

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

INVESTIGAÇÃO DO PAPEL DA INTERAÇÃO DOS GENES *PRNP-NCAM1* NOS TRANSTORNOS POR USO DE SUBSTÂNCIAS E NO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/ HIPERATIVIDADE

Pricila Girardi

Lajeado, fevereiro de 2016

Pricila Girardi

INVESTIGAÇÃO DO PAPEL DA INTERAÇÃO DOS GENES *PRNP-NCAM1* NOS TRANSTORNOS POR USO DE SUBSTÂNCIAS E NO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/ HIPERATIVIDADE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro Universitário UNIVATES, como parte da exigência para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, na área de concentração Biotecnologia em Saúde.

Orientadora: Prof^a Dra. Verônica Contini

Coorientadora: Prof^a Dra. Júlia Pasqualini

Genro

Lajeado, fevereiro de 2016

APOIO FINANCEIRO

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES): Programa de Suporte à Pós-Graduação de Instituições de Ensino Particulares (PROSUP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq): Edital MCTI/CNPq 2013 – Chamada Universal

RESUMO

Introdução: O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é uma desordem comportamental comum em crianças e que pode persistir na idade adulta. Ele caracteriza-se por sintomas persistentes de desatenção, hiperatividade e impulsividade. Além disso, uma proporção significativa dos pacientes com TDAH também apresenta outras comorbidades envolvidas, especialmente os transtorno por uso de álcool e nicotina. Diversos estudos moleculares têm sido realizados na busca pelos genes envolvidos com o TDAH e alguns estudos têm apontando que fatores genéticos de susceptibilidade ao TDAH são também importantes na dependência de álcool e no uso de nicotina. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é investigar a influência da interação dos polimorfismos rs1799990, no gene *PRNP*, e rs965560, no gene *NCAM1*, no TDAH e nas dependências de álcool e nicotina. **Metodologia:** As amostras foram compostas por pacientes com TDAH, 431 crianças e 535 adultos, 130 homens dependentes de álcool, 639 indivíduos adultos da população geral e 77 crianças controles. Os polimorfismos foram genotipadas através do sistema de discriminação alélica TaqMan. As análises estatísticas envolveram o teste do qui-quadrado, ANOVA e, para o teste da interação gene-gene sobre a susceptibilidade aos transtornos, foram utilizados modelos lineares gerais. **Resultados:** Não foram detectadas interações significativas entre os polimorfismos investigados sobre a susceptibilidade ao TDAH e às dependências de álcool e nicotina. Foi observada uma associação entre o alelo A do polimorfismo rs1799990 com o TDAH na infância ($p=0,04$). Em adultos com TDAH, indivíduos heterozigotos AG apresentaram uma maior frequência de transtorno opositor desafiante (TOD) ($p=0,017$), assim como escores médios dos sintomas de TOD significativamente maiores ($p=0,012$), em comparação aos indivíduos homozigotos GG. Não foram detectadas associações significativas para o polimorfismo rs965560 com nenhuma das variáveis investigadas. **Conclusão:** Nossos resultados indicam que o polimorfismo rs1799990 pode estar associado com o TDAH na infância e com a presença de TOD em adultos com TDAH. Esses resultados, no entanto, são preliminares e não foram testados para múltiplos testes.

Palavras chave: TDAH, *PRNP*, *NCAM1*, dependência de álcool e uso de nicotina.

