, and nicotinic gene polymorphisms with methylphenidate response in ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 5;147B(4):527-530

Todd RD, Sitdhiraksa N, Reich W, Ji TH, Joyner CA, Heath AC, Neuman RJ (2002). Discrimination of DSM-IV and latent class attention-deficit/hyperactivity disorder subtypes by educational and cognitive performance in a population-based sample of child and adolescent twins. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 41:820-828

Tribut O, Lessard Y, Reymann JM, Allain H, Bentué-Ferrer D (2002) *Pharmacogenomics Med Sci Monit* 8:152–163

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(10):1074-1080

Vojvoda D, Grimmell K, Sernyak M (1996) Monozygotic twins concordant for response to clozapine. Lancet 347:61

Wechesler D (1991) WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation

Wehmeier PM, Gebhardt S, Schmidtke J, Remschmidt H, Hebebrand J, Theisen FM (2005) Clozapine: weight gain in a pair of monozygotic twins concordant for schizophrenia and mild mental retardation. Psychiatry Res 133:273–276

Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL, Barr CL (2002) Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine Beta-hydroxylase. Am J Psychiatry 159:1046-1048

Willcutt EG, Pennington BF, Chhabildas NA, Friedman MC, Alexander J (1999) Psychiatric comorbidity associated with DSM-IV ADHD in a nonreferred sample of twins. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 38:1355-1362

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

Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J (1996) Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 35:319-324

Woo BS, Rey JM (2005) The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust N Z J Psychiatry* 39:344-353

Xu X, Knight J, Brookes K, Mill J, Sham P, Craig I, Taylor E, Asherson P (2005) 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* 134:115-118

Yang B, Chan RC, Jing J, Li T, Sham P, Chen RY (2007) A meta-analysis of association studies between the 10-repeat allele of a VNTR polymorphism in the 3'-UTR of dopamine transporter gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 5;144B(4):541-550

Yang L, Wang Y, Li J, Faraone S (2004) Association of norepinephrine transporter gene (NET) with methylphenidate response. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43:1154–1158

Zametkin AJ, Nordahl TT, Gross M, King AC, Semple WE, Rumsey J, Hamburger S, Cohen RM (1990) Cerebral glucose metabolism in adults with hyperactivity of childhood onset. *N Engl J Med* 323:1361–1366

Zeni CP, Guimarães AP, Polanczyk GV, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA (2007) No significant association between response to methylphenidate and genes of the dopaminergic and serotonergic systems in a sample of Brazilian children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 5;144B(3):391-394

ARTIGO

**Adrenergic α2A receptor gene and response to methylphenidate in
Attention- Deficit/Hyperactivity Disorder-Predominantly Inattentive Type**

da Silva TL, Pianca TG, Roman T, Hutz MH, Faraone SV, Schmitz M, Rohde LA.
J Neural Transm. 2008;115(2):341-5.

From the ADHD outpatient clinic, Child and Adolescent Psychiatric Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (TLS, TGP, MS and LAR); Department of Morphological Sciences, Federal School of Medical Sciences of Porto Alegre, Brazil (TR); Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (MHH); Department of Psychiatry, Upstate Medical University, Syracuse, New York, USA (SVF).

Corresponding author:

Luis Augusto Rohde, MD, PhD

Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4º andar - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Zip code: 90035-003.

Phone/fax: 55.51.21018094

Email: lrohde@terra.com.br

Summary

An association between *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism and response to methylphenidate in inattentive symptoms was previously suggested in children with ADHD. No investigation specifically assessed this association in ADHD – Inattentive Type (ADHD-I). In this naturalistic pharmacogenetic study, 59 subjects with ADHD-I from a non-referred sample were treated with short-acting methylphenidate and genotyped for *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism. The primary outcome measure was the inattentive subscale of the SNAP-IV applied by a child psychiatrist blinded to genotype at baseline and first month of treatment. Children and adolescents with the G allele showed significantly lower inattentive scores with MPH treatment at the first month of treatment than subjects without the G allele (n=59; F=6.14; P=0.016). We extended to ADHD-I previous findings suggesting the influence of the G allele at the *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism on the improvement of inattentive symptoms with methylphenidate in children with all ADHD subtypes.

Keywords: Attention deficit/hyperactivity disorder - inattentive type; *ADRA2A* gene; methylphenidate; pharmacogenetics.

