

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA**



TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DO TRANSPORTADOR DA DOPAMINA EM ADOLESCENTES COM
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE**

Neivo da Silva Junior

Orientador: Prof.Dr. Luis Augusto Rohde

Porto Alegre, outubro 2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA**



TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DO TRANSPORTADOR DA DOPAMINA EM ADOLESCENTES COM
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE**

Neivo da Silva Junior

Orientador: Prof.Dr. Luis Augusto Rohde

Tese 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 doutor em Psiquiatria

Porto Alegre, 2011

CIP - Catalogação na Publicação

SILVA JUNIOR, NEIVO
AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DO TRANSPORTADOR DA
DOPAMINA EM ADOLESCENTES COM TRANSTORNO DE DÉFICIT DE
ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE / NEIVO SILVA JUNIOR. --
2011.
79 f.

Orientador: LUIS AUGUSTO PAIM ROHDE.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto
Alegre, BR-RS, 2011.

1. TRANSPORTADOR DA DOPAMINA. 2. SPECT. 3. TDAH.
4. PERFUSÃO . 5. NEUROIMAGEM. I. PAIM ROHDE, LUIS
AUGUSTO, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Luis Augusto Rohde pela incansável ajuda, exemplo de serenidade, dedicação e competência.

A Dra Claudia Szobot pelo pioneirismo na área de neuroimagem que proporcionou a minha inclusão ao projeto neuroimagem molecular do ProDAH.

Ao Professor Dr. Flávio Pechansky e Dr. Rodrigo Bressan pela colaboração no desenvolvimento deste projeto.

Ao Professor Dr. Osvaldo Estrela Anselmi pelos suportes técnico e funcional que proporcionaram as condições necessárias para a realização dos estudos de neuroimagem.

Ao amigo Dr. Carlos Eduardo Anselmi pela colaboração na aquisição e avaliação das imagens cerebrais.

À Alessandra pelo incentivo e suporte na realização dos sonhos.

Sumário

<i>RESUMO</i>	7
<i>ABSTRACT</i>	10
<i>INTRODUÇÃO</i>	12
<i>COMORBIDADES</i>	14
<i>NEUROIMAGEM</i>	18
<i>MARCADORES DE PERFUSÃO CEREBRAL</i>	24
<i>MARCADORES DO TRANSPORTADOR DA DOPAMINA</i>	27
<i>OBJETIVOS E HIPÓTESES</i>	34
<i>CONSIDERAÇÕES ÉTICAS</i>	35
<i>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</i>	36
<i>ARTIGOS</i>	41
<i>CONCLUSÃO</i>	78

LISTA DE ABREVIATURAS

ADHD	Attention-Deficit/Hyperactivity disorder
ASSIST	Alcohol smoking and substance screening test
BG	Background
BP	Binding potential
CD	Conduct disorder
DA	Dopamine
DAT	Transportador da dopamina
DAT1	Gene para o transportador da dopamina
DRD4	Gene para o receptor D4 de dopamina
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition
FSC	Fluxo sanguíneo cerebral
K-SADS-E	Schedule for Affective disorders and schizophrenia for school-age children epidemiological version
MINI	Mini international neuropsychiatry interview
MFD	Metilfenidato
OCC	Occipital cortex
PET	Positron emission tomography
RNM	Ressonância nuclear magnética
SPECT	Single photon emission computed tomography
SPM	Statistic Parametric Mapping
SUD	Substance use disorder
99mTc-ECD	Technetium-99m-ethyl cysteinate dimer
99mTc-TRODAT-1	Tc-99m [2-[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-8-methyl-8-azabicyclo [3,2,1]oct-2-yl methyl](2-mercaptoethyl)amino]ethyl]amino]ethanethiolato(3-)-N2,N2,S2,S2]oxo-[1R-(exo-oxo)]

RESUMO

O Transtorno de Déficit de Atenção/ Hiperatividade (TDAH) é um transtorno comportamental caracterizado por desatenção e/ou hiperatividade, impulsividade causando prejuízo funcional em múltiplos ambientes.

Anormalidades no circuito frontoestriatal, o qual é modulado pela dopamina, têm sido relatadas em pacientes com TDAH. Estudos estruturais e funcionais demonstram redução de tamanho e diminuição do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) em áreas relacionadas à rede atencional como o lóbulos frontal, parietal e temporal, estriado e cerebelo. Da mesma forma, a maioria dos estudos que utilizaram radiofármacos seletivos para o transportador da dopamina (DAT), o qual tem um papel importante no metabolismo da dopamina, mostraram maior densidade de DAT estriatal em pacientes com TDAH em comparação com grupo controle.

Devido ao fato de algumas pesquisas terem sugerido que anormalidades no fluxo sanguíneo cerebral em estruturas cortico-subcorticais poderiam estar relacionadas a mudanças no sistema dopaminérgico, decidimos investigar a relação entre a densidade do transportador da dopamina no estriado e a perfusão cerebral total. Foi utilizado, para avaliação do DAT, o radiofármaco Tc-99m TRODAT-1 com técnica tomográfica em SPECT e para avaliação da perfusão 99mTc- ECD. Dez adolescentes, diagnosticados com TDAH pelos critérios do DSM-IV, foram avaliados. A análise, através do SPM5, mostrou correlação negativa entre a densidade de DAT no estriado e o fluxo sanguíneo cerebral em cíngulo, frontal, temporal e cerebelo ($pFDR < 0,01$).

Buscando entender, um pouco mais, sobre a disponibilidade de DAT e o TDAH, desenvolvemos outra linha de pesquisa que teve como objetivo avaliar a densidade do DAT

em indivíduos com TDAH usuários de substâncias psicoativas. O transtorno de uso de substâncias psicoativas (TUSP) é uma comorbidade frequente em adolescentes com TDAH. Crianças com TDAH, acompanhadas durante a transição para a adolescência, demonstram maior uso de drogas psicoativas que o grupo controle com crianças sem TDAH. Embora alguns estudos tenham demonstrado alterações na disponibilidade do DAT em indivíduos com TUSP pouco se sabe sobre a base neurobiológica da comorbidade. Muitas teorias tentam explicar o maior risco de TUSP em pacientes com TDAH. Alguns autores têm sugerido que indivíduos com TDAH fazem uso de drogas, como cocaína e maconha, na tentativa de minimizar os sintomas do TDAH. Indivíduos com TDAH têm disfunções que sugerem o envolvimento do sistema dopaminérgico, principalmente, os núcleos da base e córtex frontal. A literatura tem demonstrado que muitas drogas de abuso afetam tanto o córtex pré-frontal como estruturas subcorticais, apresentando alterações no sistema dopaminérgico.

Assim, nós decidimos avaliar a densidade do DAT, utilizando SPECT com ^{99m}Tc -TRODAT-1, em adolescentes com TDAH, sem tratamento prévio com metilfenidato, que tinham a comorbidade de uso de substâncias psicoativas (cocaína e maconha) (TDAH+TUSP) e em adolescentes com TDAH sem a comorbidade (TDAH) e comparar com grupo controle sem TDAH e sem TUSP (controle) e grupo apenas com TUSP, sem comorbidade com TDAH (TUSP). Sessenta e dois indivíduos foram avaliados. TDAH (n=11), TDAH+TUSP (n=18), TUSP (n=14) e controle (n=19). A análise semi-quantitativa do potencial de ligação do ^{99m}Tc -TRODAT-1 mostrou que o grupo TDAH tinha aumento significativo da densidade de DAT em estriado em comparação aos outros três grupos. O grupo TDAH+TUSP, apesar de mostrar diminuição significativa da densidade de DAT em relação ao grupo TDAH, apresentou maior densidade em relação ao grupo somente TUSP sem que houvesse diferenças significativas em relação ao grupo controle (sem TDAH sem TUSP).

Com base nestes achados, poderíamos especular que o uso de maconha e cocaína poderia ser a causa responsável por reduzir a densidade de DAT em indivíduos do grupo TDAH+TUSP e que esses resultados poderiam ajudar a entender a base da teoria de automedicação.

ABSTRACT

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is a behavioral disorder characterized by marked symptoms of inattention and hyperactivity, impulsivity causing significant functional impairment in multiple settings (e.g., school and home).

Abnormalities of frontostriatal circuits, which are modulated by dopamine, have been found by imaging studies in patients with ADHD. Structural and functional studies have demonstrated reduction in size and decrease in the cerebral blood flow (CBF) in regions related to attentional networks such as frontal lobe, striatum, parietal and temporal lobes and cerebellum. In the same way, studies using special radiolabeled ligands selective of the dopamine transporter (DAT), which has a key function in dopamine metabolism, have showed higher striatal DAT availability in untreated patients with ADHD compared with controls.

Due to the fact that some investigations have suggested that CBF abnormalities in cortical-subcortical structures may reflect responses associated with dopaminergic changes, we decided evaluate the relationship between dopamine transporter density in striatum and cortical-subcortical impairment in cerebral blood flow. ^{99m}Tc- TRODAT-1 SPECT was used to evaluate DAT density and ^{99m}Tc- ECD SPECT to assess brain perfusion. Ten adolescents diagnosed with ADHD according to DSM-IV criteria were investigated. Analysis with SPM5 showed a significant negative correlation between DAT density in the striatum and cerebral blood flow in the cingulate gyrus, frontal lobe, temporal lobe and cerebellum (pFDR<0.01).

Seeking to understand more about the availability of DAT and ADHD, we developed another investigation that aimed to evaluate the density of DAT in individuals with ADHD and substance use disorder. Substance use disorder (SUD) is a common comorbidity of ADHD, frequently seen during adolescence. Children with ADHD monitored up to adolescence have

significantly greater psychoactive drug use than children without ADHD. Although several studies have shown changes in DAT in these disorders, little is known about the neurobiological basis of the comorbidity. Several theories have been proposed to explain the increased risk for SUD in patients with ADHD. Some authors suggested that patients with ADHD use addictive substances in an attempt to self-medicate the symptoms of the disorder.

Children with ADHD have dysfunctions suggesting the involvement of the dopaminergic circuits, mainly in the basal ganglia and frontal cortex. It is well documented that many drugs of abuse affect both prefrontal and subcortical areas resulting in alterations in the dopaminergic system too. Thus, we decided to evaluate striatal DAT density with ^{99m}Tc -TRODAT-1 in treatment-naive ADHD adolescents with SUD (ADHD+SUD) and without SUD (ADHD), compared to SUD adolescents without ADHD (SUD) and healthy control subjects (HC). Sixty two male age-matched subjects diagnosed with DSM-IV criteria were included: ADHD (n=11), ADHD+SUD (n=18); SUD (n=14) and HC (n=19). The ADHD group presented significantly higher striatal DAT density compared with ADHD+SUD, SUD and HC groups. Adolescents with ADHD+SUD had significantly lower DAT density than those with ADHD, but significantly higher DAT density than those with SUD only and no significant difference from the healthy control group.

Our results might suggest that the use of cannabis and cocaine are responsible for the lower striatal DAT density in the ADHD+SUD compared to the ADHD group which would help to understand the neurobiological basis for the self-medication theory.

INTRODUÇÃO

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é um transtorno neurobiológico que aparece na infância e, frequentemente, acompanha o indivíduo por toda a sua vida. Ele se caracteriza por sintomas de desatenção e/ou hiperatividade e impulsividade, num padrão persistente e mais intenso do que o esperado para a etapa do desenvolvimento [1]. O TDAH está associado à importante prejuízo em diversas áreas da vida do indivíduo que são agravados ao longo do tempo, na ausência de tratamento adequado.

Usualmente, este prejuízo é mínimo em crianças na idade pré-escolar com predomínio de desatenção, sendo mais severo em crianças com sintomas de hiperatividade e impulsividade que tendem a apresentar dificuldades nos relacionamentos familiares antes dos sete anos de idade. Ao iniciar o processo de alfabetização, há um progressivo e crescente reconhecimento do transtorno [2].

No período escolar, o TDAH está frequentemente relacionado a rendimento insatisfatório, repetência, suspensão, expulsão e dificuldade de relacionamento. Estas dificuldades, associadas à percepção de que não conseguem atender as expectativas da família e da escola, frequentemente, provocam sentimentos de baixa autoestima e inadequação [3].

A prevalência do transtorno vem sendo amplamente estudada nas últimas décadas. Estudos nacionais e internacionais que utilizam os critérios plenos do DSM-IV tendem a encontrar prevalências ao redor de 5% em crianças em idade escolar [4].

A sintomatologia clássica do TDAH caracteriza-se por desatenção, hiperatividade e impulsividade. O diagnóstico é fundamentalmente clínico, baseando-se em critérios provenientes de sistemas classificatórios como o DSM-IV e CID-10. O DSM-IV propõe a

necessidade de pelo menos seis, entre nove, sintomas de desatenção e/ou seis, entre nove, sintomas de hiperatividade/impulsividade para o diagnóstico de TDAH. O critério de idade considera que alguns sintomas que causaram prejuízo devam de estar presentes antes dos sete anos de idade. Normalmente, crianças com TDAH apresentam uma história de vida desde a idade pré-escolar com a presença de sintomas, sendo necessário que o quadro persista, pelo menos, por seis meses. É necessário, também, que os sintomas de desatenção e/ou hiperatividade e impulsividade estejam presentes em vários locais da vida da criança como na escola e em casa. Para o diagnóstico de TDAH é necessário que haja clara evidência de prejuízo clinicamente significativo no funcionamento social, acadêmico ou ocupacional [1].

É importante salientar que estes sintomas isolados podem ser decorrentes de outros problemas como sistemas educacionais ou relacionamentos familiares inadequados, ou podem estar associados a outros transtornos, usualmente, encontrados na infância, por isso, é fundamental que os sintomas não ocorram exclusivamente durante o curso de um transtorno invasivo do desenvolvimento, esquizofrenia ou transtorno psicótico e não sejam melhores explicados por outro transtorno mental.

As crianças e adolescentes com este transtorno apresentam um risco aumentado de desenvolver outras doenças psiquiátricas como comportamento antisocial, transtorno de humor e de ansiedade [5].

COMORBIDADES

Estudos têm demonstrado uma alta prevalência de comorbidade entre TDAH e os transtornos disruptivos do comportamento (30 a 50%), transtorno de ansiedade (25%) e de aprendizagem (10 a 25%) [2, 6, 7].

A coexistência do transtorno desafiador de oposição (TDO) e TDAH tem sido foco de estudo de inúmeras pesquisas. O TDO é caracterizado por um comportamento desafiador, opositivo e implicante em relação a figuras de autoridade. As crianças com TDO, em geral, desobedecem aos comandos de pais e professores, o que resulta em respostas de raiva, punitivas ou de críticas, durante as quais a criança responde discutindo, culpando os outros e tendo acesso de raiva. A identificação da comorbidade e a intervenção adequada podem melhorar tanto a qualidade de vida como o prognóstico desses pacientes [8].

A ocorrência simultânea de transtorno de conduta (TC) e TDAH é mais temida que a com TDO, devido as suas possíveis consequências. O TC é caracterizado por um comportamento que desrespeita os direitos básicos das outras pessoas, como a integridade física e a propriedade. Diferentemente do TDO, as alterações do TC se manifestam não só por um desvio do padrão normal de pequenas violações presentes na infância, mas pela presença de comportamentos anormais como assaltos, crueldade com animais e destruição de propriedade alheia. A associação do diagnóstico de TDAH e TC traz implicações à condução desses pacientes. Indivíduos com a comorbidade têm pior prognóstico acadêmico e de funcionamento psicossocial. Além disso, estes pacientes apresentam maior dificuldade para aderir ao tratamento e maior risco para apresentar abuso ou dependência de substâncias psicoativas.

A associação do transtorno de ansiedade (TA) e TDAH também tem sido documentada na literatura médica. O TA é caracterizado por medos ou preocupações excessivas que afetam o desempenho acadêmico, o convívio social e familiar. Eventos cotidianos tornam-se situações de extrema ansiedade e sofrimento. Crianças com TA costumam se queixar de cefaléia, dores de barriga e dificuldade para dormir.

Vários estudos têm apresentado, também, uma alta prevalência da comorbidade entre TDAH e abuso ou dependência de drogas na adolescência e idade adulta (9 a 40%). Discute-se ainda se o TDAH não poderia ser um fator de risco para abuso ou dependência de substâncias psicoativas. Sabe-se que é frequente a comorbidade de TDAH e transtorno de conduta e que o TC associa-se claramente a abuso/dependência de drogas. Sendo assim, apesar da alta comorbidade entre TDAH e TUSP, o risco poderia ser carregado pelo TC presente em grande parte dos indivíduos com TDAH. Os dados da literatura não são concordantes em relação ao TDAH ser um fator de risco para TUSP em adolescentes, isoladamente do TC. Outra possibilidade levantada é que poderia existir uma propensão genética em comum, ao menos parcial, para TDAH e TUSP. Neste sentido o gene do transportador de dopamina (DAT1) foi apontado como tendo efeito tanto no TDAH [9] quanto no TUSP [10].