ABSTRACT

Introduction: Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is a common behavioral disorder in children that can persist into adulthood. It is characterized by persistent symptoms of inattention, hyperactivity and impulsivity. Moreover, a significant proportion of patients with ADHD present other comorbidities, especially alcohol dependence and nicotine use. Several molecular studies have been employed in the search for the genes involved in ADHD and some studies have pointed that susceptibility genetic factors of ADHD are also important in alcohol dependence and nicotine use. **Objective:** The objective of this study is to investigate the influence of the interaction between the polymorphisms rs1799990, in the *PRNP* gene, and rs965560, in the *NCAM1* gene, on the susceptibility to ADHD and alcohol and nicotine dependence. **Methods:** Samples were composed by patients with ADHD, 431 children and 535 adults, 130 alcohol dependent men, 639 adults from the general population and 77 children controls. The polymorphisms were genotyped by the TaqMan allelic discrimination system. The statistical analysis involved the chi-square test, ANOVA and, for the gene-gene interaction tests, general linear models were used. **Results:** There were no significant interactions between the polymorphisms investigated on the susceptibility to ADHD and to alcohol and nicotine dependences. An association between the A allele of rs1799990 polymorphism and ADHD in childhood ($p=0.04$) was observed. In adults with ADHD, individuals heterozygous AG had a higher frequency of oppositional defiant disorder (ODD) ($p=0.017$) and higher mean scores of symptoms of ODD ($p=0.012$), when compared to homozygous GG. No significant associations were found for the rs965560 polymorphism with the investigated variables. **Conclusion:** Our results indicate that the polymorphism rs1799990 may be associated with ADHD in childhood and with the presence of ODD in adults with ADHD. These results, however, are preliminary and were not tested for multiple testing.

Keywords: ADHD, *PRNP*, *NCAM1*, alcohol and nicotine use.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVO GERAL.....	8
2.1 Objetivos específicos.....	9
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	9
3.1 Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade	9
3.2 Transtorno por uso de substâncias.....	15
3.3 Genética do TDAH	16
3.4 <i>PRPN E NCAM1</i>	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1 Amostra.....	23
4.1.1 Adultos com TDAH	23
4.1.2 Crianças com TDAH	24
4.1.3 Dependentes de Álcool.....	24
4.1.4 População geral.....	24
4.1.5 Usuários de Nicotina.....	25
4.2 Métodos laboratoriais	25
4.3 Análises Estatísticas	25
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	32
7 CONCLUSÃO	34

REFERÊNCIAS.....	35
------------------	----

INVESTIGAÇÃO DO PAPEL DA INTERAÇÃO DOS GENES *PRNP-NCAM1* NOS TRANSTORNOS POR USO DE SUBSTÂNCIAS E NO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/ HIPERATIVIDADE

1 INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) é um transtorno do desenvolvimento neurológico comum no início da infância, que pode persistir em adultos, sendo caracterizado por um quadro de desatenção, agitação motora e impulsividade, que pode acarretar diversos prejuízos no desenvolvimento (APA, 2014). Os pacientes com TDAH, ao longo da vida, podem apresentar problemas de aprendizagem, comportamento opositor, distúrbios de conduta, ansiedade e depressão. Entre as comorbidades mais frequentes, destacam-se os transtornos por uso de substâncias (TUS) (Rohde et al, 1999; Szobot e Bukstein, 2008).

Os TUS, geralmente, têm início na adolescência e são caracterizados por um grupo de sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos, que indicam um uso contínuo de alguma substância psicoativa, apesar dos problemas relacionados ao seu uso (APA, 2014). O TDAH na infância aumenta o risco de desenvolvimento de TUS na vida adulta. Crianças com TDAH apresentam um risco 2,5 vezes maior de desenvolver TUS do que outra criança sem o transtorno (Lee et. al, 2011).

Estudos em famílias e com gêmeos sugerem uma alta herdabilidade para o TDAH, tornando-o um transtorno atrativo para estudos moleculares. Com base nos possíveis efeitos patofisiológicos do TDAH, foram selecionados diversos genes candidatos para o transtorno (Faraone et al, 2005; Gizer et al, 2009). Nesse sentido,

muitos polimorfismos têm sido associados ao TDAH, em crianças e adultos, incluindo vários marcadores no sistema adrenérgico e dopaminérgico, como o gene da proteína transportadora de dopamina (*SLC6A3/DAT1*), o gene do receptor D5 de dopamina (*DRD5*), o gene do receptor D4 de dopamina (*DRD4*), o gene da proteína transportadora de serotonina (*SLC6A4*), o gene da proteína associada ao sinaptossoma de 25kDa (*SNAP-25*), o gene do receptor 1B de serotonina (*HTR1B*), o gene latrofilina 3 (*LPHN3*) e o gene óxido nítrico sintase (*NOS1*), entre outros. No entanto, apesar da quantidade de marcadores genéticos já associados ao TDAH nenhum parece ser suficiente ou necessário para o desenvolvimento do transtorno, indicando a necessidade da continuidade dos estudos moleculares (Hawi et al, 2015), especialmente considerando novas abordagens, como os estudos de interação gene-gene (Rovaris et al. 2013).