Introduction

Attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most prevalent and heritable childhood behavioral disorders, with heritability estimates of 60% to 90%. Although the etiology of ADHD is unknown, the role of genetic factors is strongly supported by family, adoption and twin studies. The mode of transmission is unclear, but is likely to be due to many genes, each one with small effects (Faraone et al 2005). Several studies clearly documented the short-term efficacy of stimulant medication in reducing core symptoms of ADHD, as well as improving quality of life (Goldman LS et al 1998). However, although stimulants are generally regarded as effective ADHD therapies, treatment response with stimulants is quite variable. They have been described as effective in about 70% of school-aged children (Spencer et al 1996). Also laboratory studies confirm that acute responses to stimulant drugs vary across individuals (Mattay et al 2000).

Pharmacogenetic studies aim to understand the hereditary basis for variations in efficacy and side effects secondary to a medication regimen among individuals. Variations in the target sites for drugs (e.g. receptors, transporters) may be the reason why treatment failure of psychotropic agents occurs in some individuals but not in others with the same mental illness. Pharmacogenomics offers tremendous potential benefits in the areas of drug development and therapeutics. Improved clinical outcomes, decreased drug development costs, reduced adverse drug events, among others, could flow from the application of genomic technology to the study of drug response (Kurth 2000). Specifically on ADHD, considering the significant prevalence and the high heritability of the disorder, it seems a very promising research field.

Numerous candidate genes are associated with increased risk of ADHD (Faraone et al 2005). Because many of these candidates were investigated due to presumed mechanisms of action of psychostimulants, it has been hypothesized that polymorphic variants in these same genes may also influence medication responses in individual patients. In addition, there is growing evidence that genetic factors contribute to variations in response to stimulants. A number of genes thought to be associated with an increased ADHD risk have been tested for their association with the response to methylphenidate (MPH) in childhood ADHD (Khan and Faraone 2006; Polanczyk et al 2005). Most studies have evaluated the polymorphisms at the dopamine transporter gene (DAT1). Although an association between this gene and reduced response to MPH was found, also there were negative results (McGough JJ 2005).

Animal-based studies and clinical investigations suggest that noradrenergic projections to the prefrontal cortex improve cortical functions related to ADHD, such as working memory, basically through postsynaptic α 2 receptors (Arnsten and Li 2005 ; Biederman and Spencer 1999). Among the several types of α 2 receptors in the brain, α 2A is very promising because of its presence in many cerebral regions. The α 2A adrenoreceptor gene (ADRA2A) is located in chromosome 10q24–26. A -1291 C→G single-nucleotide polymorphism (SNP), creating an *MspI* site in the promoter region of the gene, was identified by Lario et al (1997). It is the most prevalent noradrenergic receptor in the prefrontal cortex (Arnsten et al 1996), and it is the site of action of guanfacine and clonidine, drugs that are used to treat ADHD (Biederman and Faraone 2005). For these reasons, ADRA2A is a good candidate for pharmacogenetics studies. In a recent study

with a clinically referred ADHD sample including all subtypes, we found a greater improvement of inattentive symptoms with methylphenidate (MPH) after one month of treatment in children and adolescents with the G allele (G/G and G/C genotypes) at *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism (Polanczyk G et al 2007). It was the only pharmacogenetic paper on this association we found in the literature.

The association between *ADRA2A* and an increased risk of ADHD have been assessed. In a non-referred sample of Brazilian children and their families, we found that homozygosity for G allele at the *ADRA2A* –1291C>G polymorphism increased the risk for ADHD-I compared with other genotypes (Schmitz M et al 2006a). Other investigations have found similar findings in ADHD clinical samples including different types of the disorder (Park L et al 2005; Roman T et al 2006)

Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder – Predominantly Inattentive Type (ADHD-I) is the most common type of ADHD in community samples, accounting for

about half of all cases (Woo BS et al 2005). Although ADHD is a highly heritable disorder, clinical heterogeneity may obscure a positive finding in molecular genetic studies since it is frequently associated with etiological heterogeneity (Faraone SV et al 2005; Sergeant J 2005). Therefore, the reduction of ADHD's clinical heterogeneity through the selection of specific ADHD types seems to be a rationale strategy, since groups with specific biological and environmental components may be identified.

This study sought to assess the association between the *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism and clinical improvement of inattentive symptoms with MPH

treatment in children and adolescents with ADHD-I in a non-clinically referred sample. Based on the prior study from our group using a broad ADHD clinical sample, we hypothesized that children and adolescents with ADHD-I presenting the G allele at *ADRA2A* -1291 C>G polymorphism would have a greater improvement in inattentive symptoms with MPH treatment.