Estima-se que 15% a 25% dos adultos com história de TUSP tenham TDAH [11]. Schubiner et al. [12], avaliaram a prevalência de TDAH e TC em adultos admitidos em dois centros de tratamento para dependentes químicos. Duzentos e um pacientes foram, randomicamente, selecionados. A hipótese testada foi que indivíduos com TDAH, com ou sem TC, poderiam estar super representados na população de pacientes com TUSP. Quarenta e oito pacientes (24%) tinham TDAH e setenta e nove (39%) tinham TC, sendo que metade destes tinham TDAH. Na amostra avaliada, os autores mostraram que existe uma alta

prevalência de TDAH em pacientes com TUSP. Biederman et al. [13], compararam 120 adultos com TDAH com 268 adultos sem TDAH (média idade 40 anos) e demonstraram taxa de uso de drogas de 52% em adultos com TDAH e 27% em adultos sem TDAH.

Diferenças importantes são observadas entre indivíduos adultos com TUSP e TDAH em relação a indivíduos sem TDAH. Adultos com TDAH tendem a ter início de abuso de substâncias mais precoce e apresentam maior frequência de uso do que indivíduos sem TDAH. O abuso de substância persiste por mais tempo e a passagem de abuso de álcool para abuso de substâncias é mais rápido do que indivíduos sem TDAH [14-16].

Embora as altas taxas de abuso de substâncias em adultos com TDAH sejam bem conhecidas, pouco se sabe sobre as verdadeiras causas desta coocorrência. Sintomatologia, comorbidades, circuitos neuronais coincidentes, deficiência comum de neurotransmissores e fatores genéticos são potenciais candidatos de causa, constantemente estudados na tentativa de entender a relação entre TDAH e TUSP. Alguns pesquisadores têm sugerido que indivíduos com TDAH poderiam fazer uso de drogas seletivas, como cocaína, que atuam de maneira similar as medicações prescritas para reduzir a sintomatologia do TDAH. Horner and Scheibe [17] avaliaram 15 adolescentes usuários de droga com TDAH e 15 usuários de droga sem TDAH. Quando questionados porque eles começaram a usar drogas ambos os grupos responderam que “por se sentirem bem”. Quando questionados porque continuavam abusando de drogas, a maioria dos indivíduos do grupo de adolescentes com TDAH citou alteração do humor enquanto que o grupo sem TDAH citou efeitos euforizantes.

Sintomas de desatenção também têm sido objeto de pesquisa em usuários de droga. Tercyak et al. [18], recentemente demonstraram importante relação entre presença de disfunção atencional e início e manutenção do uso de tabaco. Tapert et al. [19], acompanharam 66 adolescentes sem TDAH com alto risco para uso de substância durante

oito anos, com o objetivo de avaliar se sintomas atencionais poderiam prever o uso de substância. Déficit atencional e de função executiva foram preditores positivos para abuso de substância, mesmo após controlar status socioeconômico, transtorno de conduta, história familiar de uso de drogas e problemas de aprendizagem. Os jovens que apresentaram baixo escore nos testes neuropsicológicos de atenção tinham maior frequência de uso de drogas que os jovens com escore alto.

NEUROIMAGEM

Embora o seu diagnóstico seja, basicamente, clínico cada vez mais os recursos tecnológicos, como a neuroimagem, adquirem importância no entendimento das bases neurobiológicas do TDAH.

Uma das primeiras teorias anatomofuncionais propostas para tentar explicar a neurobiologia do TDAH descrevia disfunções nas áreas frontais e suas conexões subcorticais no sistema límbico. A visão anatomofuncional mais recente inclui uma circuitária neural com dois sistemas atencionais: um anterior, que parece ser dopaminérgico e envolve a região pré-frontal e suas conexões subcorticais (responsável pelo controle inibitório e funções executivas), e outro posterior (responsável pela regulação da atenção seletiva) [20].

Sabe-se que a região frontal participa na preparação de movimentos voluntários específicos, principalmente, nos movimentos dependentes de estímulos externos. Lesões nesta área cerebral podem suprimir respostas, relativamente, automáticas para certos estímulos sensoriais, sendo justamente o observado nos pacientes com TDAH.

A associação entre alterações morfológicas e funcionais nos lobos frontais e aspectos característicos do TDAH tem gerado pesquisas visando uma melhor elucidação desta correlação. Alguns autores [21, 22] realizaram ampla revisão da fisiopatologia do TDAH, ressaltando a influência tanto do lobo frontal, como da dopamina. Este neurotransmissor estaria deficitário nas sinapses pré-frontais, acarretando prejuízos no controle motor e na memória de trabalho.

Avanços nas técnicas de diagnóstico por imagem permitiram um entendimento melhor da função cerebral e, subsequentemente, levaram a um acesso acurado das disfunções cerebrais em várias doenças psiquiátricas. Métodos de imagem que avaliam o

metabolismo/ fluxo sanguíneo cerebral como, por exemplo, a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), a tomografia por emissão de pósitron (PET) e a ressonância magnética funcional (RMf) têm sido utilizados para elucidar prejuízos na função cerebral associados a doenças neuropsiquiátricas.

Positron Emission Tomography/Single Photon Emission Tomography

O princípio básico do PET e do SPECT é que a instrumentação utilizada é receptora de informações. Isto quer dizer que, para se obter as imagens, é necessário administrar ao paciente um radiofármaco marcado com um emissor de pósitron, no caso do PET, e com um emissor de fóton único no caso de SPECT. Apesar da eficiência de detecção do sinal ser maior com PET do que com SPECT, sua utilização é limitada visto que os radioisótopos emissores de pósitrons têm uma meia-vida radioativa muito curta, obrigando a necessidade de um centro de produção (ciclotron) próximo ao centro de imagem.

A melhoria de qualidade das câmaras gama, particularmente no que diz respeito à resolução e à eficiência de detecção (utilizando detectores múltiplos, fusão de imagens e colimadores fan-beam), juntamente com o desenvolvimento de novos radiofármacos, tem levado a um aumento crescente do interesse pela técnica de SPECT em neurologia e em psiquiatria. Esses esforços somados a melhoria das técnicas de análise cerebral, com a incorporação de processos de quantificação mais precisos, aumentou a credibilidade de interpretação dos achados cintilográficos.

TDAH

Recentes pesquisas têm demonstrado o envolvimento do sistema dopaminérgico na fisiopatologia do TDAH. A circuitária neuronal envolve estruturas subcorticais, como o caudado e putame, e corticais como o lobo frontal e temporo-parietal. Com o avanço das técnicas de imagem é possível investigar diferentes componentes do sistema dopaminérgico como a síntese da dopamina (DA), os receptores de dopamina e os transportadores da dopamina (DAT).

Essa aplicabilidade do método de imagem em pesquisa pode ser observada em estudos como o realizado por Ernst et al. [23] que avaliaram a síntese de DA em 10 crianças com TDAH e 10 controles. Os achados mostraram aumento da concentração do radiofármaco 18F-DOPA em estruturas cerebrais centrais em indivíduos com TDAH em relação aos controles, indicando um maior nível de atividade da dopa descarboxilase (maior nível de síntese de DA) e que o déficit de DA não estaria diretamente ligado a liberação do neurotransmissor; como o conduzido por Volkow et al. [24] que avaliou a disponibilidade de receptores D2/D3 em 19 pacientes com TDAH e 24 controles normais. Os achados mostraram redução dos receptores em caudado esquerdo no grupo TDAH em relação ao controle ou pelo realizado por Krause et al. [25] que apresentaram dados demonstrando aumento da densidade de DAT em adultos com TDAH em comparação a adultos normais. Os achados mostraram maior concentração de 99mTc-Trodat (marcador DAT) em estriado em TDAH e que este aumento de densidade de DAT acarretaria uma maior recaptção da DA na fenda, causando menor disponibilidade do neurotransmissor para os receptores pós sinápticos.

TUSP

Pesquisas recentes em usuário de droga têm sugerido que a base neurobiologia do transtorno está fundamentada em um déficit do sistema dopaminérgico. A dopamina é um neurotransmissor que tem demonstrado forte associação com uso de drogas e pode ter papel importante no desencadeamento de mudanças neurobiológicas associadas com a dependência.

A hipótese postulada é que drogas de abuso, como cocaína e maconha, poderiam causar mudanças na concentração de DA semelhantes aquelas produzidas através da liberação fisiológica deste neurotransmissor. Esta teoria foi, inicialmente, testada em dependentes de cocaína usando um marcador de DAT, através de técnica tomográfica em SPECT. Os autores descreveram que a infusão de cocaína provocava redução da disponibilidade do DAT em núcleos da base [26].

Esses achados foram reforçados por Volkow et al. [27] que, utilizando metodologia PET, demonstraram em dependentes de cocaína, durante a fase de uso, aumento da disponibilidade de DA extracelular e, durante a fase de abstinência, redução significativa de receptores D2 e de liberação de DA em caudado e putame, sendo correlacionado com redução da atividade neuronal em região orbitofrontal e cíngulo.

Estudos de follow-up que avaliaram a densidade de DAT em indivíduos usuários de droga, em abstinência, demonstraram aumento de DAT em relação à condição basal (durante o uso) [28], ou seja, existe uma ação da droga sobre a disponibilidade de DAT (diminuição), mas esta interferência não causa um dano permanente.

Um desafio na pesquisa em usuários de droga é saber por que alguns indivíduos são mais vulneráveis que outros a tornarem-se dependentes. Estudos de imagem sugerem que diferenças pré-existentes no sistema dopaminérgico poderiam ser um dos mecanismos

envolvidos na variabilidade da resposta ao uso de drogas. Volkow et al. [29] demonstraram que indivíduos não dependentes, com baixa disponibilidade de receptores D2 DA estriatal (déficit de DA), teriam aumento no efeito de recompensa da droga, tornando-os mais vulneráveis à dependência e, em dependentes em abstinência, teriam aumento da probabilidade de recaídas. Isto sugere que a relação entre níveis de receptores de DA e dependência poderiam ter uma associação negativa. Isto também foi observado em estudos pré-clínicos que mostraram que a predisposição aumentada de receptores reduz a ingestão de álcool em animais, previamente, treinados para se auto administrar álcool e em estudos clínicos que mostraram que indivíduos com forte historia familiar de alcoolismo, mas que não eram alcoólatras, apresentavam substancial aumento nos níveis de receptores em estriado comparado com indivíduos sem historia familiar de alcoolismo [30, 31].

Ressonância Magnética

O princípio básico da técnica fundamenta-se em três etapas: alinhamento, excitação e detecção de radiofrequência. O alinhamento se refere à propriedade magnética de núcleos de alguns átomos, que tendem a se orientar paralelamente a um campo magnético. Por razões físicas e pela abundância, o núcleo de hidrogênio (próton) é o elemento utilizado para produção da imagem. Assim, para que esses átomos sejam orientados numa certa direção, é necessário a ação de um campo magnético intenso. A etapa seguinte é a excitação. Sabe-se que cada núcleo de hidrogênio vibra numa determinada frequência, proporcional ao campo magnético. O aparelho emite então uma onda eletromagnética que ira gerar uma transferência de energia para os átomos de hidrogênio, fenômeno conhecido como ressonância. Quando os núcleos de hidrogênio recebem a energia, tornaram-se instáveis. Ao retornar ao estado habitual, eles emitem ondas eletromagnéticas na mesma frequência,

detectadas pelo equipamento, que irão determinar a posição no espaço e a intensidade de sinal. Estudos de neuroimagem estrutural têm demonstrado anormalidades volumétricas em lobo frontal, núcleos da base, lobo parietal e cerebelo em pacientes com TDAH [32-34]. O achado principal, observado por Nakao et al. [35] , em recente metaanálise, foi que indivíduos com TDAH apresentam redução, significativa, de volume em núcleos da base comparado com controles e que tanto idade como uso de psicoestimulantes estariam associados a volumes mais próximos do normal. A técnica de ressonância magnética funcional (RMf) tem a particularidade de obter informações relativas à determinada função cerebral. O princípio da RMf é a oxigenação sanguínea. Em áreas com maior atividade neuronal, há oferta de oxigênio maior que o consumo local. Isto causa um aumento da concentração regional de hemoglobina saturada de oxigênio (oxi-hemoglobina). Essa molécula tem propriedades magnéticas diferentes da hemoglobina não saturada (desoxi-hemoglobina). Assim, utilizando técnicas especiais (BOLD) pequenas variações da intensidade do sinal devidas à ativação cerebral podem ser observadas. A realização do exame é feita de modo a obter imagens do cérebro durante a execução da atividade que se quer estudar e outras imagens controle, onde essa tarefa não é executada. A comparação direta dos resultados dos estudos de RMf é limitada devido a variedade de testes de ativação aplicados. No entanto, um achado consistente na literatura é o de redução da atividade em frontal, parietal, cerebelo e estriado [36-38]. Estes estudos também sustentam a teoria de que um distúrbio do circuito neural entre o córtex préfrontal e o estriado estaria associado ao TDAH.

MARCADORES DE PERFUSÃO CEREBRAL

Um dos primeiros estudos com ^{99m}Tc -ECD SPECT, radiofármaco utilizado para avaliar o fluxo sanguíneo cerebral, em crianças com TDAH encontrou hipoperfusão na região central dos lobos frontais nos 11 casos avaliados e, em menor proporção, hipoperfusão no caudado. Após o uso de metilfenidato (MFD), houve aumento no fluxo nas regiões centrais, incluindo núcleos da base e mesencéfalo [39]. Com metodologia semelhante e ampliação da amostra, encontrou-se hipoperfusão bilateral no estriado, que reverteu após a administração do MFD [40]. Daniel Amen et al. [41] avaliaram a perfusão cerebral através do SPECT basal (repouso) e ativado (sob teste de concentração) em 54 pacientes com TDAH e em 18 voluntários, que não preenchiam os critérios para TDAH, selecionados em clínica psiquiátrica. A avaliação das imagens foram feitas por médico nuclear cegado para o diagnóstico clínico. A atividade relativa, em cada área cerebral, foi acessada por inspeção visual e escores de intensidade foram atribuídos na escala de +1 a +4 para áreas hiperperfusão e -1 a -4 para hipoperfusão, tendo o cerebelo como área de referência. Apesar da aparente ausência de rigor metodológico, os autores constataram que mais de 65% dos pacientes com TDAH apresentavam diminuição da perfusão cerebral, em região pré-frontal, entre o exame ativado e basal. Quando indivíduos normais foram submetidos ao mesmo procedimento, apenas 5% apresentavam este padrão perfusional. Dos 19 pacientes com TDAH (35%) que não demonstraram diminuição significativa da perfusão do lobo pré-frontal no estudo ativado, em relação ao estudo basal, constatou-se que 12 (63%) já apresentavam diminuição importante da perfusão em região pré-frontal no estudo basal.

Gustafsson et al. [42] avaliaram a perfusão cerebral em crianças com TDAH através de ^{99m}Tc -HMPAO, na condição de repouso. O resultado dos estudos de imagem foram interpretados por método visual e um grande número de regiões de interesse (ROIs) foram delineadas manualmente. Os autores sugeriram que duas alterações funcionais importantes poderiam ser observadas em TDAH, uma no lobo frontal relacionada a problemas de comportamento e outra em lobo temporal, cerebelo e estruturas subcorticais relacionadas a déficit motor. Kaya et al. [43] também investigaram a existência de mudanças perfusionais em TDAH através de ^{99m}Tc -HMPAO. Treze crianças com TDAH e sete controles pareados pela idade foram avaliados na condição de repouso. Dois médicos nucleares avaliaram as imagens por método visual. Áreas de interesse irregulares foram determinadas para avaliação semiquantitativa. O resultado encontrado foi diminuição da perfusão em lobo temporal. Spalletta et al. [44] avaliaram oito crianças com TDAH através de ^{99m}Tc -ECD. Trinta e seis ROIs foram determinadas manualmente no eixo axial. Os resultados deste estudo reforçaram o papel do lobo dorsolateral prefrontal (hipoperfusão) na patogênese do TDAH.

O grande problema observado, em muitos desses estudos, está no fato de que o método utilizado para análise das imagens de perfusão cerebral baseia-se em quantificar a absorção cerebral regional do marcador através de áreas de interesse, o que dificulta a análise dos dados de um modo amplo, uma vez que as avaliações se limitam a partes do cérebro ao invés de avaliarem o cérebro como um todo, além disso existe uma alta dependência do observador e baixa confiabilidade dos resultados.