O gene *PRNP* codifica uma glicoproteína de membrana, chamada PrPc. Apesar de sua função fisiológica não estar completamente elucidada, existem evidências que demonstram o seu envolvimento em diferentes processos fisiológicos relacionados com sinalização celular, plasticidade neural, entre outros (Zomosa-Signoret et al, 2008). É sugerido também que a interação com outros elementos parece ser essencial para a função da PrPc (Martins e Brentani, 2002; Coitinho et al, 2007; Santos et. al, 2013) e, entre as proteínas que interagem diretamente com a PrPc, destaca-se a NCAM, codificada pelo gene *NCAM1*. A NCAM é amplamente expressa no sistema nervoso central, e tem sido associada a diversas funções neurobiológicas (Kiss e Muller, 2001; Coitinho et al, 2007). É interessante ressaltar que o gene *NCAM1* está localizado em um cluster gênico na região cromossômica 11q23 e diversos estudos têm relacionado polimorfismos nessa região com transtornos relacionados com o uso de substâncias (Yang et. al, 2008; Nelson et al, 2013). No entanto, apesar das evidências de interação entre as proteínas PrPc e NCAM, possíveis efeitos epistáticos dos genes *PRNP* e *NCAM1* na predisposição a doenças complexas, especialmente o TDAH e aos TUS, ainda não foram investigados.

2 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência da interação dos polimorfismos rs1799990, no gene

PRNP, e rs965560, no gene *NCAM1*, no TDAH e nas dependências de álcool e nicotina.

2.1 Objetivos específicos:

- Determinar as frequências alélicas e genótípicas do polimorfismo rs1799990, do gene *PRNP*, nas amostras de pacientes com TDAH (adultos e crianças), de indivíduos da população geral e de homens dependentes de álcool;
- Determinar as frequências alélicas e genótípicas do polimorfismo rs965560, do gene *NCAM1*, nas amostras de pacientes adultos com TDAH, de indivíduos da população geral e de homens dependentes de álcool;
- Investigar a associação do polimorfismo rs1799990 com o TDAH e com as dependências de álcool e nicotina;
- Investigar se existe um efeito diferencial do polimorfismo rs1799990 em crianças com maior risco de desenvolvimento de TUS (presença de TDAH e transtorno de conduta);
- Testar a interação entre os polimorfismos selecionados nos genes *PRNP* e *NCAM1* sobre a susceptibilidade ao TDAH e às dependências de álcool e nicotina;
- Investigar se os efeitos principais dos polimorfismos rs1799990 e rs965560, ou da interação, estão implicados em características clínicas dos pacientes com TDAH e dos homens dependentes de álcool (dimensões de temperamento, presença de comorbidades, sintomas de gravidade e parâmetros neuropsicológicos).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

O TDAH é caracterizado por um quadro clínico de sintomas de desatenção,

desenvolvimento inapropriado, aumento da impulsividade e hiperatividade, que devem estar presentes em mais de um ambiente (APA, 2014). É um transtorno considerado comum durante a infância, e que pode desencadear problemas relacionados a dificuldades na aprendizagem, comportamentos antissociais e prejuízos em relações interpessoais (Klein et al. 2012).

O Manual Diagnóstico e estatístico de Transtornos Mentais da Associação Norte-Americana de Psiquiatria, 5ª edição (DSM-V), classifica os pacientes de acordo com a gravidade dos sintomas de desatenção e hiperatividade/impulsividade, em grau leve, moderado e grave. Na Tabela 1 encontram-se descritos os sintomas utilizados para o diagnóstico de TDAH, de acordo com o DSM-V. Para uma criança ser diagnosticada com TDAH, é preciso apresentar seis ou mais sintomas de pelo menos um grupo do transtorno (hiperatividade/impulsividade ou desatenção), por pelo menos seis meses, em um grau que é inconsistente com o nível de desenvolvimento, e que tenha impacto negativo em atividades sociais e acadêmicas/profissionais. Já para adultos, pelo menos cinco sintomas são necessários (APA, 2014).

Tabela 1: Critérios diagnósticos para o Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade segundo o DSM-V (APA, 2014)

A. Padrão persistente de desatenção e/ou hiperatividade-impulsividade que interfere no funcionamento e no desenvolvimento, caracterizado por (1) e/ou (2).