Materials and methods

The sample for this investigation comprised children and adolescents (6 to 18 years-old) with ADHD-I who took part of a study to assess the disorder and its correlates in 12 public schools in Porto Alegre, Brazil. In brief, a sample of 100 children and adolescents with ADHD-I and 100 non-ADHD controls, matched by gender and age, were screened using teacher reports from the Swanson, Nolan, and Pelham scale - version IV (SNAP-IV) rating scale at these 12 schools. The diagnoses of ADHD-I and its comorbidities were performed according to DSM-IV criteria through a three-stage process. The screening process at the schools and the diagnostic process have been extensively described previously (Schmitz M et al 2006a; Schmitz M et al 2006b). All 100 subjects with ADHD-I enrolled in the previous investigation were invited to receive MPH treatment in our ADHD outpatient unit. Fifty-nine consented to the treatment protocol. This project was approved by the Ethical Committee of our University Hospital. Written informed consent was obtained from parents for the assessment of children. Children or adolescents provided verbal assent to participate in the study.

Patients were treated according to the program's protocol. Doses of short-acting MPH were augmented until there was no further clinical improvement or there were limiting side effects (Roman T et al 2006). MPH was administered preferentially twice daily (8 AM and noon), but an extra dose at 5-6 PM was allowed for children needing continuous coverage during evenings. Mean dose of MPH prescribed was 0.63 (SD = 0.18) mg/kg/day.

The parent-rated inattentive subscale of the SNAP-IV was the primary outcome measure. The SNAP-IV scale is a revision of the Swanson, Nolan and Pelham (SNAP) Questionnaire. The SNAP-IV items are rated on a scale from 0 to 3. This measure has been frequently used in ADHD investigations, including those designed to assess clinical interventions (Swanson JM et al 2001). The internal consistency of the SNAP-IV varies from good to excellent (Stevens J et al 1998). A child psychiatrist who was blind to genotypes, completed the scale based on parental reports at baseline and after four weeks of treatment. The estimated IQ score was obtained from the Vocabulary and Block Design subtests of the Wechsler Intelligence Scale – Third Edition (WISC III) (Wechsler D 1991) administered by trained psychologists.

High-molecular-weight genomic DNA was extracted from whole blood by a salting-out procedure. Primers and protocols for polymerase chain reaction amplifications of genomic DNA samples, and genotyping were used / performed as previously described Roman T et al (2003).

Effects of the presence of the G allele (i.e., GG/C/G genotypes x CC genotype) on scores in the inattentive sub-scale of the SNAP-IV at 1 month of treatment were assessed through ANCOVA using the baseline scores as a

covariate. Potential confounders (demographic characteristics, IQ, comorbidity, and MPH dose) were included as covariates based on conceptual analyses of the literature and using a statistical definition (association with both the study factor and outcome for a $P \leq 0.20$). A significance level of 5% was accepted in all analyses (except for confounders, see above). Tests were two-tailed.

Results

We found no significant difference on age, socio-economic stratum, ethnicity, IQ, comorbidity profile (anxiety disorders, mood disorders, disruptive behavior disorders), and baseline scores in the CGAS and SNAP-IV inattentive sub-scale (parent and teacher scores) between subjects who agreed ($n = 59$) and did not agree ($n = 41$) to participate in the treatment trial. However, more families of male subjects agreed to enter in the protocol (respectively, 66.2% versus 43.6%; $p = 0.05$).

Table 1 gives the demographic and clinical characteristics of patients according to the presence of the G allele. No significant group differences were found for potential confounders (demographic characteristics, parental ADHD, IQ, comorbid conditions, baseline scores in measures assessed, and MPH dose). In addition, no potential confounder was associated with both the presence of the G allele and inattentive scores in the SNAP-IV at 4 weeks of treatment at a $P \leq 0.20$.

In the ANCOVA model considering SNAP-IV baseline inattentive scores as

a covariate, we detected a significant effect of the G allele on SNAP-IV inattentive scores at 4 weeks of treatment [CG/GG genotypes: mean score (SD) = 0.673 (0.290); CC genotype: mean score (SD) = 0.902 (0.424); n = 59; d.f. = 1; F = 6.14; p = 0.016] (Figure 1).

In addition, we found a trend for a larger number of subjects with the G allele presenting a robust response to MPH in SNAP-IV inattentive scores (decrease from baseline to 4 weeks $\geq 50\%$) compared with the number of subjects without the G allele (respectively 72.5% versus 47.4%; p = 0.083).

Discussion

We found a greater improvement of inattentive symptoms with MPH treatment already in the first month of treatment in children and adolescents with the G allele (G/G and G/C genotypes) at *ADRA2A* –1291 C>G polymorphism in a non-referred sample of Brazilian children with ADHD-I.

Our findings are consistent with prior works in animals suggesting that the *ADRA2A* gene might be associated with the response of inattentive symptoms to MPH. Recently, Arnsten and Dudley (2005), studying the effect of MPH on rats performing an attentional task, demonstrated that MPH significantly improved the performance on the task. Subsequently, MPH and an adrenergic α 2A receptor antagonist (idazoxan) were co-administered. The enhancing effect of MPH was blocked by the antagonist indicating the contribution of this receptor to the positive cognitive effects of MPH.