Os métodos automatizados de quantificação de imagens cerebrais foram desenvolvidos para a análise dos dados de pesquisa de neuroimagem funcional, permitindo a comparação dos valores de fluxo sanguíneo cerebral entre diferentes grupos a serem realizados em uma base voxel-a-voxel. O mais difundido método para tal finalidade é o

Statistic Parametric Mapping. Pesquisas têm demonstrado que o uso da abordagem do SPM para a análise estatística dos dados de perfusão podem ser úteis, dadas as vantagens em relação aos métodos baseados em ROI. Uma dessas vantagens está no fato de que as análises realizadas em SPM são feitas de uma forma automatizada, sem que ocorra uma interferência marcada do observador como a observada nos métodos de inspeção baseados em áreas de interesse ou comparação visual. As análises do SPM, também, são menos pesados e mais reprodutíveis em comparação com o desenho de pequenos ROIs ao longo de várias fatias sequenciais do cérebro. Além disso, a inspeção voxel-a-voxel, de todo o cérebro, permite a detecção de alterações do fluxo sanguíneo cerebral em estruturas subcorticais e mesiais que são difíceis de serem avaliadas, de forma confiável, através dos métodos baseados em áreas delineadas de modo manual [45, 46].

Kim et al. [45] conduziram uma investigação em 40 crianças com TDAH e 17 controles com o objetivo de avaliar possíveis alterações perfusionais cerebrais utilizando o Statistic Parametric Mapping (SPM) como método de quantificação. Os autores demonstraram diminuição da perfusão em lobo prefrontal e cerebelo no grupo TDAH quando comparado com o controle. No entanto, este estudo demonstra importante limitação metodológica na seleção do grupo controles para análise comparativa.

Szobot et al. [47] , em estudo duplo cego randomizado com grupo placebo, avaliaram 36 adolescentes com TDAH com 99mTc-ECD SPECT, antes e 4 dias após intervenção (MFD ou placebo). O radiofármaco foi administrado durante a realização de teste de ativação (Continuous Performance Test - CPT). A análise quantitativa foi realizada através do SPM99, demonstrando redução da perfusão em parietal posterior esquerdo após administração de MFD.

MARCADORES DO TRANSPORTADOR DA DOPAMINA

Apesar do grande número de estudos já realizados, as causas precisas do TDAH ainda não são conhecidas. Entretanto, a influência de fatores genéticos e ambientais no seu desenvolvimento é amplamente aceita na literatura [48]. Nos últimos anos, o sistema dopaminérgico vem sendo o foco da maioria dos estudos moleculares em TDAH, visto que a proteína transportadora da dopamina é inibida pelos estimulantes como o MFD [49]. Alguns autores sugerem que devido a uma superexpressão do DAT-1, indivíduos com TDAH teriam uma maior concentração do transportador da dopamina pré-sináptico. Isso acarretaria em uma recaptação muito rápida deste neurotransmissor da fenda sináptica, diminuindo a disponibilidade da dopamina para receptores pós-sinápticos [50, 51].

O desenvolvimento de novos radiofármacos criados, especificamente, para a avaliação da função dopaminérgica tem contribuído para um melhor entendimento do TDAH. O ^{99m}Tc-TRODAT-1 é um radiofármaco que tem como sítio de ligação principal o transportador de dopamina. Estudos de SPECT com ^{99m}Tc-TRODAT-1 têm demonstrado maior densidade de concentração do DAT em núcleos da base de adultos com TDAH quando comparado com controles [25, 52-57].

Dougherty et al. [55], em uma amostra de 6 adultos com TDAH (4 mulheres e 2 homens, com idade entre 21-54), avaliaram a densidade do DAT estriatal através do radiofármaco ¹²³I- Altoprane. Pacientes com comorbidades psiquiátricas, uso de drogas e uso de terapia com metilfenidato 1 mês antes da inclusão no estudo foram excluídos. Imagens seriadas em SPECT, durante 1.5 horas, foram adquiridas e curvas de tempo-atividade foram geradas em áreas de interesse com alta concentração de DAT (estriado) e em tecidos de

referência (com baixa concentração de DAT). Os achados foram comparados com grupo controle. O estudo mostrou intensa concentração do radiofármaco em estriado e mínima atividade em outras áreas cerebrais avaliadas. O potencial de ligação no grupo TDAH foi, aproximadamente, 70% maior em relação ao grupo controle normal, demonstrando que a densidade de DAT estriatal em pacientes adultos com TDAH está aumentada em relação a indivíduos normais.

Krause et al. [25] investigaram 10 indivíduos adultos com TDAH (3 homens e 7 mulheres, idade entre 22-63) e 10 controles utilizando o SPECT com 99mTc-TRODAT-1. Os critérios de exclusão foram o uso de drogas, uso de metilfenidato no passado e comorbidades psiquiátricas. A análise semiquantitativa da densidade de DAT foi realizada através da determinação do potencial de ligação do radiotraçador ($(\text{estriatum} - \text{background}) / \text{background}$). Os resultados mostraram que os indivíduos com TDAH apresentaram aumento do potencial de ligação de 99mTc-TRODAT-1 no DAT estriatal de, aproximadamente, 17% comparado com o grupo controle pareado para sexo e idade.

Dresel et al. [52] avaliaram 17 pacientes (sete homens e dez mulheres) com TDAH e compararam com 14 voluntários normais pareados para idade e sexo. A idade média foi 38 anos (21-64 anos). Os autores mostraram que a medida da densidade de DAT, em estriado, usando 99mTc-TRODAT-1 SPECT foi significativamente maior nos indivíduos com TDAH do que no grupo controle (1.43 ± 0.18 vs 1.22 ± 0.06 , $P < 0.001$).

Cheon et al. [56] avaliaram a densidade do DAT em 9 crianças com TDAH e em 6 crianças normais através de 123I-IPT SPECT (idade média: 10 anos). Os resultados mostraram aumento significativo na densidade de captação em núcleos da base em crianças com TDAH em relação ao grupo controle. Não foram observadas correlações entre gravidade dos sintomas e taxa de ligação.

Larisch et al. [57] avaliaram 20 indivíduos com TDAH e 20 controles (11 mulheres e 9 homens) com média de idade de 35 anos. O objetivo do estudo foi determinar a densidade de DAT estriatal com 123I-FP CIT SPECT. A análise semiquantitativa foi realizada para avaliar o potencial de ligação (taxa concentração estriado x atividade cortical). Os autores demonstraram maior atividade em estriado do grupo TDAH quando comparado com o controle.

Van Dyck et al. [58] também avaliaram os níveis de DAT em pacientes com TDAH através da análise da densidade de DAT por meio de 123I- β CIT. Nove adultos com TDAH (seis homens e três mulheres) e nove controles (pareados para idade e sexo) foram avaliados. Média de idade 41 anos. Os resultados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Uma possível causa para justificar estes achados pode ser o baixo grau de especificidade seletiva deste radiofármaco pelo DAT, visto que a relação DAT versus 5HT é, em torno, de 3:1 para Trodat e 1:1 123I- β -CIT.

Hesse et al. [59] avaliaram a densidade de DAT em 17 adultos com TDAH, sem tratamento prévio, e compararam com 14 controles pareados para idade. High-resolution SPECT com 123I-FP CIT foi usado para documentação das imagens. Para quantificação do DAT, áreas de interesse foram geradas baseadas em imagens de RM em estriado (atividade em áreas de ligação específicas para o DAT e occipital (áreas não específicas para DAT). Os resultados mostraram redução da ligação do radiofármaco em estriado do grupo TDAH em comparação aos controles. Os autores sustentam estes achados a uma provável queda da regulação decorrente de baixos níveis de dopamina. Algumas limitações podem ser especuladas neste estudo como o uso de colimadores não específicos para avaliações de estruturas subcorticais e uso de imagem para coregistro não específica.

Estudos também tem avaliado a concentração de DAT no TDAH através da metodologia PET. Spencer et al. [60] avaliaram com PET (altropane), 21 adultos com TDAH, sem tratamento prévio, sem comorbidades e sem uso de nicotina. Este grupo foi comparado com grupo controle sem TDAH (n=26). Os autores observaram uma maior densidade de DAT em caudado direito em adultos com TDAH quando comparado com o grupo sem TDAH. Já Jucaite et al. [61] não demonstraram diferença significativa na densidade de DAT entre TDAH e controles utilizando PET (11C-PE2I). No entanto, este estudo comparou 12 meninos com TDAH (12-15 anos) com 10 adultos sem TDAH (19-38 anos). Em estudo recente, Volkow et al. [62] demonstraram redução da densidade de DAT utilizando PET com 11C-Cocaine em caudado esquerdo em adultos com TDAH comparado com controles. Neste estudo foram avaliados 53 pacientes com TDAH e 44 controles. Média de idade de 32 anos (± 8) e 27 homens e 26 mulheres x 31 anos (± 6) e 30 homens e 14 mulheres, respectivamente. Estes achados poderiam estar sendo influenciados pelo método de análise que utilizou coregistro entre as imagens moleculares adquiridas com PET e anatômicas provenientes de um banco de dados, ao invés do coregistro direto com a imagem anatômica referencial de cada paciente.

Pesquisas recentes têm expandido estes resultados avaliando a resposta dos pacientes com TDAH ao metilfenidato, sugerindo que o DAT é o alvo primário da medicação. Marcada redução da disponibilidade de DAT tem sido demonstrada após o tratamento com metilfenidato [25, 51, 52, 63, 64].

Johanna Krause et al. [51] investigaram se a disponibilidade de DAT estriatal poderia ter influência na resposta ao metilfenidato em TDAH. Dezoito adultos com TDAH, não fumantes e não medicados previamente, foram avaliados com 99mTc-TRODAT-1 SPECT. Dez semanas após o uso de MFD os pacientes foram reavaliados clinicamente (clinical global

improvement-CGI). Seis pacientes foram classificados como não respondentes e 12 como respondentes. Para os não respondentes, 5 dos 6 pacientes, apresentavam disponibilidade de DAT abaixo do grupo controle normal enquanto que nos os 12 pacientes que responderam ao MFD tinham disponibilidade de DAT superior ao grupo controle. Os autores observaram correlação negativa entre valores de CGI e disponibilidade de DAT estriatal e concluíram que indivíduos com TDAH com baixa densidade de DAT, aparentemente, não respondem a terapia com MFD .

Em estudo semelhante, Fougere et al. [54] mostraram em 22 adultos com TDAH, a capacidade do ^{99m}Tc-TRODAT-1 em predizer a resposta terapêutica ao MFD. A análise da densidade de DAT utilizando SPECT, pré-tratamento, demonstrou que 16 dos 17 pacientes com intensa concentração do ^{99m}Tc-TRODAT-1 responderam a medicação, enquanto nenhum dos 5 pacientes com baixa concentração do ^{99m}Tc-TRODAT-1 respondeu à terapia medicamentosa com metilfenidato. O resultado obtido neste estudo sugere que adultos com TDAH com intensa disponibilidade de DAT em estriatum respondem melhor ao MFD comparado com aqueles com baixa ligação de DAT.

Embora existam alguns poucos autores que tenham demonstrado que indivíduos com TDAH apresentam redução nos níveis de DAT em estriado, como sendo consequência de uma queda de regulação para compensar a diminuição da disponibilidade do neurotransmissor dopaminérgico, a grande maioria dos estudos relata aumento da densidade de DAT em sujeitos com TDAH em comparação com indivíduos normais, decorrentes provavelmente da super-expressão do gene DAT-1, causando aumento da densidade de DAT em estriado com consequente diminuição da oferta de dopamina na fenda sináptica devido a uma rápida recaptação do neurotransmissor.

Diferenças metodológicas como radiotraçadores com diferentes propriedades (99mTc-Trodat, 123I-IPT, 123I-β-CIT), composição da amostra e técnica de imagem distintas (SPECT e PET) poderiam estar contribuindo para a heterogeneidade dos resultados.

Embora em menor número, estudos também têm avaliado a disponibilidade do transportador da dopamina em usuários de droga.

Malison et al. [26] testaram o efeito da administração intravenosa de cocaína na densidade do DAT estriatal em seis dependentes de cocaína. A concentração de DAT foi estabelecida através da medida do potencial de ligação do radiofármaco 123I-β-CIT. Os autores descreveram que a infusão de cocaína provocava a ocupação do DAT. Após injeção de 20 e 40 mg de cocaína, uma redução de 6% e 17% na densidade de DAT foi observada, respectivamente.

A ocupação do DAT também foi descrita, em indivíduos normais, após administração de diferentes doses de metilfenidato. A densidade de DAT foi avaliada, utilizando imagens de PET, em sete indivíduos. Os autores observaram associação dose dependente à ocupação de DAT, na proporção de 12% para 5 mg, 40% para 10 mg, 54% para 20 mg e 72% para 40 mg [65]. Este mesmo grupo avaliou o efeito da administração de cocaína na disponibilidade do DAT estriatal em 17 usuários da droga. Eles demonstraram que doses intravenosas de cocaína na faixa de 0,3 - 0,6 mg/kg (dose, comumente, de abuso entre humanos) acarretaram bloqueio de cerca de 60 a 77% dos sítios de DAT em estriado [66].

Szobot et al. [63] avaliaram o efeito do MFD na disponibilidade do DAT estriatal em 17 adolescentes com TDAH com comorbidade com TUSP (maconha e cocaína). Os indivíduos foram submetidos a dois SPECT com 99mTc-TRODAT-1 (basal e após 3 semanas de tratamento com MFD). Os resultados mostraram, após 3 semanas de tratamento, redução de

52% do potencial de ligação do DAT em estriado, bem como redução significativa da severidade dos sintomas.

Estudos de acompanhamento também têm sido conduzidos com o objetivo de esclarecer o verdadeiro efeito da droga no sistema dopaminérgico. Malison et al. [28], utilizando marcador DAT 123I- β CIT, demonstraram aumento significativo na densidade de DAT em estriado (20%) em sujeitos em abstinência de cocaína quando comparado com grupo controle. Crits-Christoph et al. [67] avaliaram se o nível de DAT, medido com 99mTc-TRODAT-1, estava alterado em pacientes dependentes de cocaína que estavam em abstinência (média de 7 dias). Eles demonstraram significativo aumento nos níveis de DAT em indivíduos dependentes de cocaína em comparação aos controles, concluindo que a ação da droga sobre o DAT não teria um efeito permanente e irreversível.

Com base nestes conhecimentos e na ausência de estudos que compararam perfusão cerebral e concentração de transportador da dopamina foi desenvolvida uma linha de investigação com o objetivo de avaliar a correlação entre densidade do transportador da dopamina estriatal e perfusão cerebral total em adolescentes com TDAH. Como, também, não há estudos que avaliaram a neurobiologia através de neuroimagem em pacientes com TDAH + TUSP, uma segunda linha de investigação foi criada para avaliar a densidade do transportador da dopamina em adolescentes com TDAH, com e sem comorbidade com TUSP, tendo como grupo controle indivíduos sem TDAH e sem TUSP e indivíduos com TUSP sem TDAH.

OBJETIVOS E HIPÓTESES

A presente linha de pesquisa de neuroimagem em Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade e impulsividade tem como objetivos gerais (contemplados, respectivamente, nos artigos 1 e 2).

1. Avaliar a disponibilidade de transportador da dopamina, através da determinação de densidade de ^{99m}Tc-TRODAT estriatal, em adolescentes com TDAH com e sem a comorbidade de uso de substâncias psicoativas (cocaína e maconha) tendo como comparação grupo controle.
 - a. A hipótese testada é que indivíduos com TDAH sem comorbidade com TUSP teriam maior concentração do radiofármaco que os demais grupos e que a presença da comorbidade TUSP no grupo com TDAH causaria uma redução nos índices de captação em relação ao grupo com apenas TDAH.

2. Avaliar a relação entre alterações de perfusão cortico-subcorticais, através da análise global da distribuição cerebral de ^{99m}Tc-ECD, e concentração do transportador da dopamina, através da mensuração da densidade de captação do ^{99m}Tc-TRODAT estriatal, por meio de técnica de SPECT, em adolescentes com TDAH
 - a. A hipótese testada é que a maior atividade do marcador do DAT, em núcleos da base, poderia levar a uma diminuição da oferta de dopamina, resultando em redução do fluxo sanguíneo cerebral em regiões relacionadas com a rede atencional.