1. Desatenção: Seis (ou mais) dos seguintes sintomas persistem pelo menos seis meses em um grau que é inconsistente com o nível de desenvolvimento e têm impacto negativo diretamente nas atividades sociais, acadêmicas/profissionais.

- a) Frequentemente não presta atenção em detalhes ou comete erros por descuido em tarefas escolares, no trabalho ou durante outras atividades (p. ex., negligencia ou deixa passar detalhes, o trabalho é impreciso).
 - b) Frequentemente tem dificuldades de manter a atenção em tarefas ou atividades lúdicas (p. ex., dificuldade de manter foco em aulas, conversas ou leituras prolongadas).
 - c) Frequentemente parece não escutar quando alguém lhe dirige a palavra diretamente (p. ex., parece estar com a cabeça longe, mesmo na ausência de qualquer distração óbvia).
 - d) Frequentemente não segue instruções até o fim e não consegue terminar trabalhos escolares, tarefas ou deveres no local de trabalho (p. ex., começa as tarefas, mas rapidamente perde o foco e facilmente perde o rumo).
 - e) Frequentemente tem dificuldades para organizar tarefas e atividades (p. ex., dificuldades em gerenciar tarefas sequenciais; dificuldades de manter materiais e objetivos pessoais em ordem; trabalho desorganizado e desleixado; mau gerenciamento do tempo; dificuldades de
-

cumprir prazos).

- f) Frequentemente evita, não gosta, ou reluta em se envolver em tarefas que exijam esforço mental prolongado (p. ex., trabalhos escolares ou lições de casa; para adolescentes mais velhos e adultos, preparo de relatórios, preenchimento de formulários, revisão de trabalhos longos).
- g) Frequentemente perde coisas necessárias para tarefas ou atividades (p. ex., materiais escolares, lápis, livros, instrumentos, carteiras, chaves, documentos, óculos, celular).
- h) Com frequência é facilmente distraído por estímulos externos (para adolescentes mais velhos e adultos, pode incluir pensamentos não relacionados).
- i) Com frequência é esquecido em atividades cotidianas (p. ex., realizar tarefas, obrigações; para adolescentes mais velhos e adultos, retornar ligações, pagar contas, manter horários agendados).

2. Hiperatividade e impulsividade: Seis (ou mais) dos seguintes sintomas persistem por pelo menos seis meses em um grau que é inconsistente com o nível do desenvolvimento e tem impacto negativo diretamente nas atividades sociais e acadêmicas/ profissionais.

- a) Frequentemente remexe ou batuca as mãos ou os pés ou se contorce na cadeira.
- b) Frequentemente levanta da cadeira em situações que se espera que permaneça sentado (p. ex., sai do seu lugar em sala de aula, no escritório ou em outro local de trabalho ou em outras situações que exija que se permaneça no mesmo lugar).
- c) Frequentemente corre ou sobe nas coisas em situações que isso é inapropriado (em adolescentes e adultos, pode se limitar a sensações de inquietude).
- d) Com frequência é incapaz de brincar ou se envolver em atividades de lazer calmamente.
- e) Com frequência “não para”, agindo como se estivesse “com o motor ligado” (p. ex., não consegue ou se sente desconfortável em ficar parado por muito tempo, como em restaurantes, reuniões, outros podem ver o indivíduo como inquieto ou difícil de acompanhar).
- f) Frequentemente fala demais.
- g) Frequentemente deixa escapar uma resposta antes que a pergunta seja concluída (p. ex., termina as frases dos outros, não consegue aguardar a sua vez de falar).
- h) Frequentemente tem dificuldades para esperar a sua vez (p. ex., aguardar em uma fila).
- i) Frequentemente interrompe ou se interrompe (p. ex., mete-se nas conversas, jogos ou atividades, pode começar a usar as coisas de outras pessoas sem pedir ou receber permissão; para adolescentes e adultos, pode intrometer-se em ou assumir o controle sobre o que outros estão fazendo).