Also, there are previous molecular genetic investigations pointing to the role of this polymorphism of *ADRA2A* as a susceptibility allele for ADHD – and even specifically for ADHD-I. Roman et al (2003) found an association between the GG genotype at *ADRA2A* gene and inattentive scores in a sample of 92 subjects with ADHD. In a subsequent independent sample of children with the disorder, the association between inattentive symptoms and the GG genotype again was detected (Roman et al 2006). Similar findings also were obtained by Park et al (2004). Those investigators investigated a possible role of *ADRA2A* gene in ADHD by assessing three different SNPs, including the -1291 C-G SNP. A significant effect of this polymorphism was detected through quantitative TDT (QTDT) in both inattentive and hyperactive–impulsive symptom dimensions, particularly through the G allele. Moreover, haplotype analyses showed significant effects of this polymorphism by either TDT or QTDT. In both cases, the G allele of -1291 C-G SNP appeared to contribute to an increased risk, especially when inattentive symptoms were considered. In addition, our group investigated the association of this polymorphism in a non-referred sample of 100 youths with specifically the inattentive type of the ADHD. We found that homozygous subjects for the G allele at the *ADRA2A* had significantly higher odds ratio for ADHD-I than did those with other genotypes (CC - CG genotypes), even after adjusting for potential confounders (Schmitz M et al 2006a). These previous findings suggest that *ADRA2A* may be independently associated with the inattentive dimension of this disorder.

The association of the ADRA2A with the cognitive impairment in ADHD was described even in an endophenotype study. Recently, Waldman et al (2006) assessed the validity of several putative endophenotypes for ADHD that represent commonly used clinical measures of multiple cognitive/neuropsychological domains of executive functions in a sample of 176 children with ADHD and 52 of their unaffected siblings in comparison to nonADHD controls. They found that several measures of executive function showed association with *ADRA2A*, moderating the association of this gene with ADHD.

Finally, our findings extended to ADHD-I previous results from our group in an independent broad clinical sample of ADHD subjects. Polanczyk et al (2007) assessed the association between the ADRA2A -1291 C_G polymorphism and the clinical response to short-acting methylphenidate treatment in 106 children and adolescents with ADHD. To our knowledge, this was the first pharmacogenomics investigation on this gene. The results indicated a significant interaction effect between the presence of the G allele and treatment with methylphenidate over time on inattentive scores, reinforcing the body of evidences in the literature for the involvement of the noradrenergic system in the modulation of methylphenidate action.

The two main limitations of this protocol were: a) this was a naturalistic study. Since we did not have a placebo arm in this trial, an internal control to correct for any effect of time (e.g., regression to the mean) or expectancy bias was not possible. However, we minimized the chance that the higher reduction in inattentive scores with MPH detected in carriers of the G allele might be attributed to other events, since we performed an extensive assessment of potential

confounders between groups; b) MPH was administered with no control of adherence by investigators. Although it is not possible to exclude that the effects we observed were due to lack of adherence, there is no reason to expect a preferential compliance to MPH according to the presence of the G allele at the *ADRA2A*.

Application of pharmacogenetics to improve ADHD treatment and the quality of life for patients suffering from this disorder requires additional research. For the future, (1) the more the research groups achieve more uniform methodological approaches, the more it will be possible to compare studies and more importantly to combine samples. Sample size limitations that decrease the power of analysis can be overcome through these collaborative efforts. Larger samples would allow exploration of gene X gene interactions and potential covariates in drug response, such as other psychiatric comorbidities or environmental measures of adversity; (2) in addition, genome-wide approaches, which make no a priori assumptions about likely candidates, should be used on investigations about response to medication; and (3) also, the understanding of the functional significance of the candidate genes it is a very important step to the progress of this research field. Recently, Belfer et al (2005) studying a single *ADRA2A* haplotype block suggested that the -1291 C_G polymorphism can have a role in *ADRA2A* expression or function, or it can be a marker associated with another locus with a functional role.

In this study, we were able to extend to ADHD-I previous results suggesting the role of a polymorphism at *ADRA2A* in the reduction of inattentive scores

associated with MPH use in subjects with all ADHD subtypes. It corroborates the findings from neurobiological and pharmacological studies that have documented the importance of the noradrenergic system for methylphenidate's action.

Acknowledgement/Duality of Interest

This work was partially supported by research grants from: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) to LAR and MHH (Grant 307780/2004-0, and 475996/2004-6), Hospital de Clínicas de Porto Alegre and an unrestricted Grant from Eli-Lilly.