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Todos os pacientes e responsáveis receberam os esclarecimentos necessários sobre o projeto e, concordaram em participar. Foram, então, incorporados ao protocolo de pesquisa após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- [1] Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edition: DSM-IV. Washington, D.C.: . American Psychiatric Association, 1994.
- [2] MK D. 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. 1997 Oct;36(10 Suppl)::85S-121S.
- [3] Shaw-Zirt B P-LL, Chaplin W, Bergman A. Adjustment, social skills, and self-esteem in college students with symptoms of ADHD. J Atten Disord 2005 Feb;8(3):109-20.
- [4] Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. The American journal of psychiatry. 2007 Jun;164(6):942-8.
- [5] Rohde L; Mattos P. Princípios e práticas em TDAH: CO-MORBIDADES. Isabella Souza e Maria Pinheiro 2003.
- [6] Biederman J NJ, Sprich S. . Comorbidity of attention deficit hyperactivity disorder with conduct, depressive, anxiety, and other disorders. . Am J Psychiatry 1991;148(5):564-77.
- [7] Rohde LA BJ, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S., S. T. Exploring age-of-onset criterion in Brazilian adolescents. . European Child Adolesc Psychiatry 2000;9:212-18.
- [8] L. Eugene Arnold M, MD; Howard B. Abikoff, PhD; Dennis P. Cantwell, MD; C. Keith Conners, PhD; Glen Elliott, MD, PhD; Laurence L. Greenhill, MD; Lily Hechtman, MD; Stephen P. Hinshaw, PhD; Betsy Hoza, PhD; Peter S. Jensen, MD; Helena C. Kraemer, PhD; John S. March, MD, MPH; Jeffrey H. Newcorn, MD; William E. Pelham, PhD; John E. Richters, PhD; Ellen Schiller, PhD; Joanne B. Severe, MS; James M. Swanson, PhD; Donald Vereen, MD; Karen C. Wells, PhD National Institute of Mental Health Collaborative Multimodal Treatment Study of Children With ADHD (the MTA). Arch Gen Psychiatry 1997;54(9):865-870. .
- [9] Todd RH, H;Smalley, SL;Nelson SF;Willcutt, EG. Collaborative analysis of DRD4 and DAT genotypes in population defined ADHD subtypes. J Child Psychol Psychiatry. 2005;46:1067-73.
- [10] Guindalini C HM, Haddley K, Laranjeira R, Collier D et al. A dopamine transporter gene functional variant associated with cocaine abuse in brasilian sample. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;21(103):4552-7.
- [11] Wilens T. ADHD and substance abuse. . In: Spencer T, ed Adult ADHD Philadelphia, Pa: Psychiatric Clinics of North America In press. ().
- [12] Schubiner H TA, Milberger S, et al. . Prevalence of attentiondeficit/ hyperactivity disorder and conduct disorder among substance abusers. J Clin Psychiatry. 2000;61:244-51.
- [13] Biederman J, Wilens T, Mick E, Milberger S, Spencer TJ, Faraone SV. Psychoactive substance use disorders in adults with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD):

effects of ADHD and psychiatric comorbidity. *The American journal of psychiatry*. 1995 Nov;152(11):1652-8.

[14] Wilens TE. Attention-deficit/hyperactivity disorder and the substance use disorders: the nature of the relationship, subtypes at risk, and treatment issues. *Psychiatr Clin North Am*. 2004;27(2): p. 283-301.

[15] Wilens TE, et al. Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is associated with early onset substance use disorders. *J Nerv Ment Dis*. 1997;185(8): p. 475-82.

[16] Ercan ES, Coskunol, H., Varan, A., Toksoz, K. Childhood attention deficit/hyperactivity disorder and alcohol dependence: a 1-year followup. *Alcohol Alcohol*. 2003;38 (4), 352–356.

[17] Horner BR SK. Prevalence and implications of attention-deficit hyperactivity disorder among adolescents in treatment for substance abuse. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:30–6.

[18] Tercyak KP LC, Audrain J. Association of attention-deficit/ hyperactivity disorder symptoms with levels of cigarette smoking in a community sample of adolescents *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002;49:799–805.

[19] Tapert SF BM, Abrantes AM, et al. . Attention dysfunction predicts substance involvement in community youths. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2002;41:680–6.

[20] Riesgo R RL. A neurobiologia do TDAH. . In: In: Kapczinski F QJ, Izquierdo I, editores, ed. *Bases Neuroquímicas dos Transtornos Psiquiátricos* Porto Alegre Artes Médicas 2004:338-40.

[21] Pliszka SM, JT; Maas, JW Catecholamines in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Current Perspectives. . *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1996;35(3):264-72.

[22] Porrino LaL, G Different Patterns of Local Brain Energy Metabolism Associated with High and Low Doses of Methylphenidate - Relevance to its Action in Hyperactive Children. . *Biological Psychiatry*. 1987;22(2):126-38.

[23] Ernst M, Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Pascualvaca, D., Jons, P. H., & Cohen, R. M. . High midbrain [18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. . *American Journal of Psychiatry*. 1999;156:1209-15.

[24] Volkow ND, Wang, G. J., Newcorn, J., Telang, F., Solanto, M. V., Fowler, J. S., et al. . Depressed dopamine activity in caudate and preliminary evidence of limbic involvement in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. . *Archives of General Psychiatry*. 2007;64:932-40.

[25] Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett*. 2000 May 12;285(2):107-10.

[26] Malison RT, Best SE, Wallace EA, McCance E, Laruelle M, Zoghbi SS, et al. Euphorogenic doses of cocaine reduce [123I]beta-CIT SPECT measures of dopamine transporter availability in human cocaine addicts. *Psychopharmacology*. 1995 Dec;122(4):358-62.

[27] Volkow ND, Fowler, J. S., & Wang, G. J. . Role of dopamine in drug reinforcement and addiction in humans: Results from imaging studies. . *Behavioural Pharmacology*. 2002;13:355-66.

[28] Malison RT, Best SE, van Dyck CH, McCance EF, Wallace EA, Laruelle M, et al. Elevated striatal dopamine transporters during acute cocaine abstinence as measured by [123I] beta-CIT SPECT. *The American journal of psychiatry*. 1998 Jun;155(6):832-4.

- [29] Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Baler R, Telang F. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*. 2009;56 Suppl 1:3-8.
- [30] Volkow ND, Wang GJ, Begleiter H, Porjesz B, Fowler JS, Telang F, Wong C, Ma Y, Logan J, Goldstein R, Alexoff D, Thanos PK. High levels of dopamine D2 receptors in unaffected members of alcoholic families: possible protective factors. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;Sep;63(9):999-1008.
- [31] Thanos PK, Vamvakopoulos A, Freimuth P, et al. . Overexpression of dopamine D2 receptors reduces alcohol self-administration. *J Neurochem*. 2001;78:1094–1103.
- [32] Castellanos FX, Giedd J, Marsh WL, Hamburger SD, Vaituzis AC, Dickstein, DP, SS, Vauss YC, Snell JW, Lange N, Kaysen D, Krain AL, Ritchie GF, Rajapakse JC, Raj. Quantitative brain magnetic resonance imaging in attention deficit hyperactivity disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1996;53: 607–616.
- [33] Filipek PA, Semler S-CM, Steingrad R, Kennedy D, Biederman J. Volumetric MRI analysis: Comparing subjects having attention-deficit hyperactivity disorder with normal controls. *Neurology* 1997;48:589–601.
- [34] Hill DE, YR, Campbell RA, Hart B, Vigil J, Brooks W. . Magnetic resonance imaging correlates of attention-deficit/hyperactivity disorder in children. *Neuropsychology*. 2003;17: 496-506.
- [35] Tomohiro Nakao JR, Katya Rubia, and David Mataix-Cols. Gray matter volume abnormalities in ADHD: Voxel-based meta-analysis exploring the effects of age and stimulant medication. *AJP-11-02-0281*. 2011.
- [36] Bush G, Frazier, J. A., Rauch, S. L., Seidman, L. J., Whalen, P. J., Jenike, M. A., et al. . Anterior cingulate cortex dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder revealed by fMRI and the counting Stroop. *Biological Psychiatry*. 1999;45:1542-52.
- [37] Plichta MM, Vasic, N., Wolf, C., Lesch, K. P., Brummer, D., Jacob, C., et al. . Neural hypo-responsiveness and hyper-responsiveness during immediate and delayed reward processing in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*. 2008;65:7-14.
- [38] Valera EM, Faraone, S. V., Biederman, J., Poldrack, R. A., & Seidman, L. J. . Functional neuroanatomy of working memory in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*. 2005;57:439-47.
- [39] Lou HC, Bruhn P. . Focal cerebral hypoperfusion in children with dysphasia and/or attention deficit disorder. *Arch Neurol* 1984;41:825-9.
- [40] Lou HC, Bruhn P, Borner H, Nielsen JB. . Striatal dysfunction in attention deficit and hyperkinetic disorder. *Arch Neurol* 1989;46:48-52.
- [41] Amen DG, CB. High-resolution brain SPECT imaging in ADHD. *Ann Clin Psychiatry* 1997;Jun;9(2) 81-6.
- [42] Gustafsson P, Thernlund G, Ryding E, Rosen I, Cederblad M. Associations between cerebral blood-flow measured by single photon emission computed tomography (SPECT), electro-encephalogram (EEG), behaviour symptoms, cognition and neurological soft signs in children with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Acta Paediatr*. 2000 Jul;89(7):830-5.
- [43] Kaya GC, Bekis R, et al. . Technetium-99m HMPAO brain SPECT in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Ann Nucl Med* 2002;16(8):527-31.

- [44] Spalletta G PA, Pau F, Guido G, Menghini L, Caltagirone C. Prefrontal blood flow dysregulation in drug naive ADHD children without structural abnormalities. *J Neural Transm* 2001;108(10):1203-16. Prefrontal blood flow dysregulation in drug naive ADHD children without structural abnormalities. *J Neural Transm* 2001;108(10):1203-16.
- [45] Kim BN, Lee JS, Shin MS, Cho SC, Lee DS. Regional cerebral perfusion abnormalities in attention deficit/hyperactivity disorder. Statistical parametric mapping analysis. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. 2002 Oct;252(5):219-25.
- [46] Busatto GF ZD, Buchpiguel CA, et al. . A voxel-based investigation of regional cerebral blood flow abnormalities in obsessive-compulsive disorder using single photon emission computed tomography (SPECT). . *Psychiatry Res* 2000;99(1):15-27.
- [47] Szobot CM, Ketzner C, Cunha RD, Parente MA, Langleben DD, Acton PD, et al. The acute effect of methylphenidate on cerebral blood flow in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003 Mar;30(3):423-6.
- [48] Tannock R. Attention-deficit/hyperactivity disorder: advances in cognitive, neurobiological, and genetic research. . *J Child Psychol Psychiat* 1998;39:65-99.
- [49] Seeman P MB. Anti-hyperactivity medication: Methylphenidate and amphetamine. . *Mol Psychiatry* 1998;3:386-96.
- [50] Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol Psychiatry*. 1999 Mar;4(2):192-6.
- [51] Krause J, la Fougere C, Krause KH, Ackenheil M, Dresel SH. Influence of striatal dopamine transporter availability on the response to methylphenidate in adult patients with ADHD. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2005 Dec;255(6):428-31.
- [52] Dresel S, Krause J, Krause KH, LaFougere C, Brinkbaumer K, Kung HF, et al. Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [^{99m}Tc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *European journal of nuclear medicine*. 2000 Oct;27(10):1518-24.
- [53] Krause KH, Dresel SH, Krause J, la Fougere C, Ackenheil M. The dopamine transporter and neuroimaging in attention deficit hyperactivity disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003 Nov;27(7):605-13.
- [54] la Fougere C, Krause J, Krause KH, Josef Gildehaus F, Hacker M, Koch W, et al. Value of ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT to predict clinical response to methylphenidate treatment in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Nucl Med Commun*. 2006 Sep;27(9):733-7.
- [55] Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ. Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. 1999 Dec 18-25;354(9196):2132-3.
- [56] Cheon KA, Ryu YH, Kim YK, Namkoong K, Kim CH, Lee JD. Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [¹²³I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2003 Feb;30(2):306-11.
- [57] Larisch R, Sitte, W., Antke, C., Nikolaus, S., Franz, M., Tress, W., Müller, H.W. Striatal dopamine transporter density in drug naive patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. . *Nuclear Medicine Communications* 2006;27:267-70.

- [58] Van Dyck CH QD, Cretella LM, Staley JK, Malison RT, Baldwin RM, et al. Unaltered dopamine transporter availability in adult attention deficit hyperactivity disorder. . *Am J Psychiatry* 2002;159:309–12.
- [59] Hesse S, Ballaschke O, Barthel H, Sabri O. Dopamine transporter imaging in adult patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatry Res.* 2009 Feb 28;171(2):120-8.
- [60] Spencer TJ, Biederman J, Madras BK, Dougherty DD, Bonab AA, Livni E, et al. Further evidence of dopamine transporter dysregulation in ADHD: a controlled PET imaging study using altoprane. *Biol Psychiatry.* 2007 Nov 1;62(9):1059-61.
- [61] Jucaite A, Fernell, E., Halldin, C., Forsberg, H., Farde, L. Reduced midbrain dopamine transporter binding in male adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder: association between striatal dopamine markers and motor hyperactivity. . *Biological Psychiatry* 2005;57:229–38.
- [62] Volkow ND, Wang GJ, Kollins SH, Wigal TL, Newcorn JH, Telang F, et al. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *Jama.* 2009 Sep 9;302(10):1084-91.
- [63] Szobot CM, Shih MC, Schaefer T, Junior N, Hoexter MQ, Fu YK, et al. Methylphenidate DAT binding in adolescents with Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder comorbid with Substance Use Disorder--a single photon emission computed tomography with [Tc(99m)]TRODAT-1 study. *Neuroimage.* 2008 Apr 15;40(3):1195-201.
- [64] Krause J. SPECT and PET of the dopamine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert review of neurotherapeutics.* 2008 Apr;8(4):611-25.
- [65] Volkow ND, Wang, G.J., Fowler, J.S., Gatley, S.J., Logan, J., Ding, Y.S., Hitzemann, R., Pappas, N. Dopamine transporter occupancies in the human brain induced by therapeutic doses of oral methylphenidate. . *Am J Psychiatry* 1998;155 (10), 1325–1331.
- [66] Volkow ND WG, Fischman MW, Foltin RW, Fowler JS, Abumrad NN, Vitkun S, Logan J, Gatley SJ, Pappas N, Hitzemann R, Shea CE. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature.* 1997;Apr 24;386(6627):827-30.
- [67] Crits-Christoph P, Newberg A, Wintering N, Ploessl K, Gibbons MB, Ring-Kurtz S, et al. Dopamine transporter levels in cocaine dependent subjects. *Drug and alcohol dependence.* 2008 Nov 1;98(1-2):70-6.

ARTIGOS

**A STUDY OF DOPAMINE TRANSPORTERS USING ^{99m}TC-TRODAT-1 SPECT IN ADHD
COMORBID WITH SUBSTANCE USE DISORDERS**

**A study of dopamine transporters using ^{99m}Tc -TRODAT-1 SPECT in ADHD comorbid with
Substance Use Disorders**

Running Title: ADHD+SUDs: an in vivo study of DAT

Neivo da Silva Junior, M.D.; Claudia Maciel Szobot, M.D.,PhD; Ming Chi Shih, M.D.,PhD; Marcelo Queiroz Hoexter, M.D.,PhD; Carlos Eduardo Anselmi, MD; Flavio Pechansky, M.D.,PhD; Rodrigo Affonseca Bressan, M.D.,PhD; Luis Augusto Paim Rohde, M.D.,PhD.

Neivo da Silva Junior and Carlos Eduardo Anselmi: Laboratório de Medicina Nuclear do Complexo Hospitalar Santa Casa (LAMENU), Porto Alegre, Brazil. Claudia Maciel Szobot: ADHD Outpatient Program, Child and Adolescent Psychiatric Division (PRODAH), Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Center for Drug and Alcohol Research - HCPA, Universidade Federal do RGS, and Universidade Luterana do Brasil, Porto Alegre, Brazil. Ming Chi Shih, Marcelo Queiroz Hoexter and Rodrigo Affonseca Bressan: Laboratório Interdisciplinar de Neurociências Clínicas (LiNC); Department of Psychiatry, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil. Flavio Pechansky: Center for Drug and Alcohol Research - HCPA, Universidade Federal do RGS, Porto Alegre, Brazil. Luis Augusto Rohde: ADHD Outpatient Program, Child and Adolescent Psychiatric Division (PRODAH), Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento, Brazil.