B. Vários sintomas de desatenção ou hiperatividade-impulsividade estavam presentes antes dos 12 anos de idade.

C. Vários sintomas de desatenção ou hiperatividade-impulsividade estão presentes em 2 ou mais ambientes (p. ex., em casa, na escola, no trabalho, com amigos ou parentes; em outras atividades).

D. Há evidências claras que os sintomas interferem no funcionamento social, acadêmico ou profissional, ou de que reduzem sua qualidade.

E. Os sintomas não ocorrem durante o curso de esquizofrenia ou outros transtorno psicótico e não são mais bem explicados por outro transtorno mental (p. ex., transtorno de humor, transtorno de ansiedade, transtorno dissociativo, transtorno de personalidade, intoxicação ou abstinência de

Acreditava-se que o TDAH era um transtorno exclusivo de crianças e que se resolvia com a idade, mas inúmeros estudos mostram que ele persiste na idade adulta, porém com sintomas menos evidentes (Faraone et al., 2006). Os sintomas de hiperatividade tendem a diminuir mais cedo, enquanto que os sintomas de desatenção são mais persistentes (Swanson et al, 1998). Estima-se que 60 a 70% das crianças com TDAH continuam com sintomas na vida adulta (Wender et. al, 2001). Outros estudos que analisaram a persistência do TDAH encontram valores que variam de 58% a 80%, um valor bastante significativo (Biederman et al, 2000). Atualmente, a prevalência estimada, em um estudo de meta-análise, para TDAH em adultos é de 2,5% (Simon et al. 2009), enquanto que para crianças é de 5,29% (Polanczyk et al, 2007).

Crianças com TDAH apresentam prejuízos em funções cognitivas e executivas, como atenção, percepção, planejamento e organização (Swanson et. al, 1998). Na infância e na adolescência, o TDAH está associado com um risco aumentado de baixo desempenho escolar, repetência, expulsões e suspensões escolares, relações difíceis com familiares e colegas, desenvolvimento de ansiedade, depressão, baixa autoestima, problemas de conduta e delinquência, experimentação e abuso de drogas (Rohde e Halpen, 2004; Barkley et al, 2002). Na idade adulta, o TDAH está associado com depressão, desemprego, crimes, dificuldades financeiras, problemas interpessoais e diversas comorbidades, como o aumento do risco de transtorno por uso de substâncias (Molina et al, 2009; Biederman et al, 2006).

A neurofisiologia do TDAH é bastante complexa e ainda não totalmente compreendida. Inicialmente, estudos com animais apontavam para uma teoria dopaminérgica do TDAH, onde uma deficiência de dopamina nas regiões corticais e do striatum seria responsável pela manifestação dos sintomas desse transtorno (Levy, 1991; Arnsten, 2006). Com o avanço dos estudos, as funções noradrenérgicas foram incluídas (Swanson et. al., 1998), principalmente porque as regiões ligadas ao TDAH são ricas tanto em dopamina quanto em noradrenalina (Faraone e Biederman, 1998). Além disso, a eficácia clínica dos medicamentos estimulantes (como o metilfenidato), que são usados no tratamento de TDAH, está relacionada com ambos os sistemas, dopaminérgico e noradrenérgico (Barry et. al, 2007).

Estudos de neuroimagem têm levado a avanços na compreensão dos quadros clínicos do TDAH, e mostram um papel importante do cérebro para o transtorno, em regiões que envolvem atenção, controles inibitórios e executivos (Pasini e D'Agati, 2009). Um grupo de pesquisadores tem acompanhado o desenvolvimento cerebral, através de estudos de neuroimagem, de crianças com TDAH, e crianças com desenvolvimento típico, ao longo da adolescência e início da vida adulta (Shaw et. al, 2007, 2011, 2013). Em um primeiro estudo, esses autores compararam 824 imagens de ressonância magnética de cérebros de 223 crianças com TDAH e 223 crianças sem a doença. Os resultados indicaram que o padrão de desenvolvimento cerebral das crianças com TDAH era semelhante ao das crianças sem a doença, porém o desenvolvimento diferiu no tempo (Shaw et. al, 2007). Em um segundo estudo, utilizando a mesma abordagem e metodologia do estudo anterior, os autores compararam o padrão de desenvolvimento cerebral de crianças com TDAH e crianças sem a doença, porém desta vez com avaliação para sintomas de hiperatividade e impulsividade. Os resultados desse estudo continuam apontando um atraso maior na maturação do córtex das crianças com TDAH, porém também indicam que as crianças sem o diagnóstico, mas com sintomas do transtorno, exibem o mesmo padrão de atraso no desenvolvimento, que está relacionado com a gravidade de sintomas de hiperatividade e impulsividade (Shaw et. al, 2011). Em 2013, o grupo reavaliou 92 indivíduos, agora no início da vida adulta, da amostra inicial de crianças com TDAH. Destes, 37 (40%) mantiveram o diagnóstico e o padrão de atraso no desenvolvimento cortical, quando comparados com o grupo de remissão e também com um grupo de 184 adultos controles. Os pacientes que apresentaram a remissão dos sintomas demonstraram uma convergência para as dimensões cerebrais típicas, sugerindo que o TDAH na vida adulta está ligado a um atraso persistente na trajetória de desenvolvimento cerebral, especialmente das regiões corticais.