The ADHD outpatient program receives research support from the following pharmaceutical companies: Bristol-Myers Squibb, Eli-Lilly, Janssen-Cilag, and Novartis. LAR is on the speakers' bureau or is a consultant for the same companies. MS is on speakers' bureau of Novartis and Janssen-Cilag. SF receives research support from the following sources: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Shire Laboratories, Eli Lilly & Company, NIMH, NICHD, and the National Institute of Neurological Diseases and Stroke. Dr. Faraone is a speaker for the following speaker's bureaus: Eli Lilly & Company, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, and Shire Laboratories. Also, he has had an advisory or consulting relationship with the following pharmaceutical companies: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Noven Pharmaceuticals, Shire Laboratories, and Eli Lilly & Company.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the sample according to the presence of G allele

	G + n = 40	G - n= 19	P value
Age - mean (SD)	12.5 (2.9)	11.9 (3.7)	0.54
Gender: male - n (%)	31 (78)	14 (74)	0.75
Ethnicity: European-Brazilian – n (%)	22 (55)	12 (63.2)	0.59
IQ - mean (SD)	93.8 (9.6)	93.1 (12.6)	0.81
Parental ADHD - n (%)	21 (52.5)	9 (47.4)	0.79
Comorbid disorders – n (%)			
CD	1 (2.5)	0 (0)	1.00
ODD	13 (32.5)	10 (52.5)	0.16
Mood disorders	3 (7.5)	2 (10.5)	0.65
Anxiety disorders	19 (47.5)	7 (36.8)	0.58
Tourette /Tic disorders	0 (0)	1 (5.3)	0.32
Enuresis	4 (10)	0 (0)	0.29
CGAS baseline scores - mean (SD)	59.7 (5.1)	60.8 (4.8)	0.44
SNAP-IV baseline inattentive scores - mean (SD)	1.7 (0.4)	1.7 (0.5)	0.91
MPH doses prescribed - mean (SD)	0.63 (0.16)	0.63 (0.21)	0.97

Abbreviations: G +, G/G and G/C genotypes; G -, C/C genotype; SD, standard deviation; n, absolute number; IQ, intelligence coefficient; ADHD, attention-deficit-hyperactivity disorder; CD, conduct disorder; ODD, oppositional defiant disorder; CGAS, Children Global Assessment Scale; SNAP-IV, Swanson, Nolan, and Pelham scale - version IV; MPH, methylphenidate.

P values were calculated by χ^2 test or Fisher's Exact Test (categorical variables), and the Student *t* test (continuous variables with normal distribution).

References

Arnsten AF, Li BM (2005) Neurobiology of executive functions: catecholamine influences on prefrontal cortical functions. *Biol Psychiatry* 57:1377-1384

Arnsten AF, Dudley AG (2005) Methylphenidate improves prefrontal cortical cognitive function through alpha2 adrenoceptor and dopamine D1 receptor actions: Relevance to therapeutic effects in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Behav Brain Funct* 1:2

Arnsten AF, Steere JC, Hunt RD (1996) The contribution of alpha 2-noradrenergic mechanisms of prefrontal cortical cognitive function: potential significance for attentiondeficit hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 53:448-455

Belfer I, Buzas B, Hipp H, Phillips G, Taubman J, Lorincz I, Evans C, Lipsky RH, Enoch MA, Max MB, Goldman D (2005) Haplotype-based analysis of _ 2A, 2B, and 2C adrenergic receptor genes captures information on common functional loci at each gene. *J Hum Genet.* 50:12-20

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

Biederman J, Spencer T (1999) Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol.Psychiatry* 46:1234-1342

Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, Sklar P (2005) Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* Jun 1;57(11):1313-1323

Goldman LS, Genel M, Bezman RJ, Slanetz PJ (1998) Council on Scientific Affairs, American Medical Association Diagnosis and treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder in children and adolescents. *JAMA* 279:1100-1107.

Khan SA, Faraone SV (2006) The genetics of ADHD: a literature review of 2005. *Curr Psychiatry Rep* 8(5):393-397

Kurth, J.H. (2000) Pharmacogenomics: A Genetic Tool for Identifying Patients at Risk. *Drug Inform. J.*, 34, 223–227

Lario S, Calls J, Cases A, Oriola J, Torras A, Rivera F (1997) Mspl identifies a biallelic polymorphism in the promoter region of the α_2A -adrenergic receptor gene. *Clin Genet.* 51:129-130

Mattay VS, Callicott JH, Bertolino A, Heaton I, Frank JA, Coppola R, Berman KF, Goldberg TE, Weinberger DR (2000) Effects of dextroamphetamine on cognitive performance and cortical activation. *Neuroimage*. 12(3):268-275

McGough JJ (2005) Attention-deficithyperactivity disorder pharmacogenomics. Biol Psychiatry 57:1367-1373

Park L, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rapley M, Friderici KH (2005) Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. Mol Psychiatry 10:572-580.

Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Guimarães AP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA (2007) Association of the adrenergic alpha2A receptor gene with methylphenidate improvement of inattentive symptoms in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. Arch Gen Psychiatry 2007 64:218-224

Polanczyk G, Zeni C, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA (2005) Attention-deficit/hyperactivity disorder: advancing on pharmacogenomics. Pharmacogenomics 6(3):225-234

Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde LA, Hutz M (2006) Further evidence of the involvement of alpha-2A-adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional scores of ADHD. Mol Psychiatry 11:8-10

Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH (2003) Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention deficit/hyperactivity disorder? Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 120:116-120

Sergeant J (2005) Are we ready for endophenotypes in attention deficit hyperactivity disorder? Rev Bras Psiquiatr 27(4):262-263

Schmitz M, Denardin D, Silva TL, Pianca T, Roman T, Hutz M Faraone SV, Rohde LA (2006a) Association between alpha-2a-adrenergic receptor gene and ADHD inattentive type. Biol Psychiatry 60:1028-1033

Schmitz M, Denardin D, Silva TL, Pianca T, Hutz M, Faraone S Rohde LA (2006b) Smoking during pregnancy and ADHD inattentive type: a case-control study. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 45:1338-1345

Spencer T, Biederman J, Wilens T, Harding M, O'Donnell D, Griffin S (1996) Pharmacotherapy of attention deficit hyperactivity disorder across the lifespan. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 35:409–428

Stevens J, Quittner AL, Abikoff H (1998) Factors influencing elementary school teachers' rating ADHD and ODD behaviors. J Clin Child Psychol 27: 406-414

Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB, Clevenger W, Davies M, Elliott GR, Greenhill LL, Hechtman L, Hoza B, Jensen PS, March JS, Newcorn JH, 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

Waldman ID, Nigg JT, Gizer IR, Park L, Rapley MD, Friderici K (2006) The adrenergic receptor alpha-2A gene (ADRA2A) and neuropsychological executive functions as putative endophenotypes for childhood ADHD. Cogn Affect Behav Neurosci 6:18-30

Wechsler D: WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation, 1991

Woo BS, Rey JM (2005) The validity of the DSM-IV subtypes of attention deficit/hyperactivity disorder. Aust N Z J Psychiatry 39:344-353

CARTA DE PESQUISA

**The homozygosity of the 10-repeat allele at the dopamine transporter gene
and response to methylphenidate in Attention-Deficit/Hyperactivity
Disorder-Predominantly Inattentive Type**

Silva TL, Pianca TG, Roman T, Hutz MH, Schmitz M, Rohde LA

From the ADHD outpatient clinic, Child and Adolescent Psychiatric Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (TLS, TGP, MS and LAR); Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil (MHH, TR).

Corresponding author:

Luis Augusto Rohde, MD, PhD

Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4º andar - Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Zip code: 90035-003.

Phone/fax: 55.51.21018094

Email: Irohde@terra.com.br

An association between homozygosity of the 10R allele at VNTR 3'-UTR polymorphism in the dopamine transporter gene (*DAT1*) and response to methylphenidate (MPH) was previously suggested in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) (Purper-Ouakil 2008). Winsberg and Comings (1999) reported that homozygosity of the 10R allele at *DAT1* was associated with a poor response to MPH in a sample of 30 subjects. Roman and colleagues (2002) were able to replicate this previous finding in a sample of 50 Brazilian ADHD boys. In the same direction Kooij et al (2008) found an association between homozygosity of the 10R allele at *DAT1* and poor response to MPH in adults. However, different groups found contrasting findings when evaluating the same association in ADHD children (Zeni 2007, van der Meulen 2005, Bellgrove 2005, Langley 2005, Stein 2005, Lott 2005, Hamarman 2003). Nevertheless, no investigation has assessed the role of this polymorphism in the response to MPH in a specific subtype of ADHD. We examined whether this polymorphism was associated with response to MPH in Brazilian children and adolescents with ADHD – Inattentive Type (ADHD-I) through a pharmacogenetic study with a naturalistic design.