Address correspondence and reprint requests: Neivo da Silva Junior; Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Ramiro Barcelos, 2350 – room 2201A; Porto Alegre, Brazil – 90035-003; E-mail: neivojr@gmail.com Tel: 55 51 3214-8242; Fax: 55 51 3359-8094

Abstract Count: 249; Word Count: 4789; Figures: 1; Tables: 2; References: 38

Key words: ADHD, Substance Use Disorders, DAT, dopamine, TRODAT.

ABSTRACT

Objectives: Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and Substance Use Disorders (SUD) frequently co-occur. Although several studies have shown changes in striatal dopamine transporter (DAT) density in these disorders, little is known about the neurobiological basis of the comorbidity. The aim of this study was to evaluate striatal DAT density in treatment-naive ADHD adolescents with SUD (ADHD+SUD) and without SUD (ADHD), compared to SUD adolescents without ADHD (SUD) and healthy control subjects (HC).

Methods: 62 male age matched subjects diagnosed with DSM-IV criteria were included: ADHD+SUD (n=18); SUD (n=14); HC (n=19), and ADHD (n=11). Urine tests confirmed participants' drug use. All subjects performed SPECT scans with 99mTc-TRODAT-1 radiotracer to evaluate DAT in vivo. Binding potential (BP) was calculated to estimate DAT density in the striatum.

Results: The mean right striatum BP were 1.68 (ADHD), 1.38 (ADHD+SUD), 1.19 (HC), 1.17 (SUD), and in left striatum 1.65 (ADHD), 1.39 (ADHD+SUD), 1.19 (HC) and 1.17 (SUD). The ADHD group presented significantly higher striatal DAT density compared with ADHD+SUD, SUD and HC groups. Adolescents with ADHD+SUD had significantly lower DAT density than those with ADHD, but significantly higher DAT density than those with SUD only and no significant difference from the healthy control group.

Conclusion: The ADHD+SUD group had lower striatal DAT density in comparison with ADHD without SUD. It is possible to speculate that the use of cannabis and cocaine is responsible for the lower striatal DAT density in this group which would help understanding the neurobiological basis for the self-medication theory in ADHD adolescents.

INTRODUCTION

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is a frequent neuropsychiatric disorder affecting around 5.3% of children and adolescents worldwide.¹ It is characterized by inappropriate levels of inattention, impulsivity and hyperactivity determining behavioral and cognitive impairments. Substance use disorder (SUD) is a common comorbidity of ADHD. The lifetime risk for SUD is approximately 52% in subjects whose ADHD symptoms persisted into adulthood.² On the other hand, studies of adolescents treated for SUD have showed that 15% to 25% have ADHD.³

Several theories have been proposed to explain the increased risk for SUD in patients with ADHD. Wilens and Biederman suggested a model where the genetic predisposition in conjunction with prenatal events and infant complications may lead to brain abnormalities that predispose toward ADHD, SUD, or the combination of both conditions.³ These factors, associated with environmental events in childhood prior to adolescence - such as stressful life events, could lead to a deterioration of the coping ability. The authors suggest that a network of interrelated brain areas may overlap, and this might help explain the attentional and executive impairments of ADHD and SUD.

Children with ADHD have dysfunctions that suggest the involvement of the dopaminergic circuits, mainly in the basal ganglia and frontal cortex, with deficits in executive function and in the reward system. It is well documented that many drugs of abuse affect both prefrontal and subcortical areas resulting in alterations in the dopaminergic system.⁴⁻⁶

The idea that a dysregulation of the dopamine circuit underlies ADHD was suggested by the action of drugs for the disorder that increase the synaptic availability of these neurotransmitters.⁷ In vivo molecular imaging studies have extend these findings suggesting that methylphenidate (MPH) increases concentration of synaptic dopamine (DA) by blocking dopamine transporters (DAT) more specifically in the basal ganglia.⁸ Among subcortical structures associated with ADHD, the striatum has been of particular interest because it is rich in dopaminergic synapses.

Neuroimaging studies have been conducted in an attempt to identify the neurobiological causes of ADHD, and have addressed the neuroanatomical and structural abnormalities in patients with this disorder. Although a large amount of neuroimaging studies in ADHD have focused their

investigation on DAT density, the available studies have demonstrated inconsistent results. Positron emission tomography (PET) and single photon emission computed tomography (SPECT) imaging studies of DAT in individuals with ADHD showed either elevated DAT density,⁹⁻¹² (ranging from a 70% increase as reported by Dougherty et al.¹³ using SPECT with 123I-altropane to a 16% as reported recently by Krause et al.⁹ using 99mTc-TRODAT-1) or reduced density.¹⁴⁻¹⁵ Methodological differences such as radioligands with different properties and variable affinity and selectivity for DAT (99mTc-TRODAT-1, 123I-IPT, 123I-β-CIT), sample composition, disease duration and imaging technique (SPECT and PET) might have contributed to the heterogeneity of the results. Several studies suggest that DAT dysregulation may be an important component of the ADHD's pathophysiology.

Many neuroimaging studies have suggested that drugs of abuse, like cocaine and cannabis, make a clear impact on the striatal dopaminergic system inducing acute changes in dopamine concentration, some of them act by blocking DAT.^{6,16} Despite this previous literature documenting modifications in the striatal dopaminergic system in both ADHD and SUD, little is known about DAT binding potential in individuals with ADHD plus SUD. Therefore, the aim of our study was to assess DAT availability, using 99mTc-TRODAT-1 SPECT in treatment-naive ADHD adolescents with and without substance use disorders (cannabis and cocaine) compared to control groups (SUD and non-ADHD/SUD groups). Our a priori primary working hypothesis was that striatal DAT availability in adolescents with ADHD would be higher, and that substance use disorder would provoke decrease in DAT density.

METHODS

This study was conducted in the division of Child and Adolescent Psychiatry at our University hospital in Porto Alegre, Brazil. The project was approved by the Institutional Review Board of Hospital de Clinicas of Porto Alegre (approved as an IRB by the Office for Human Research Protection, United States of America - IRB 00000921). Written informed consent was obtained from

all participants and their parents. Subjects were recruited from a large community sample of adolescents with ADHD and by advertisements in local newspapers and radio broadcasts.¹⁷

ADHD group inclusion criteria were: ADHD diagnosis according to DSM-IV criteria;¹⁸ age between 15 and 21 years; male gender and drug-naïve for MPH. Exclusion criteria were: presence of any neurological or significant clinical disease; diagnosis of substance abuse/dependence disorder; use of any psychotropic medication in the previous 6 months and estimated IQ less than 70.

Control group: the same criteria applied to ADHD group, except for the fact that ADHD was considered an exclusion and not inclusion criterion.

ADHD/SUD group inclusion criteria were: diagnosis of ADHD according to the DSM-IV; diagnosis of abuse/dependence (cannabis or cocaine) according to the DSM-IV; age between 15 and 21 years; male gender and drug-naïve for MPH. Exclusion criteria were: presence of any neurological or significant clinical disease; inhalant use; need for inpatient treatment for drug abuse or psychiatric comorbidities; use of any psychotropic medication in the previous 6 months and estimated IQ less than 70.

SUD group: the same criteria applied to ADHD/SUD group, except for the fact that ADHD was considered an exclusion and not inclusion criterion.

Diagnostic procedures

The diagnoses of ADHD and comorbid mental disorders were confirmed by semi – structured interviews (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School –Age Children, Epidemiological Version – K-SADS-E¹⁹) with the parents, and clinical interviews with the adolescents and their parents conducted by a child psychiatrist.

The diagnoses of SUD relied on the drug section of the International Neuropsychiatry Interview (MINI), Brazilian version, which generates diagnoses of abuse or dependence according to DSM-IV criteria. Participants had drug use confirmed by urine tests (cannabis and/ or cocaine).

Other measures included: Block Design and Vocabulary subtests of the Wechsler Intelligence Scale – 3rd edition (WISC-III) and the Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS) for IQ

estimation; the Clinical Global Assessment Scale (CGAS),²⁰ to assess impairment; the Swanson, Nolan and Pelham Scale – version IV (SNAP-IV),²¹ which is a 26-item scale based on DSM-IV ADHD and Oppositional Defiant Disorder symptoms to evaluate ADHD severity. Items are scored on a 4-point scale (from 0, never, to 3, very often). The instrument has its Portuguese translation validated for Brazil.²² In the present study, the SNAP-IV evaluation was based on the mother's report.

Imaging acquisition

Images were acquired four hours after the injection of 740 (± 74) MBq of 99mTc-TRODAT-1 (produced by the Institute of Nuclear Energy Research – INER_Taiwan R.O.C.) using a Dual-head gamma camera (Siemens Medical System, USA), with fan-beam hole collimators. For each scan a total of 128 projection angles were made over 360°, 128x128 matrix, 30 seconds/projection, and step-and-shoot mode in a circular orbit. Image data were reconstructed by standard filtered back projection using a Butterworth filter (cut-off frequency 0.40 Nq) and attenuation was corrected using Chang's method (0.12 cm^{-1}). After reconstruction and attenuation correction the final slice thickness was 3.32 mm.

DAT measurement

DAT reconstructed images (transverse slices) were sequentially grouped until all DAT data was contained in a single image (total thickness 9,9 mm). The activities in the striatum and in the occipital areas were measured by manually delineated regions of interest (ROI) by a nuclear medicine physician, who was blind to the clinical data. Binding potential (BP) was estimated to evaluate DAT density/affinity by measuring the mean specific activity in the basal ganglia region, calculated by subtracting the mean counts per pixel in the striatum (STR) from the mean counts per pixel in the occipital as background (BKG) and dividing the result by the mean counts per pixel in the background (STR–BKG/BKG). This method has been previously validated in several studies^{9, 23} and have been used in several studies from our group.²⁴⁻²⁵

To test the reliability of our manually delineated ROI, we randomly selected 8 patients from each group. A second nuclear medicine physician (blind to the clinical data) also manually delineated ROI and determined the BP measurements. The intraclass correlation coefficient showed high reliability between observers (0,94 - $p < 0.001$) and Student's paired t tests demonstrated no significant difference between observer's measurement ($p > 0.1$). The Bland-Altman analysis indicates that the 95% limits of agreement between the two observers ranged from - 0,2 to 0,2 for binding potential and mean difference was -0,01. So, the two observers consistently provide similar measures.

Statistical analysis

Initially, the association of individual characteristics – potential covariates (e.g., age, IQ, comorbidities, level of impairment) and both DAT density and group status were assessed in univariate analysis. Those characteristics significant at a p value < 0.2 in both analyses (age, CGAS and presence of any anxiety disorder) were included in the final ANCOVA model. Groups were defined as fixed factor and DAT density as dependent variable. In order to localize difference among the four groups, Least Significant Difference post hoc analysis was conducted. Significance level was set at 0.05.

RESULTS

The sample was comprised by 62 subjects divided into 4 groups: ADHD plus SUD ($n=18$); SUD ($n=14$); healthy controls ($n=19$), and ADHD ($n=11$). There were no differences between groups according to income and ethnicity ($P > 0.05$). The mean of schooling was 8.2 years. Other demographic and clinical data are summarized in Table 1.

PLEASE INSERT TABLE 1 ABOUT HERE

For both right and left striatum, the variables that surpassed our statistical threshold for inclusion in the final model as a confounder were age, CGAS and current presence of any anxiety disorder.

For the right striatum, subjects with ADHD alone showed the highest DAT density in comparison to the other 3 groups (all P values < 0.05). Those with only SUD had smaller DAT density than all other groups, although without statistical difference with the healthy control group. Adolescents with ADHD plus SUD had significantly smaller DAT density than those with ADHD, but significantly higher DAT density than those with SUD only, and no significant difference from the healthy control group. The results are similar for left striatum (see Table 2 and Figure 1).

PLEASE INSERT TABLE 2 AND FIGURE 1 HERE

Nicotine did not reach the statistical criteria to be tested as a covariate. However, there is some evidence showing an association between nicotine use and DAT density.²⁶ So, we repeated the above analyses adding nicotine daily use as a co-variable and the findings kept the same direction and significance.

We also tested the effect of group status on DAT density restricting analyses involving the ADHD+SUD group to those who did not use cocaine in an attempt to decrease noise in analyses related to use of different substances (cannabis and/or cocaine). The findings kept the same direction and significance.

DISCUSSION

Our findings documented a significant higher striatal DAT binding potential in drug-naive adolescents with ADHD as compared to a ADHD+SUD, SUD, and a healthy control group. And, for the first time in the literature, we have shown that the presence of a comorbid SUD in treatment-naive

adolescents with ADHD was associated with significantly lower DAT density, though higher than the density observed in SUD group and not different from the one detected in healthy controls.

Abnormalities of the fronto–subcortical networks, which are modulated by dopamine, have been documented in individuals with ADHD by morphological studies revealing volume decrease in basal ganglia and prefrontal cortex.²⁷⁻²⁸ In addition, functional neuroimaging studies have demonstrated that areas of the brain showing abnormal morphology and metabolism in ADHD patients are mainly the areas with abundant dopamine receptors.²⁹⁻³⁰ The involvement of the dopaminergic system and, in particular of the presynaptically located DAT, was speculated by molecular genetic studies that reported an over-expression of the dopamine transporter gene (*DAT1*) in ADHD.³¹ *DAT1* gene over-expression may lead to an increased number of DAT sites in the basal ganglia causing the decrease of dopamine available in the synaptic cleft by fast re-uptake. This hypothesis is in agreement with our results that demonstrated elevated DAT availability in the striatum in the ADHD group.

In accordance with previous reports, the majority of our ADHD patients showed higher striatal DAT concentration than the groups without ADHD. Dresel et al.²³ evaluated seventeen adult patients with ADHD (mean age = 38 years; range 21–64 years) and found that striatal DAT density measured using 99mTc-TRODAT-1 SPECT was significantly higher in ADHD patients than in normal controls (1.43±0.18 vs 1.22±0.06, $P < 0.001$). In a recent study, Cheon et al.¹¹ investigated DAT density in 9 drug-naive children (6-12 years old) with ADHD using a different radioligand 123I- IPT SPECT and found significantly higher DAT density in both basal ganglia in the ADHD group (45%). No significant correlation was found between DAT binding ratio and severity scores. In a PET study, Spencer et al.¹² evaluated 47 adults with ADHD and showed significantly increased DAT binding (15%) in the right caudate when compared with matched control subjects without this disorder. Although a few studies have not found DAT increases,¹⁴⁻¹⁵ the majority of neuroimaging studies have demonstrated that DAT availability was higher in the striatum of patients with ADHD compared with controls.^{9-12,23,32}

Previous findings extend our results assessing response to methylphenidate in ADHD patients and suggest that the cerebral dopamine transporter is the primary target for MPH in ADHD patients. The mechanism proposed is that MPH, like cocaine, blocks DAT, preventing DA reuptake,

and subsequently increases its extracellular DA levels in the synaptic cleft.³³ Marked reduction of DAT availability has been found after treatment with MPH.⁹⁻¹⁰ In addition, Fougere et al.³² evaluated if availability of striatal DAT might have an influence on the response to MPH in adults with ADHD. Twenty-two adults with ADHD underwent a 99mTc-TRODAT-1 brain SPECT. Before treatment 17 from 22 patients presented a higher striatal DAT binding as compared to healthy controls. After treatment with MPH a significant improvement of ADHD symptoms was demonstrated in 16 of these 17 patients. The 5 patients with lower DAT binding before therapy did not respond to MPH therapy. The results obtained in this study suggest that ADHD adults with high striatal DAT availability respond better to MPH as compared to those with low DAT binding. Feron et al.³⁴ showed that MPH reduction of the dopamine transporter in the striatal system does not lead to a permanent downregulation of the DAT system. Follow-up with SPECT, after withdrawal of medication, disclosed an increase of dopamine transporter activity comparable with pretreatment values, supporting the hypothesis that methylphenidate does not lead to permanent damage of the nigrostriatal dopaminergic pathways.