Mais recentemente, a patofisiologia do TDAH passou de modelos focados nas regiões fronto estriadas para modelos de disfunção de redes cerebrais, onde os estudos estão cada vez mais concentrados em anormalidades na conectividade do cérebro (Cortese et al, 2013; Konrad, 2010). A Imagem por Tensor de Difusão (DTI) é uma modalidade de ressonância magnética que fornece informações sobre a direção e integridade de fibras neurais. Estudos utilizando DTI mostram mudanças no desenvolvimento da substância branca em regiões pré-frontais, e em torno dos

gânglios da base e do cerebelo, de pacientes com TDAH, o que gera uma diminuição da mielinização de axônios. Acredita-se que estas alterações causam uma diminuição da velocidade da comunicação neuronal (D'Agati et al, 2010).

Um estudo com crianças e adolescentes com TDAH também mostrou uma diminuição na conectividade do cérebro nos lobos parietal, frontal e no córtex estriado. Esta conectividade se normaliza na maioria dos casos com o uso de metilfenidato (MPH) (Rubia et al, 2010). Outros estudos mostram diferenças na maturação do córtex pré-frontal em pacientes com TDAH, se comparados com um grupo controle. Quando ocorre a normalização do volume, ocorre uma melhora dos sintomas. Já uma diferença progressiva do volume acarreta em uma persistência dos sintomas. Acredita-se que esse padrão de desenvolvimento mais tardio em algumas regiões cerebrais pode ajudar a compreender a heterogeneidade clínica do transtorno (Paus, 2005; Konrad, 2010).

Fatores ambientais também são relevantes no transtorno, sendo importantes para o funcionamento adaptativo e para a saúde da criança, como desentendimentos familiares e presença de transtornos mentais nos pais, os quais estão associados ao surgimento e manutenção desse transtorno (Faraone e Biederman 1998). Adversidades sociais como divórcio, baixa renda, famílias grandes, criminalidade dos pais, psicopatologia materna, complicações na gestação, baixo peso ao nascer e má saúde materna, também já foram associadas com o TDAH (Biederman et al, 1995, Faraone e Biederman, 1998). Da mesma forma, o uso de álcool e nicotina pela mãe também é um fator de risco para o TDAH, sendo sugerido que o tabagismo materno aumenta 2,7 vezes o risco do transtorno (Mick et al, 2002; Milberger et. al, 1996), que parece estar relacionado a um efeito nos receptores nicotínicos que modulam a atividade dopaminérgica (Weiss et al, 2007).

A heterogeneidade do TDAH é atribuída às múltiplas vias envolvidas no desenvolvimento do transtorno, o caracterizando como multifatorial com base neurológica, devido à interação de fatores ambientais e genéticos (Curatolo et al, 2010; Purper-Ouakil et al, 2011). A interação gene-ambiente pode ter um papel importante na heterogeneidade do TDAH, por aumentar a variabilidade de fenótipos (Coghill, 2009). Acredita-se que ela pode se dar por dois modos: o fator genético pode diminuir ou aumentar o impacto de um ambiente em particular, ou um fator ambiental pode ativar um efeito genético (Purper-Ouakil et al, 2011).