We treated 59 subjects with ADHD-I from a non-referred sample with short-acting methylphenidate and genotyped them for the 10R allele at dopamine transporter gene (*DAT1*). High molecular weight genomic DNA was extracted from whole blood lymphocytes by a salting out procedure. The polymorphic regions were amplified and genotyped using specific primers and protocols described previously (see Roman 2001)

The primary outcome measure was the parent-rated inattentive subscale of the SNAP-IV (Swanson 2001) and the CGAS (Clinical Global Assessment Scale) (Shaffer 1983) applied by a child psychiatrist blinded to genotype at baseline and first month of treatment. The SNAP-IV scale is a revision of the Swanson, Nolan and Pelham Questionnaire.

Effects of the presence of the homozygosity of the 10R allele on scores in the inattentive sub-scale of the SNAP-IV and CGAS at 1 month of treatment were assessed through ANCOVA using the baseline scores as a covariate. Potential confounders (demographic characteristics, IQ, comorbidity, and MPH dose) were included as covariates based on conceptual analyses of the literature and using a statistical definition (association with both the study factor and outcome for a $P \leq 0.20$).

No significant group differences were found for potential confounders (demographic characteristics, parental ADHD, IQ, comorbid conditions, baseline scores in measures assessed, and MPH dose). In addition, no potential confounder was associated with both the presence of homozygosity of the 10R allele and inattentive scores in the SNAP-IV at 4 weeks of treatment at a $P \leq 0.20$. In the ANCOVA model for the inattentive dimension of the SNAP-IV, considering baseline scores as a covariate, we detected a trend for an effect of the homozygosity of the 10R allele on scores at 4 weeks of treatment [$n = 59$; d.f. = 1; $F = 3.44$; $p = 0.069$]. For the CGAS, we were able to find a significant association between the homozygosity of the 10R allele and lower scores [$n = 59$; d.f. = 1; $F = 5.59$; $p = 0.018$] entering baseline scores as a covariate.

Our findings replicated studies suggesting the relevance of this polymorphism in the response to MPH in patients with ADHD, extending previous results for the refined phenotype of ADHD inattentive type. However, further studies are required to replicate our findings determining the role of this polymorphism in the response to MPH in this specific subtype of ADHD.

References

Biederman J, Spencer T: Attentiondeficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder (1999) *Biol Psychiatry* 46:1234–1242

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. *Neuropsychopharmacol* 12:2290-2297

Hamarman S, Ulger C, Fossella J, Brimacombe M, Dermody J (2003) Influence of dopamine genes on stimulant response in ADHD children. Proceedings of the 50th Annual Meeting of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, Miami, USA, 7A

Kooij JS, Boonstra AM, Vermeulen SH, Heister AG, Burger H, Buitelaar JK, Franke B (2008) Response to methylphenidate in adults with ADHD is associated with a polymorphism in SLC6A3 (DAT1). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 5;147B(2):201-208

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

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

Purper-Ouakil D, Wohl M, Orejarena S, Cortese S, Boni C, Asch M, Mouren MC, Gorwood P (2008) Pharmacogenetics of Methylphenidate Response in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder: Association With the Dopamine Transporter Gene (SLC6A3). *Am J of Med Gen Part B (Neuropsych Gen)* 147B:1425–1430

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(6):497-499

Roman T, Schmitz M, Polanczyk G, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH (2001) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A study of association with both DAT and DRD4 genes. *Am J Med Genet* 105:471-478

Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, Aluwahlia S. (1983) 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. *Neuropsychopharmacol* 30:1374-1382

Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB, Clevenger W, Davies M, Elliott GR, Greenhill LL, Hechtman L, Hoza B, Jensen PS, March JS, Newcorn JH, 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(10):1074-1080

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

Zeni CP, Guimarães AP, Polanczyk GV, Genro JP, Roman T, Hutz MH, Rohde LA (2007) No significant association between response to methylphenidate and genes of the dopaminergic and serotonergic systems in a sample of Brazilian children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 5;144B(3):391-394

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo está inserido num grande projeto que visa avaliar o subtipo predominantemente desatento do TDAH, estudando várias de suas características ambientais e alguns genes candidatos. Foi um longo e minucioso trabalho de coleta em 12 escolas públicas de Porto Alegre, análise de dados, redação de artigos e que teve como resultado uma tese e três dissertações.

Além dos genes apresentados nessa dissertação foram analisados outros polimorfismos associados ao TDAH-D: DRD4 (dopamine D4 receptor), DBH (dopamine beta-hydroxylase), NET (norepinephrine transporter). Todos com resultados negativos nessa amostra. Também, além das escalas discutidas, a escala Barkley para efeitos adversos foi aplicada a todos os casos, tanto com escore global como para cada um dos seus subitens, como os resultados foram negativos optou-se por não apresentá-la nessa dissertação.

Esse estudo tem como consequência imediata o artigo publicado e a carta de pesquisa apresentados anteriormente.