The same phenomenon seems to happen with SUD patients, up-regulation was also observed in two studies that evaluated DAT density in abstinent cocaine-abusing subjects. Malison et al.³⁵, using 123I-B-CIT SPECT, showed a significant elevation in striatal DAT density (20%) in an acutely abstinent cocaine group (4 days) relative to comparison group. Using 99mTc-TRODAT-1 brain SPECT, Crits-Christoph et al.³⁶ found significantly higher DAT levels in cocaine dependent subjects who were recently abstaining from cocaine (average 7.5 days) compared to controls. Drugs of abuse such as cocaine and cannabis induce increases in DA concentration that mimic those produced by physiologic DA cell firing. Malison et al.³⁷ tested the effects of cocaine in vivo in human cocaine addicts using 123I-B-CIT SPECT. The authors reported that 20 and 40 mg cocaine infusion produces a decrease in striatal DAT availability, with occupancies of 6% and 17% respectively. Cannabis, the most used drug in our sample, also affects dopaminergic circuits. There is of evidence showing that delta 9-tetrahydrocannabinol (THC), the main psychoactive component in cannabis, induces dopamine release in the striatum. Cannabinoids enhance neuronal firing of dopamine neurons and elevate striatal dopamine levels through stimulation of cortical cannabinoid CB1 receptors. In humans, a case report showed a 20% decrease in the striatal dopamine D2 receptor

binding ratio, suggestive of increased synaptic dopaminergic activity, in a subject that smoked cannabis secretly during a pause in the course of an imaging session.³⁸ Two recent studies examined the effects of THC in the dopamine release using PET, suggesting a reduction in the dopamine D2/D3 receptors availability in the striatum that was consistent with an increase in dopamine levels.⁴⁻⁵ In this way, our findings in the ADHD plus SUD group which showed lower DAT density when compared to the ADHD group, could be explained by the drugs of abuse actions inducing increased dopamine concentration and reduction in DAT availability directly (cocaine) or indirectly (cannabis). Although yet speculative, our findings might provide for the first time a potential neurobiological basis for the so-called self-medication theory in patients with ADHD and SUD. This behavior might be connected to self-treatment attempts. ADHD adult patients reported a improvement in ADHD symptoms when applying self-medication in the form of cannabis and cocaine,² and our results contribute to the neurobiological plausibility of this theory. ADHD individuals frequently use substances of abuse to attenuate their mood, restlessness, and to assist with sleep. Cocaine share a similar mechanism of action by blocking DAT, therefore it is assumed that the intake of cocaine leads to an increase in dopamine concentration in the synaptic cleft, which may provide a relief from ADHD symptoms. The high prevalence of addictive illnesses in ADHD might thus be explained by the fact that these substances stimulate the release of neurotransmitters, especially of dopamine, thus reducing the core symptoms of ADHD.

Our findings should be understood within the context of some limitations. First, our sample included only male adolescents, so the findings may not be generalized to females or other age groups. Furthermore, recruitment of subjects with ADHD without any neurological or significant clinical disease, substance abuse/dependence disorder or previous use of psychotropic medication is rather difficult; for this reason a small number of patients were investigated in the ADHD group, and the sample size had power to show small DAT density differences between groups. Our sample included individuals who had a SUD diagnosis for more than one drug category (cannabis and/or cocaine). However, we also analyzed the data separately, according to the absence of cocaine use and the same direction of the findings was found. On the other hand, the drug use pattern of our subjects is similar to what was reported in the literature, increasing external validity of our study. The

comorbidity with Conduct Disorder was significantly higher in the ADHD+SUD group than in the ADHD group in our study. Although this comorbid pattern might interfere with our findings, there was no significant difference between subjects with and without conduct disorder in DAT density from both groups. Moreover, we were not able to find any previous evidence of an association between DAT density and conduct disorder in the literature.

In conclusion, we found higher striatal DAT density in patients with ADHD. The SUD alone and the comorbidity of ADHD with SUD (cannabis and cocaine) in adolescents were associated with lower DAT availability, suggesting that the drugs of abuse may down-regulate DAT sites. Our findings might help to understand the neurobiological basis for self-medication theory in adolescents with ADHD comorbid with SUD.

Table 1: Demographic and psychiatric characteristics of the sample (n=62).

	ADHD/SUD		SUD		Control		ADHD	
	Mean (SD)	raw data (%)	Mean (SD)	raw data (%)	Mean(SD)	raw data (%)	Mean(SD)	raw data (%)
	N=18		N=14		N=19		N =11	
Age	17.5 (2.0)		18.3 (1.4)*		17.7 (1.9)		16.1 (0.9)*	
Ethnicity(European-brazilian)		13 (72%)		10 (71%)		14 (73%)		8 (72%)
SNAP-IV				NA		NA		
Total	50 (13)						43.7 (13.7)	
Inattention	17.0 (6.4)						19.0 (6.0)	
Hyperactivity	19.5 (6.2)						15.4 (7.9)	
Age at first cannabis use	13 (1.8)		14 (1.2)		NA		NA	
Age at first cocaine use	15 (2.1)		15 (1.7)		NA		NA	
SUD for cannabis CURRENT		18 (100%)		14 (100%)	NA		NA	
Days with cannabis use, last month	28 (7.1)		24 (8)		NA		NA	
SUD for cocaine CURRENT		6 (33%)		10 (72%)	NA		NA	
Days with cocaine use, last month	16 (4)		12 (3)		NA		NA	
Days with drug use, last week	6 (1.2)		5.7 (0.9))		NA		NA	
Number of cigarettes/day	15 (4)		14 (6)		0		0	
AUD		7 (39%)		6 (42.8%)	NA		NA	
CD		15 (83%)		7 (50.0%)	0		1 (9.1%)	
ODD		1 (5.6%)		1 (7.1%)	2(10.5%)		3 (27.3%)	
AD		1 (5.6%)		1 (7.1%)	2(10.5%)		2 (18.2%)	
CGAS	44.1 (10.6)		48.9 (10.9)		82.3 (4.8)*		49.5 (7.8)	

SUD - Substance Use Disorder; AUD - Alcohol Use Disorder; CD - Conduct Disorder, current; ODD - Oppositional Defiant Disorder, current; AD - current diagnosis of Generalized Anxiety, Social Phobia, Post Traumatic Stress Disorder and/or Separation Anxiety; CGAS - Clinical Global Assessment Scale.

* Statistical difference for $P \leq 0.05$. NA: not applicable.

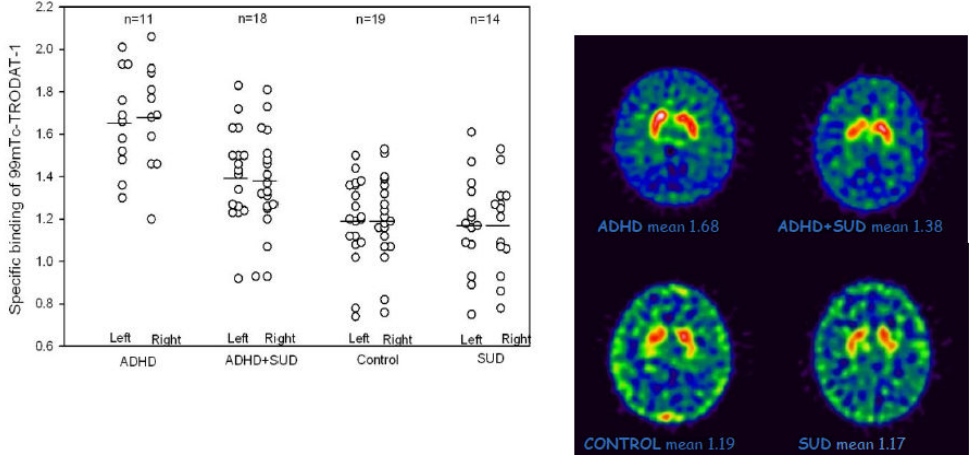
Table 2: Specific binding (STR–BKG/BKG) of 99mTc-TRODAT-1 to the DAT in the striatum

	TDAH+SUD	SUD	Control	TDAH
	mean (SD)	mean (SD)	mean (SD)	mean (SD)
Right striatum	1.38 ^a (0.22)	1.17 ^b (0.21)	1.19 ^c (0.20)	1.68 ^d (0.28)
Left striatum	1.39 ^a (0.24)	1.17 ^b (0.22)	1.19 ^c (0.20)	1.65 ^d (0.23)

^a ≠ ^b and ^a ≠ ^d (p<0.05) but ^a = ^c (p>0.05); ^b = ^c (p>0.05); ^b ≠ ^d and ^c ≠ ^d (p<0.05)

Note: All these analyses were conducted adjusted for the following potential confounders: age, CGAS and current presence of any anxiety disorder.

Figure 1. Dopamine transporter density in the striatum.



References:

- 1- Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and meta-regression analysis. *Am J Psychiatry*. Jun 2007;164(6):942-948.
- 2- Biederman J, Wilens T, Mick E, Milberger S, Spencer TJ, Faraone SV. Psychoactive substance use disorders in adults with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): effects of ADHD and psychiatric comorbidity. *Am J Psychiatry*. Nov 1995;152(11):1652-1658.
3. Wilens TE, Biederman J. Alcohol, drugs, and attention-deficit/ hyperactivity disorder: a model for the study of addictions in youth. *J Psychopharmacol*. Jul 2006;20(4):580-588.
4. Stokes PR, Egerton A, Watson B, et al. Significant decreases in frontal and temporal [11C]-raclopride binding after THC challenge. *Neuroimage*. Oct 1;52(4):1521-1527.
5. Bossong MG, van Berckel BN, Boellaard R, et al. Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology*. Feb 2009;34(3):759-766.
6. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Baler R, Telang F. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*. 2009;56 Suppl 1:3-8.
7. Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. Jul 16-22 2005;366(9481):237-248.
8. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, et al. Relationship between blockade of dopamine transporters by oral methylphenidate and the increases in extracellular dopamine: therapeutic implications. *Synapse*. Mar 1 2002;43(3):181-187.
9. Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett*. May 12 2000;285(2):107-110.
10. Krause J, la Fougere C, Krause KH, Ackenheil M, Dresel SH. Influence of striatal dopamine transporter availability on the response to methylphenidate in adult patients with ADHD. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. Dec 2005;255(6):428-431.
11. Cheon KA, Ryu YH, Kim YK, Namkoong K, Kim CH, Lee JD. Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. Feb 2003;30(2):306-311.
12. Spencer TJ, Biederman J, Madras BK, et al. Further evidence of dopamine transporter dysregulation in ADHD: a controlled PET imaging study using altoprane. *Biol Psychiatry*. Nov 1 2007;62(9):1059-1061.
13. Dougherty DD, Bonab AA, Spencer TJ, Rauch SL, Madras BK, Fischman AJ. Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Lancet*. Dec 18-25 1999;354(9196):2132-2133.
14. Hesse S, Ballaschke O, Barthel H, Sabri O. Dopamine transporter imaging in adult patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatry Res*. Feb 28 2009;171(2):120-128.
15. Volkow ND, Wang GJ, Kollins SH, et al. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *Jama*. Sep 9 2009;302(10):1084-1091.
16. Szobot CM, Shih MC, Schaefer T, et al. Methylphenidate DAT binding in adolescents with Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder comorbid with Substance Use Disorder--a single photon emission computed tomography with [Tc(99m)]TRODAT-1 study. *Neuroimage*. Apr 15 2008;40(3):1195-1201.
17. Szobot CM, Rohde LA, Bukstein O, et al. Is attention-deficit/hyperactivity disorder associated with illicit substance use disorders in male adolescents? A community-based case-control study. *Addiction*. Jul 2007;102(7):1122-1130.
18. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edition: DSM-IV. Washington, D.C.: . American Psychiatric Association, 1994.
19. Mercadante MT, Asbarch, F., Rosário, M.C., Ayres, A.M., Ferrari, M.C., Assumpção FB. K-SADS, 1o edição. São Paulo, SP. Protoc - Hospital das Clínicas da FMUSP. 1995.
20. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, et al. A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry*. Nov 1983;40(11):1228-1231.

21. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, et al. 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*. Feb 2001;40(2):168-179.
22. Mattos PP, MA;Rohde, LA;Pinto,D. A Brazilian version of the MTA-SNAP-IV for evaluation of symptoms of attention deficit/hyperactivity disorder and oppositional-defiant disorder. *Rev. Psiquiatr. Rio Grande Sul.* . 2006;28 (3):290–297.
23. Dresel S, Krause J, Krause KH, et al. Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [99mTc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *Eur J Nucl Med*. Oct 2000;27(10):1518-1524.
24. Bressan RA, Quarantini LC, Andreoli SB, et al. The posttraumatic stress disorder project in Brazil: neuropsychological, structural and molecular neuroimaging studies in victims of urban violence. *BMC Psychiatry*. 2009;9:30.
25. Shih MC, Franco de Andrade LA, Amaro E, Jr., et al. Higher nigrostriatal dopamine neuron loss in early than late onset Parkinson's disease?--a [99mTc]-TRODAT-1 SPECT study. *Mov Disord*. Apr 30 2007;22(6):863-866.
26. Krause KH, Dresel SH, Krause J, Kung HF, Tatsch K, Ackenheil M. Stimulant-like action of nicotine on striatal dopamine transporter in the brain of adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. Jun 2002;5(2):111-113.
27. Seidman LJ, Valera EM, Makris N, et al. Dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex volumetric abnormalities in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder identified by magnetic resonance imaging. *Biol Psychiatry*. Nov 15 2006;60(10):1071-1080.
28. Gill M, Daly G, Heron S, Hawi Z, Fitzgerald M. Confirmation of association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter polymorphism. *Mol Psychiatry*. Jul 1997;2(4):311-313.
29. Rubia K, Smith AB, Brammer MJ, Toone B, Taylor E. Abnormal brain activation during inhibition and error detection in medication-naïve adolescents with ADHD. *Am J Psychiatry*. Jun 2005;162(6):1067-1075.
30. Kaya GC, Pekcanlar A, Bekis R, et al. Technetium-99m HMPAO brain SPECT in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Ann Nucl Med*. Dec 2002;16(8):527-531.
31. Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol Psychiatry*. Mar 1999;4(2):192-196.
32. la Fougere C, Krause J, Krause KH, et al. Value of 99mTc-TRODAT-1 SPECT to predict clinical response to methylphenidate treatment in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Nucl Med Commun*. Sep 2006;27(9):733-737.
33. Kuhar MJ, Ritz MC, Boja JW. The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine. *Trends Neurosci*. Jul 1991;14(7):299-302.
34. Feron FJ, Hendriksen JG, van Kroonenburgh MJ, et al. Dopamine transporter in attention-deficit hyperactivity disorder normalizes after cessation of methylphenidate. *Pediatr Neurol*. Sep 2005;33(3):179-183.
35. Malison RT, Best SE, van Dyck CH, et al. Elevated striatal dopamine transporters during acute cocaine abstinence as measured by [123I] beta-CIT SPECT. *Am J Psychiatry*. Jun 1998;155(6):832-834.
36. Crits-Christoph P, Newberg A, Wintering N, et al. Dopamine transporter levels in cocaine dependent subjects. *Drug Alcohol Depend*. Nov 1 2008;98(1-2):70-76.
37. Malison RT, Best SE, Wallace EA, et al. Euphorigenic doses of cocaine reduce [123I]beta-CIT SPECT measures of dopamine transporter availability in human cocaine addicts. *Psychopharmacology (Berl)*. Dec 1995;122(4):358-362.
38. Voruganti LN, Slomka P, Zabel P, Mattar A, Awad AG. Cannabis induced dopamine release: an in-vivo SPECT study. *Psychiatry Res*. Oct 1 2001;107(3):173-177.

ARTIGO 2

**ATTENTION-DEFICIT/HYPERACTIVITY DISORDER: IS THERE A CORRELATION
BETWEEN DOPAMINE TRANSPORTER DENSITY AND CEREBRAL BLOOD FLOW?**

Clinical Nuclear Medicine • Volume 36, Number 8, August 2011(pg 656–660)

FI: 3.9

Attention-deficit/hyperactivity disorder: is there a correlation between dopamine transporter density and cerebral blood flow?

Authors: Silva Jr, N^{a,b}; Szobot, CM^{b,d,e}; Anselmi, CE^a; Jackowski, AP^c; Shih, MC^c; Hoexter, MQ^c; Anselmi, OE^a; Pechansky, F^d; Bressan, RA^c; Rohde, LA^{b,f}.