3.2 Transtornos por uso de substâncias

Crianças e adolescentes com TDAH têm um risco aumentado e um início precoce de TUS, incluindo o consumo de cigarro (Zulauf et al, 2014). Geralmente, os TUS começam na adolescência ou no início da idade adulta, sendo que cerca de 8,9% dos adolescentes manifestam transtornos por uso de drogas e cerca de 6,4% transtorno por uso de álcool (Merikangas et al, 2010). Um estudo longitudinal mostrou que crianças com TDAH têm duas vezes mais propensão ao uso de nicotina na vida, são três vezes mais propensas à dependência de nicotina na adolescência e, na vida adulta, são duas vezes mais propensas ao uso e dependência de álcool, aproximadamente 1,5 vezes mais propensas ao uso de maconha e duas vezes mais propensas ao uso de cocaína. Em geral, uma criança com TDAH tem 2,5 vezes mais risco de desenvolver TUS de forma global do que uma criança sem TDAH (Lee et. al, 2011).

Existem várias teorias para explicar essa relação entre os TUS e o TDAH; uma delas leva em conta que crianças e adolescentes com TDAH têm maior evasão escolar que aqueles sem TDAH (Barbarese et al, 2007; Bussing et al, 2010). As dificuldades escolares podem levar ao uso de substâncias como meio de mascarar essa realidade (Fletcher et al, 2009). Outra preocupação é que o início precoce do uso de medicamentos estimulantes na infância possa estar ligado a esse aumento do risco de TUS em pacientes com TDAH. No entanto, segundo Biederman et al. (2009), o tratamento farmacológico adequado do TDAH reduz o risco de TUS em jovens com TDAH.

Outra teoria se baseia nos medicamentos usados para o tratamento de TDAH. O principal fármaco utilizado é o metilfenidato, que possui eficácia comprovada (Atkinson et al, 2010) e age no sistema nervoso central (SNC), aumentando a quantidade de dopamina disponível (Ogdie et al, 2003). O uso de drogas de abuso, incluindo, cocaína, anfetamina, meta-anfetamina, ecstasy, nicotina, álcool, opiáceos e maconha, aumentam as concentrações sinápticas de dopamina, mais nitidamente no centro cerebral de recompensa, o núcleo de accumbens (Cavacuiti, 2011). De acordo com essa hipótese, indivíduos com TDAH podem usar substâncias estimulantes para aumentar as concentrações de dopamina como uma forma de automedicação (Wilens et al, 2007). Nesse sentido, o TDAH também pode estar ligado à desmoralização social e ao fracasso, que podem estar presentes em

peças com TUS também, e a automedicação pode ser uma forma de atenuar os sintomas de humor e insônia (Biederman et al, 2006).

Um precursor importante para o desenvolvimento de TUS é o tabagismo na adolescência, sendo que metade dos fumantes jovens desenvolvem TUS na idade adulta (Biederman et al, 2006). Adultos dependentes de nicotina apresentam uma melhora nos sintomas de atenção e funcionamento cognitivo, o que fez com que várias pesquisas utilizassem agentes nicotínicos para tratamento de TDAH (Cunha et al, 2008; Rivera-Oliver e Díaz-Ríos, 2014). Em indivíduos com TDAH têm sido sugerida uma correlação entre o número de sintomas de desatenção e hiperatividade/ impulsividade e o desenvolvimento de TUS (Gudjonsson et al, 2012). Um estudo de coorte longitudinal com crianças canadenses realizado por Pingault et al. (2012) constatou que os sintomas de desatenção estavam associados à dependência de nicotina, enquanto que os sintomas de hiperatividade não estavam.

Outra hipótese proposta para explicar a relação entre o TDAH e os TUS é o modelo da desinibição comportamental, que é caracterizado por um déficit na capacidade de inibir ações que visam a gratificação imediata, mesmo que estas possam ser socialmente inadequadas e possam resultar em consequências negativas a médio e longo prazo (Young et. al., 2009). Nesse contexto, o TUS seria uma consequência de uma cascata de desinibição comportamental que tem início na infância e engloba traços específicos de personalidade, como extroversão, impulsividade e busca de novidades, e alguns transtornos, como o TDAH, o transtorno de conduta (TC) e o transtorno opositor desafiante (TOD). Fatores de risco comuns, tanto genéticos como ambientais, seriam responsáveis por esse conjunto comportamental. Ao longo do desenvolvimento, novos fatores poderiam modelar a expressão desses fenótipos, o que explicaria por que, mesmo dentro de uma via de susceptibilidade comum, nem todos os indivíduos vulneráveis apresentam o mesmo desfecho (Iacono et al. 2008).