Esse é um projeto que apresenta alguns aspectos peculiares que merecem ser lembrados: a) trata-se de uma amostra não referida de TDAH-D.; b) Os resultados foram apresentados no contexto de análises estatísticas conservadoras, visto que consideramos um critério mais inclusivo para determinação de variáveis potenciais confundidoras, sendo incluídos nas análises os principais confundidores descritos na literatura; c) os pacientes receberam o diagnóstico após extensa avaliação clínica; d) optamos por incluir somente pacientes que tivessem no máximo 3 sintomas de hiperatividade-impulsividade,

evitando o risco de incluir indivíduos com subtipo combinado subliminar; e) pelo que sabemos, este é o primeiro projeto que objetivou farmacogenômica em uma amostra exclusiva de transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção.

O artigo evidencia que a presença do alelo G do polimorfismo –1291 C>G *ADRA2A* está associada a resposta ao tratamento com metilfenidato em crianças e adolescentes com TDAH-D.

Esse estudo tem um papel importante, pois ele se insere num corpo de estudos com amostras independentes que evidenciam a importância da associação entre o polimorfismo –1291 C-G do *ADRA2A* e a resposta clínica ao metilfenidato em pacientes com TDAH, observando a associação do alelo G com uma melhor resposta ao tratamento com metilfenidato. Corroborando com as evidências de estudos neurobiológicos e farmacológicos do papel do sistema noradrenérgico na ação do metilfenidato.

O sistema domaminérgico é alvo de pesquisas em TDAH. A carta de pesquisa apresentada também acrescenta aos estudos já existentes que avaliam a resposta ao metilfenidato associado ao polimorfismo de 10 repetições do DAT1. Ela é mais uma evidência que associa a homozigose de 10 repetições a pior resposta ao tratamento com metilfenidato. A CGAS é uma escala amplamente usada na pesquisa psiquiátrica, bem como o SNAP IV. Nossos dados colaboram para o questionamento desse polimorfismo, avaliando um subtipo específico do transtorno.

Nós investimos em trabalhar com um subtipo específico do transtorno por acreditar na importância da progressiva distinção em relação a aspectos clínicos e etiológicos entre os subtipos do TDAH.

Esse projeto abre questões a serem futuramente respondidas em relação ao TDAH, em especial ao subtipo desatento. Possibilita questionamentos a respeito da resposta farmacológica de cada subtipo. Sendo, assim, uma nova oportunidade de contribuir para o avanço do conhecimento científico na área do TDAH através de seleção de fenótipos mais refinados.

Este trabalho é resultado de equipe coesa e sincronizada que trabalhou por cerca de 5 anos mantendo a qualidade desde a construção do projeto até a elaboração dos artigos.

ANEXO I
TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Estudos de Caso-Controle e de Associação Intra-Familiar entre Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade com Predomínio de Desatenção, Genes de Suscetibilidade e Fatores Ambientais

Antes da 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 Marcelo Schmitz, médico e Mestre em Medicina, responsável pelo estudo, pelo telefone 51.3346.6577.

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/hiperatividade (TDAH). Pretendemos esclarecer a possível contribuição de algumas importantes dificuldades que ocorrem durante a vida (adversidades psicossociais) e suas relações com determinados genes na manifestação do TDAH. Para este fim, as crianças vão ser avaliadas através de uma análise de DNA e seus pais responderão questionários simplificados.

Como é feita esta análise do DNA?

Será coletada de cada criança ou adolescente uma amostra de 5 ml de sangue, através de punção venosa, usando agulhas e seringas descartáveis. Esta coleta será feita por uma pessoa treinada. De cada amostra de sangue será extraído o DNA, em laboratório. 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 para o paciente.

O que a família ganha com este estudo?

Este estudo poderá trazer benefícios, mesmo que a longo prazo. Com a análise do impacto das adversidades psicossociais no TDAH, poderemos saber quais são relevantes na manifestação do transtorno. Isto pode nos facilitar medidas preventivas futuramente. Além disso, sua participação ajudará no desenvolvimento de novos conhecimentos que poderão eventualmente beneficiar vocês e outras pessoas que enfrentam o mesmo problema.

Quais são 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 atendimento normal que a criança ou o adolescente tem direito.

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO PARA PACIENTES

ACORDO EM PARTICIPAR DE UM ESTUDO EM GENÉTICA

Número do Estudo: _____ **Cód. Ident. Indivíduo:** _____

Nome : _____

DN: ____ / ____ / ____

Nome do Pai: _____

Nome da Mãe: _____

Médico Supervisor: _____

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do responsável legal: _____

Assinatura do médico supervisor: _____

ANEXO II

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. Distraí-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 III

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 à 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

frequentes 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 à 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.

Escore: _____