- a. Laboratório de Medicina Nuclear do Complexo Hospitalar Santa Casa (LAMENU), Porto Alegre, Brazil.
- b. ADHD Outpatient Program of the Child and Adolescent Psychiatric Division (PRODAH), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.
- c. Laboratório Interdisciplinar de Neurociências Clínicas (LiNC); Department of Psychiatry, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil.
- d. Center for Drug and Alcohol Research, HCPA, Universidade Federal do RGS (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.
- e. Universidade Luterana do Brasil, Porto Alegre, Brazil
- f. Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento, Brazil

Address correspondence and reprint requests:

Neivo da Silva Junior; Hospital de Clínicas de Porto Alegre; Ramiro Barcelos, 2350 – room 2201A; Porto Alegre, Brazil – 90035-003; E-mail: neivojr@gmail.com Tel: 55 51 3214-8242; Fax: 55 51 21018094

Abbreviated title- ADHD: DAT density and cerebral blood flow

Disclosures and acknowledgements:

Dr. Szobot is on the speakers' bureau of Janssen-Cilag and Novartis pharmaceutical companies (FC) and had travel support by Novartis in 2007 and 2009. Dr Jackowski is funded by a PRODOC-CAPES scholarship from the Brazilian Ministry of Education (0151/08-4). Dr Pechansky is director and Professor, CDAR / UFRGS - salary paid by the University and Hospital de Clinicas of Porto Alegre. Brazilian funding sources (CAPES, FINE/HCPA, SENAD), U.S. funding sources (NIDA, Fogarty, University of Kentucky). Dr Bressan is an investigator of clinical trials sponsored by Eli Lilly, Roche and Janssen laboratories and is a consultant, speaker of produced scientific material for Astra Zeneca, Bristol, Eli Lilly, Novartis and Janssen. Dr Rohde was on the speakers bureau and/or acted as consultant for Eli-Lilly, Janssen-Cilag, and Novartis in the last three years. Currently, his only industry related activity is taking part of the advisory board/speakers bureau for Eli Lilly, Novartis and Shire (less than U\$ 10,000 per year and reflecting less than 5% of his gross income per year). The ADHD and Juvenile Bipolar Disorder Outpatient Programs chaired by him received unrestricted educational and research support from the following pharmaceutical companies in the last three years: Abbott, Bristol-Myers Squibb, Eli-Lilly, Janssen- Cilag, Novartis, and Shire.

Abstract

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most frequent behavioral problems in school-age children. Although the etiology remains unclear, the involvement of the dopaminergic system has been suggested by genetic studies that report an over-expression of the dopamine transporter (DAT) gene. In spite of these abnormalities being directly related to the decrease of dopamine in the striatum, abnormalities in brain perfusion have also been observed in cortical-subcortical structures. Functional neuroimaging studies have suggested that the dopamine concentration may cause changes in the cerebral blood flow.

The objective of our study was to evaluate the relationship between dopamine transporter density in striatum and cortical-subcortical impairment in cerebral blood flow. Based on the hypothesis that there is a correlation between dopamine availability and brain perfusion we postulated that individuals with ADHD, with a higher DAT density in the basal ganglia, will have lower perfusion in the fronto-striatal-cerebellar networks.

We used Tc-99m TRODAT-1 SPECT to measure DAT density and Tc-99m ECD SPECT to assess brain perfusion. Ten adolescents diagnosed with ADHD by DSM-IV criteria were investigated. Analysis with SPM5 corrected for multiple comparisons, using small volume correction, showed a significant negative correlation between the DAT density in the striatum and cerebral blood flow in the cingulate gyrus, frontal lobe, temporal lobe and cerebellum ($pFDR < 0.01$).

Our findings suggest that higher DAT density in the striatum was associated with a decrease in the regional cerebral blood flow in the cortical and subcortical attention network.

Key-words: ADHD, Tc-99m ECD, Tc-99m TRODAT-1, cerebral blood flow, statistical parametric mapping, dopamine transporter.

Introduction

Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of most common psychiatric disorders in childhood and adolescence. The disorder affects approximately 3% - 6% of school-aged children (1). ADHD is a heterogeneous multifactorial disorder characterized by a combination of symptoms of inattention and hyperactivity/impulsivity. The symptoms should begin prior to the 7th year of age, occur in two or more settings, be present for at least 6 months and cause impairment in family and social relationships and major difficulties at school.

Although the etiology remains unclear, the involvement of the dopaminergic system, in particular the contribution of the presynaptical dopamine transporter, has been suggested by genetic studies that report an over-expression of the dopamine transporter gene and by imaging studies that evaluated the efficiency of treatment with dopamine re-uptake inhibitors such as methylphenidate (MPH) (2-5). Although controversial, several articles have found a striatal dopamine transporter (DAT) density significantly higher in patients with ADHD than in normal controls (6,7).

Structural and functional studies demonstrated reduction in size and decrease in the cerebral blood flow (CBF) in regions related to attentional networks such as frontal, striatum, parietal, temporal and cerebellum. Abnormalities in cortical-subcortical structures may reflect direct or adaptive responses associated with the dopaminergic changes. The factors that mediate the association between the synaptic dopamine concentration and the cerebral blood flow response are still unclear, but some theories attempt to explain the neurovascular coupling mechanism. Some authors have suggested that dopamine exerts a direct effect upon the vasculature, inducing an increase in relative cerebral blood volume in frontal cortex, striatum, and thalamus (8). Others have postulated that changes in neuronal activity are responsible for changes in the cerebral blood flow and metabolism (9-11).

The objective of our study was to evaluate the relationship between dopamine striatal dysregulation, measured by Tc-99m [2-[[2-[[[3-(4-chlorophenyl)-8-methy-8-

Azabicyclo[3,2,1]oct-2-yl)methyl](2-mercaptoethyl)amino]ethyl]amino]ethanethiolato(3-)-N₂,N₂',S₂,S₂')oxo-[1R-(exo-oxo)] (Tc-99m TRODAT-1), and whole cerebral blood flow changes measured by Tc-99m ethyl cysteinate dimer (Tc-99m ECD) in adolescents with ADHD. The hypothesis tested was if greater DAT density in the basal ganglia (leading to a decrease of dopamine) would decrease blood flow in the brain attention network regions (frontal, striatum, parietal, temporal and cerebellum).

Methods

Ten participants were recruited from a large community sample of adolescents with ADHD and by advertisements in local newspapers and radio broadcasts (12). Inclusion criteria were ADHD diagnosis according to DSM-IV criteria; age between 15 and 21 years; male gender and drug-naïve for MPH. Exclusion criteria were presence of any neurological or significant clinical disease, such as diabetes, bipolar disorder, depression, Tourette's syndrome, tic disorder and epilepsy; head injury; diagnosis of substance abuse/dependence disorder; use of any psychotropic medication in the previous 6 months and estimated IQ less than 70.

This investigation was approved by the Ethics Committee of the hospital and the written informed consent was obtained from all participants and their parents. ADHD and psychiatric comorbidity in participants were assessed by the Brazilian version (13) of the Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Epidemiological Version (K-SADS-E) (14) which is based on DSM-IV criteria. The semi-structured interviews were conducted with the subject's parents. In addition, a child and adolescent psychiatrist reassessed any positive psychiatric diagnosis derived from structured interviews. The severity of ADHD symptoms were assessed with the Swanson, Nolan, and Pelham (SNAP-IV) rating scale (15). Estimated IQ was obtained from the Block Design and Vocabulary subtests of the Wechsler Intelligence Scale – third edition (16).

Image acquisition

Perfusion study

The cerebral blood flow SPECT study was done at resting state (Figure 1). The subject was placed in a quiet, dimly lit room and intravenous access was obtained via small-gauge butterfly. The patients remained quiet for 10 minutes with their eyes open before the radiotracer was injected. Images were acquired 40 minutes after intravenous injection of 925 MBq (25 mCi) of Tc-99m ECD. A dual-head gamma camera (ECAM - Siemens Medical System, USA) was used, equipped with fan beam collimators. A total of 128 projections were acquired on a 128x128 matrix (40,000 counts per projection), using a 360° circular orbit and step-and-shoot mode. Images were reconstructed as 1- pixel (3.326 mm) thick, transaxial slices, parallel to the orbitomeatal line, using filtered back-projection, after pre-filtering (Butterworth filter, cut-off frequency 0.4 cycles/pixel and order 7) and corrected for attenuation using Chang's method (0.12 cm⁻¹).

Dopamine transporter study

Two weeks after performing the regional cerebral blood flow SPECT study, the subjects were injected with 740 MBq (20 mCi) of Tc-99m TRODAT-1 (produced by the Institute of Nuclear Energy Research – INER - Taiwan R.O.C.). Images were acquired 4 hours after intravenous injection administration. A total of 128 projections were obtained, using a 360° circular orbit, 128x128 matrix, 30 seconds/projection and step-and-shoot mode. The image data were reconstructed by standard filtered backprojection using a Butterworth filter (cut-off frequency 0.4 cycles/pixel and order 7) and attenuation was corrected with Chang's with 0.12 cm⁻¹ (Figure 1).

Data Analysis

Perfusion study

The analysis of the CBF was performed using Statistical Parametric Mapping (SPM5). Images of each individual subject were aligned in order to make them compatible with an anatomical standard template that approximates the stereotactic space of the Talairach and Tournoux atlas (17). A customized SPECT template was created specifically for this study with the intention of matching the template more closely to the sample under investigation. In order to build this template, the original resting SPECT were spatially transformed to the standard SPM SPECT template (18). Processing of the images was then carried out, beginning by spatial transformations of images to our study-specific SPECT template, with 12-parameter linear as well as nonlinear transformations. The normalized images were then smoothed with a Gaussian filter of 12 mm FWHM, which reduces the effects of image noise and conditions the data for subsequent statistical tests.

Dopamine transporter study

DAT reconstructed images (transverse slices) were sequentially grouped (2x2) until all DAT data was contained in a single image. The activities in the striatum and in the occipital areas were measured by manually delineated regions of interest (ROI) by a nuclear medicine physician, who was blind to the clinical data. The size and shape of striatum ROI were used as a template in the occipital. Binding potential (BP) was estimated to evaluate DAT density/affinity by measuring the mean specific activity in the basal ganglia region, calculated by subtracting the mean counts per pixel in the striatum (STR) from the mean counts per pixel in the occipital as background (BKG) and dividing the result by the mean counts per pixel in the background (STR-BKG/BKG). This method has been previously validated in several studies (19-21). To test the reliability of our manually delineated ROI, a second nuclear medicine physician (blind to the clinical data)

also manually delineated ROI and determined the BP measurements. The intraclass correlation coefficient showed high reliability between observers (0,94 - $p < 0.001$) and Student's paired t tests demonstrated no significant difference between observer's measurement ($p > 0.1$).

PLEASE INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE

Statistical Analysis

In order to evaluate the relationship between the pattern of cerebral blood flow assessment and DAT density, a multiple regression analysis was performed in SPM5. The significance level accepted was uncorrected $p < 0.001$. A small volume correction (SVC) was also applied for a priori regions (frontal lobe, cerebellum and basal ganglia). We performed SVC, placing a sphere with a 3 mm radius centered at the local maximum, which was equivalent to a volume of 100 mm³, with a threshold of $p < 0.01$, corrected for multiple comparisons using False Discovery Rate (FDR).

Results

Ten adolescents fulfilling the DSM-IV criteria for ADHD were evaluated. The mean age was 16.1 years (SD \pm 0.9). The mean IQ was 95.7 (SD \pm 9.3). The mean years of schooling were 8.2 (SD \pm 1.8). The most prevalent ADHD type was the inattentive (70%). The mean score of inattention severity, according to the SNAP-IV was 19.7 points (SD \pm 6.2), and the score of hyperactivity-impulsivity severity was 13.3 points (SD \pm 8.8). The score of overall symptoms was 41 points (SD \pm 16.2). Three adolescents had an additional diagnosis of Oppositional Defiant Disorder, 3 of Specific Phobia, one of Separation Anxiety and one of Conduct Disorder.

Statistical analysis with SPM, corrected for multiple comparisons, using small volume correction, showed a significant negative correlation between the DAT density in the striatum and blood flow in the frontal lobe, cingulate gyrus, temporal lobe and cerebellum

(Table 1 and Figure 2). No significant positive correlation between the DAT density and the cerebral blood flow was found.

PLEASE INSERT TABLE 1 AND FIGURE 2 ABOUT HERE

Discussion

In a sample of treatment-naive adolescents with ADHD, we found a negative correlation between the DAT density in the striatum and the cerebral blood flow in cingulate, frontal lobe, temporal lobe and cerebellum.

The DAT density in our study was evaluated measuring the concentration of Tc- 99m TRODAT-1 in the striatum. High levels of TRODAT in the striatum mean elevated presynaptic dopamine transporters that may result in decrease of dopamine (DA) available in the synaptic cleft as a result of fast re-uptake. On the other hand, low levels of accumulation mean less DAT availability, which may lead to a slow re-uptake of dopamine and would result in a buildup of the neurotransmitter in the synaptic cleft. If this is the case, negative correlation between DAT density in the striatum and cerebral blood flow in areas that compound attentional circuits, as observed in our study, means that a decrease in extracellular dopamine in basal ganglia (BG) mirrors a decrease in the cerebral blood flow in the temporal cortex, frontal lobe, cingulate and cerebellum, or that an increase in extracellular DA causes an increased blood flow in the temporal cortex, frontal lobe, cingulate and cerebellum.

The coupling between changes in neuronal activity and the hemodynamic response have been a reason for many investigations that used PET, SPECT or functional MRI as methods of functional assessment. Jenkins et al. (11) used an amphetamine challenge combined with MRI to map dopamine associated circuitry in nonhuman primates. Administration of amphetamine led to marked changes in relative cerebral blood volume (rCBV) in areas with high dopamine receptor density, as well as in associated circuitry (striatal, limbic, midbrain regions and thalamus), suggesting that the activation model is

directly related to the release of dopamine. These findings support the hypothesis that hemodynamic changes occur in relation to synaptic activity.

Choi et al. (8) using MRI experiments showed that dopamine transporter blockers, such as cocaine, and dopamine releasers, such as amphetamine, induced large positive increases in rCBV in areas rich in dopamine receptors or with high dopamine utilization (medial prefrontal cortex, insular cortex, striatum, and nucleus accumbens). The hypothesis postulated is that neuronal released dopamine alters perfusion through activation of post-synaptic dopamine receptors in local neurons and/or on microvessels and perivascular astrocytes. Direct effects of dopamine upon the vasculature were suggested also by Ingvar et al. (22) who showed increase in the cerebral blood flow after administration of the dopamine receptor agonist in rats. In this respect, dopamine and dopamine-like drugs such as cocaine can induce dilatation of brain vessels. Since the drugs used to induce changes in the dopamine available in the synaptic cleft can also alter blood flow, Logan et al. (23) evaluated the response of ¹¹C-raclopride (D2 antagonist) binding to changes in the blood flow and the effects of the flow on the distribution volume (the equilibrium ratio of concentration of the tracer in the tissue to the total concentration of parent tracer in plasma). Changes in blood flow were induced experimentally in a human subject through hyperventilation and, in anesthetized baboons, by controlling pCO₂ to induce high and low blood flow. The variability observed in the distribution volume ratio did not show correlation with changes in the blood flow. The distribution volume is proportional to receptor binding and independent of blood flow (24).

Neuroimaging studies using SPECT have demonstrated that DAT availability was higher in the striatum of patients with ADHD compared with controls, as well as studies that evaluated the brain perfusion in this disorder have demonstrated a decrease in the cerebral blood flow in the fronto-striatal network. Krause et al. (20) evaluated the density of DAT in basal ganglia using SPECT Tc-99m TRODAT-1 and showed in 10 medication-naive adults with ADHD higher striatal DAT concentration than in controls (16% increase). Dresel et al. (21) reported the status of the DAT in 17 adults with ADHD

before and after treatment with MPH. Data were compared with an age matched control group. They showed that untreated patients presented a significantly increased specific binding of Tc-99m TRODAT-1 to the DAT when compared to normal controls (1.43 vs 1.22, $p < 0.001$). One of the first studies that evaluated the DAT availability in children with ADHD used a different type of radioligand Iodine-123 labelled N-(3-iodopropen-2-yl)-2beta-carbomethoxy-3beta- (chlorophenyl)tropane (I-123 IPT). Nine drug-naive children with the combined type of ADHD and six normal controls were scanned. DAT binding ratio in the basal ganglia was significantly increased in the ADHD group when compared to controls (7).

Although the results of brain perfusion neuroimaging research have not been consistent, studies with PET and SPECT have demonstrated changes in the cerebral blood flow associated with lower brain activity, especially in the prefrontal cortex, temporal cortex, striatum and cerebellum. Gustafsson et al. (25) evaluated 28 children with ADHD using Tc-99m hexamethyl propyleneamine oxime (Tc-99m HMPAO) in the resting state. They suggested that functional disturbances may be found in the frontal lobe as a consequence of behavior problems and in the temporal, cerebellum and subcortical structures as a consequence of motor impairment. Kaya et al. (26) evaluated the CBF in 13 children with ADHD and 7 healthy controls. The analyses of brain SPECT images showed decreased perfusion of the temporal lobe in ADHD patients when compared with the control group. Boong et al. (27) conducted an investigation of cerebral blood flow in 40 children with ADHD and 17 controls. The results showed decrease in the cerebral blood flow in prefrontal cortex, temporal cortex, cingulate gyrus and cerebellum in the ADHD group.

Psychostimulants such as MPH are the first choice for the treatment of patients with ADHD. It has been suggested that the therapeutic effect of MPH is achieved by an increase in the synaptic concentration of dopamine through blockage of the dopamine transporter. It has been shown that striatal DAT availability is lowered, very effectively, in children and adults with ADHD by MPH (19,28). Fougère et al. (4) investigated the value

of Tc-99m TRODAT-1 to predict the response to MPH treatment in adults with ADHD. Twenty-two patients were evaluated. The results showed higher striatal DAT availability in 17 of 22 adult ADHD patients. Sixteen of these 17 patients responded well to subsequent MPH treatment. Five patients showed reduced DAT availability prior to therapy. All patients with low DAT density did not respond to the therapy. Regarding CBF and MPH, studies have demonstrated that effective treatment was associated with increased perfusion in the frontal cortex, cingulate, parietal cortex, striatum and thalamus (25,29,30).

In summary, we may say that Tc-99m TRODAT-1 studies demonstrated that individuals with ADHD have a tendency to show decreased DA availability in the striatum, and that perfusion studies usually show decreased blood flow in cortical and subcortical regions, associated with sustained attention and inhibitory control. On the other hand, SPECT studies in ADHD that evaluated changes caused by MPH in DAT density and CBF have demonstrated increased DA availability in the striatum and increased cerebral blood flow in regions such as frontal, cingulate, parietal, temporal and cerebellum. These tendencies were reinforced by studies in animals using fMRI that showed a linear correlation between the increase in extracellular dopamine and brain perfusion (8).

Our findings should be understood within the context of some limitations. First, our sample included only males aged around 16 years old, so the findings may not be generalized to females with ADHD or younger individuals. Furthermore, recruitment of subjects with ADHD without any neurological or significant clinical disease, substance abuse/dependence disorder or previous use of psychotropic medication is rather difficult. For this reason, a small number of patients were investigated.

Our study has shown a negative correlation between DAT density and cerebral perfusion in adolescents with ADHD. The increased uptake of Tc-99m TRODAT-1 in the basal ganglia, which may induce a decreased dopamine availability in the synaptic cleft, might explain the striatal-cerebellar network blood flow reduction, mediated by neuronal activation and/or vascular adaptive blood flow responses.

Table 1: Brain region, MNI coordinates of peak effect, significance extent (SPM5- Zscore) and voxel extent are indicated. All results are reported at pFDR<0.01 (corrected for multiple comparisons using small volume correction).

MNI coordinates			Brain region	Z score	cluster (ke)
-10	47	6	left frontal	3.23	10
16	-50	26	posterior cingulate gyrus	3.68	67
-8	-48	-44	Cerebellum	3.85	42
-60	2	-8	left superior temporal gyrus	3.48	31
34	0	-36	right inferior temporal gyrus	3.52	57

Figure 1: Distribution of ^{99m}Tc -TRODAT in basal ganglia (A) and ^{99m}Tc -ECD blood flow in the brain (B)

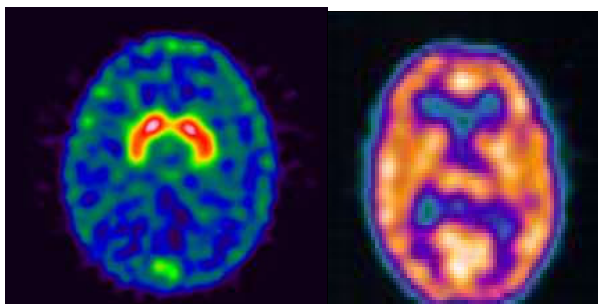
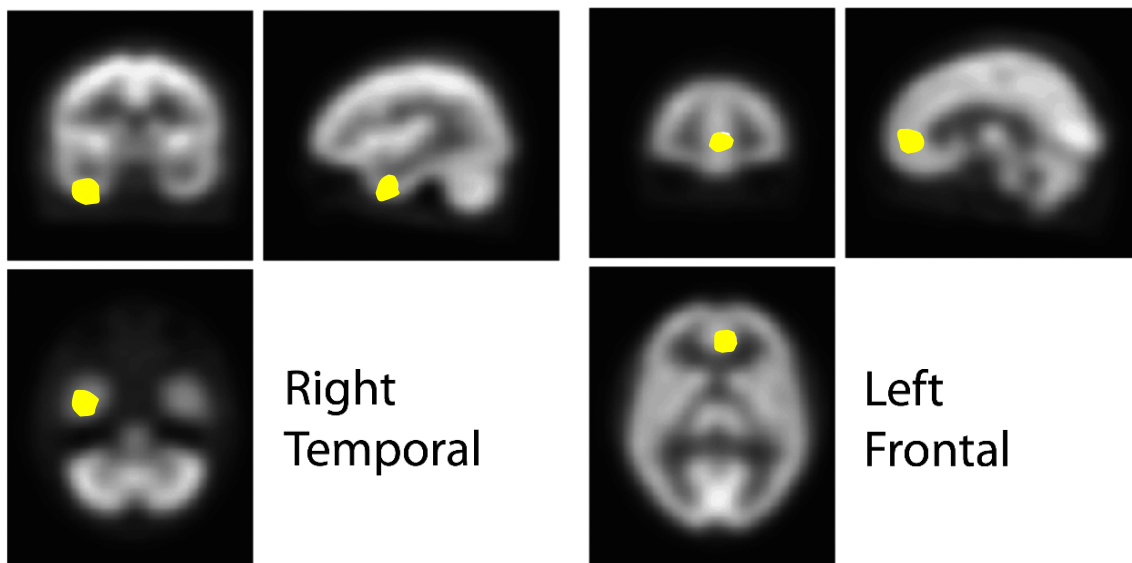


Figure 2: Statistical Parametric Mapping images show statistically significant negative correlation between DAT density and cerebral blood flow in the right temporal gyrus and left frontal.



References

1. Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, et al. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *Am J Psychiatry*. Jun 2007;164(6):942-948.
2. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*. Jun 1 2005;57(11):1313-1323.
3. Feron FJ, Hendriksen JG, van Kroonenburgh MJ, et al. Dopamine transporter in attention-deficit hyperactivity disorder normalizes after cessation of methylphenidate. *Pediatr Neurol*. Sep 2005;33(3):179-183.
4. la Fougere C, Krause J, Krause KH, et al. Value of 99mTc-TRODAT-1 SPECT to predict clinical response to methylphenidate treatment in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Nucl Med Commun*. Sep 2006;27(9):733-737.
5. Cook EH, Jr., Stein MA, Krasowski MD, et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am J Hum Genet*. Apr 1995;56(4):993-998.
6. Krause J. SPECT and PET of the dopamine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Rev Neurother*. Apr 2008;8(4):611-625.
7. Cheon KA, Ryu YH, Kim YK, et al. Dopamine transporter density in the basal ganglia assessed with [123I]IPT SPET in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. Feb 2003;30(2):306-311.
8. Choi JK, Chen YI, Hamel E, et al. Brain hemodynamic changes mediated by dopamine receptors: Role of the cerebral microvasculature in dopamine-mediated neurovascular coupling. *Neuroimage*. Apr 15 2006;30(3):700-712.
9. Lauritzen M. Relationship of spikes, synaptic activity, and local changes of cerebral blood flow. *J Cereb Blood Flow Metab*. Dec 2001;21(12):1367-1383.
10. Logothetis NK. The underpinnings of the BOLD functional magnetic resonance imaging signal. *J Neurosci*. May 15 2003;23(10):3963-3971.

11. Jenkins BG, Sanchez-Pernaute R, Brownell AL, et al. Mapping dopamine function in primates using pharmacologic magnetic resonance imaging. *J Neurosci*. Oct 27 2004;24(43):9553-9560.
12. Szobot CM, Rohde LA, Bukstein O, et al. Is attention-deficit/hyperactivity disorder associated with illicit substance use disorders in male adolescents? A community-based case-control study? *Addiction* 2007; 102, 1122-1130
13. Mercadante MT, Asbarch, F., Rosário, M.C., et al. K-SADS, 1o edição. São Paulo, SP. *Protoc - Hospital das Clínicas da FMUSP*. 1995.
14. Orvaschel H P-AJ. *Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children: Epidemiologic, 4th Version*. Ft. Lauderdale, FL: Nova University, Center for Psychological Study.
15. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, et al. 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*. Feb 2001;40(2):168-179.
16. Wechsler D. Examiner's manual: Wechsler intelligence scale for children. 3rd edition. New York: Psychological Corporation 1991.
17. Talairach J TPA. *Co-planar Stereotaxic Atlas of Human Brain*. Stuttgart. Thieme; 1988.
18. Busatto GF, Zamignani DR, Buchpiguel CA, et al. A voxel-based investigation of regional cerebral blood flow abnormalities in obsessive-compulsive disorder using single photon emission computed tomography (SPECT). *Psychiatry Res*. Jul 10 2000;99(1):15-27.
19. Krause J, la Fougere C, Krause KH, et al. Influence of striatal dopamine transporter availability on the response to methylphenidate in adult patients with ADHD. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. Dec 2005;255(6):428-431.
20. Krause KH, Dresel SH, Krause J, et al. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as

measured by single photon emission computed tomography. *Neurosci Lett*. May 12 2000;285(2):107-110.

21. Dresel S, Krause J, Krause KH, et al. Attention deficit hyperactivity disorder: binding of [99mTc]TRODAT-1 to the dopamine transporter before and after methylphenidate treatment. *Eur J Nucl Med*. Oct 2000;27(10):1518-1524.

22. Ingvar M, Lindvall O, Stenevi U. Apomorphine-induced changes in local cerebral blood flow in normal rats and after lesions of the dopaminergic nigrostriatal bundle. *Brain Res*. Mar 7 1983;262(2):259-265.

23. Logan J, Volkow ND, Fowler JS, et al. Effects of blood flow on [11C]raclopride binding in the brain: model simulations and kinetic analysis of PET data. *J Cereb Blood Flow Metab*. Nov 1994;14(6):995-1010.

24. Erlandsson K, Bressan RA, Mulligan RS, et al. Kinetic modelling of [123I]CNS 1261--a potential SPET tracer for the NMDA receptor. *Nuclear medicine and biology*. May 2003;30(4):441-454.

25. Gustafsson P, Thernlund G, Ryding E, et al. Associations between cerebral blood-flow measured by single photon emission computed tomography (SPECT), electro-encephalogram (EEG), behaviour symptoms, cognition and neurological soft signs in children with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Acta Paediatr*. Jul 2000;89(7):830-835.

26. Kaya GC, Pekcanlar A, Bekis R, et al. Technetium-99m HMPAO brain SPECT in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Ann Nucl Med*. Dec 2002;16(8):527-531.

27. Kim BN, Lee JS, Shin MS, et al. Regional cerebral perfusion abnormalities in attention deficit/hyperactivity disorder. Statistical parametric mapping analysis. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. Oct 2002;252(5):219-225.

28. Szobot CM, Shih MC, Schaefer T, et al. Methylphenidate DAT binding in adolescents with Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder comorbid with Substance Use Disorder--a

single photon emission computed tomography with [Tc(99m)]TRODAT-1 study. *Neuroimage*. Apr 15 2008;40(3):1195-1201.

29. Szobot CM, Ketzner C, Cunha RD, et al. The acute effect of methylphenidate on cerebral blood flow in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. Mar 2003;30(3):423-426.

30. Kim BN, Lee JS, Cho SC, Lee DS. Methylphenidate increased regional cerebral blood flow in subjects with attention deficit/hyperactivity disorder. *Yonsei Med J*. Feb 2001;42(1):19-29.

CONCLUSÃO

Os achados atuais apontam fortemente para componentes biológicos influenciando o TDAH, com evidências sugerindo alterações na morfologia cerebral, na atividade de neurotransmissores e no metabolismo cerebral. Porém, é necessário um maior discernimento do seu real envolvimento e da inter-relação destas variáveis, à medida que os dados resultantes das pesquisas são pouco conclusivos, apontando para a heterogeneidade da doença. É importante que se possa dispor de outros recursos, além da sintomatologia clínica, para uma melhor categorização do TDAH, para melhor compreender que fatores influenciam no curso da doença e na resposta ou não à medicação.

Através de nossos estudos foi possível demonstrar que existe uma correlação entre o fluxo sanguíneo cerebral e densidade de concentração do transportador da dopamina em adolescentes com TDAH, onde o aumento da atividade de ^{99m}Tc-TRODAT em estriado, acarreta alterações perfusionais com diminuição de fluxo em áreas atencionais e executivas.

Dois mecanismos de ação poderiam explicar esta correlação negativa entre DAT e perfusão. Uma destas teorias sustenta que modificações na oferta de dopamina poderiam gerar um aumento de fluxo sanguíneo cerebral em áreas como frontal, temporal e estriado decorrentes de um aumento de ativação neural. Assim, uma maior oferta do neurotransmissor resultaria em um aumento da ativação neuronal, resultando em aumento do fluxo cerebral em resposta ao estímulo. Por outro lado, redução da oferta de dopamina acarretaria hipometabolismo cerebral na rede atencional.

Outra hipótese postulada para explicar esta correlação entre DAT e perfusão está baseada em pesquisas que sugerem que a dopamina poderia atuar, diretamente, em

receptores D1/D5 presentes na musculatura lisa do vaso ocasionando dilatação da microvasculatura cerebral e conseqüentemente um aumento no fluxo sanguíneo.

Através de nosso estudo foi possível, também, demonstrar que a densidade do transportador da dopamina em adolescentes com TDAH é, significativamente, maior que a encontrada no grupo controle normal. Esse achado é reforçador pela maioria dos estudos da literatura que avaliaram densidade do transportador da dopamina através de neuroimagem em TDAH. Este aumento da quantidade de transportadores da dopamina, pré-sináptico, poderia estar sendo mediada por uma superexpressão do gene DAT1. A consequência do aumento da concentração de DAT seria uma diminuição da disponibilidade da dopamina para receptores pós-sinápticos decorrente da recaptção muito rápida sofrida pelo neurotransmissor.

Nossos resultados também demonstram que indivíduos com TDAH usuários de substâncias psicoativas (cocaína e maconha), apresentam redução das taxas de DAT estriatal em comparação ao grupo TDAH. Esse comportamento é justificado pelo fato de drogas como cocaína e maconha atuarem no sistema dopaminérgico aumentando a oferta da dopamina na fenda sináptica. Drogas como a cocaína atuam sobre o transportador da dopamina, em um mecanismo de ação muito semelhante ao observado com metilfenidato, inibindo a ação do transportador (recaptção), aumentando assim a oferta de dopamina para receptores pós-sinápticos. Muitos pesquisadores defendem a teoria de que indivíduos com TDAH fariam uso de drogas para diminuir a severidade dos sintomas do transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (teoria de auto-medicação).

Uma das principais limitações observadas na literatura e também em nossa pesquisa é a falta de um referencial anatômico inerente a técnica de SPECT na medicina nuclear. Neste sentido dúvidas quanto à delimitação das áreas de interesse geradas para quantificação da

densidade do DAT em núcleos da base são motivos de discussão. Nós optamos por gerar áreas de interesse no estriado esquerdo e direito como um todo, não havendo quantificações em separado (caudado e putâmen). Além disso, para diminuir artefatos causados por efeito de volume parcial, as áreas de interesse que geraram os índices de captação foram feitas junto à região de atividade do radiofármaco. A escala de cores foi padronizada e ao ocorrer mudança da intensidade de 20% da atividade máxima, obtinha-se a referência do contorno. A área gerada em estriado era utilizada como padrão (tamanho e forma) para gerar as áreas de background em occipital. Para testar a reprodutibilidade do método de quantificação um segundo médico nuclear, também cegado para os dados clínicos, gerou regiões de interesse para poder avaliar diferenças nos índices de captação e tamanho de área medidas (pixels). O teste de coeficiente intraclasse foi de 0,94 com $p < 0,001$, demonstrando alta fidedignidade entre as medidas dos dois observadores.

Outra limitação observada é que, apesar de todos os indivíduos do grupo TDAH+drogas e grupo somente drogas fazerem uso de maconha, o uso concomitante com cocaína não foi homogêneo entre os dois grupos, sendo de 33% e 72% respectivamente. Para avaliar este efeito, foram realizados testes para determinar se o uso da cocaína poderia estar influenciando nos resultados do estudo e foi observado que os achados permaneciam os mesmos após a análise separando por tipo de drogas utilizado.

Além disso, conseguimos demonstrar que, apesar das apreensões iniciais geradas pela necessidade imposta pela técnica de imagem que requer que os pacientes permaneçam imóveis durante os 30 minutos de aquisição nos exames cerebrais, é, totalmente, viável este tipo de avaliação tanto em adolescentes com TDAH como em adolescentes com TUSP sem que prejuízos na qualidade dos exames de neuroimagem funcional tenham sido identificados.