3.3 Genética do TDAH

Os estudos familiares, incluindo estudos com gêmeos e adotados, sugerem que existe alta agregação familiar no TDAH. O risco para doença é de 2 a 8 vezes

maior nos pais e irmãos das crianças afetadas, do que na população em geral (Faraone e Doyle, 2001). Nesse sentido, os estudos com adotados são importantes para desvincular os fatores genéticos do ambiente compartilhado e, num estudo com adotivos, Cantwell (1975) mostrou que pais biológicos de crianças hiperativas têm alto risco de TDAH, se comparados aos pais adotivos.

Os estudos com gêmeos também demonstraram que existe uma alta herdabilidade para o TDAH, sendo esta estimada em 76% em crianças (Faraone et al, 2005), e, em adultos, quando são usadas escalas de auto avaliação, em aproximadamente 30% (Boomsma et al, 2010). Alguns autores têm atribuído essa discrepância de valores à dificuldade de avaliação para o TDAH em adultos, visto que muitos diagnósticos na vida adulta são feitos utilizando escalas de auto avaliação, que podem gerar resultados não tão precisos, por dependerem da memória dos pacientes (Franke et al. 2012). Mais recentemente, no estudo de Brikeel et al. (2015) foram avaliados diferentes métodos de cálculo de herdabilidade em adultos e chegou-se em um valor de herdabilidade que varia entre 70 e 80%, ao combinar a avaliação dos pais com a auto avaliação, fornecendo evidências de que a herdabilidade na vida adulta é a mesma que na infância.

Com base na descoberta da grande relevância da genética no TDAH, ele tornou-se um alvo atrativo para estudos genéticos e várias ferramentas moleculares, como estudos de ligação, estudos com genes candidatos e, mais recentemente, estudos de associação genômica (GWAS) são utilizados na busca dos possíveis genes, ou variantes genéticas, que possam estar envolvidos com o desenvolvimento do transtorno. Primeiramente, a partir dos genes e regiões sugeridas, e de hipóteses biológicas prováveis, foram selecionados genes candidatos, sendo as anomalias na neurotransmissão um dos primeiros caminhos a serem seguidos, pois medicamentos usados para o TDAH aumentam as quantidades de dopamina e outros neurotransmissores no cérebro (Ogdie et al, 2003).

O MPH, principal tratamento para TDAH, age na proteína transportadora de dopamina (DAT) e um polimorfismo do tipo VNTR (número variável de repetições em tandem), no gene que codifica essa proteína (*SLC6A3/ DAT1*), foi uma das primeiras variantes estudadas, apresentando evidências de associação com o TDAH em vários estudos (Faraone e Mick, 2010). Ainda no sistema dopaminérgico, o gene codificador do receptor de dopamina D4 (*DRD4*) também tem sido implicado no TDAH. Faraone et. al. (2005), em uma meta-análise, observaram uma associação

entre o alelo de sete repetições do VNTR de 48 pares de base (pb) no exon III do gene *DRD4* com o TDAH, em estudos familiares e de caso-controle.

Nos estudos com genes candidatos também foram identificadas variáveis de risco nos genes do receptor D5 (*DRD5*), da proteína transportadora de serotonina (*SLC6A4/ 5-HTT*), do receptor 1B de serotonina (*HTR1B*), da proteína associada ao sinaptossoma de 25 kDa (*SNAP25*) e da Catechol-O-methyl-transferase (*COMT*), (Gizer et al, 2009; Faraone e Mick, 2010; Stergiakouli e Thapar, 2010; Purper-Ouakil et al., 2011). Muitos estudos com as mesmas variantes não encontraram associação com o TDAH (Johansson et al, 2008; de Silva et al, 2011; Muller et. al, 2010), o que ressalta a importância da realização de mais estudos para melhor compreender tais achados.

Na revisão realizada por Hawi et al (2015) são descritos os principais genes candidatos para o TDAH nos últimos 20 anos, como o *SLC6A3*, *DRD4*, *DRD5*, *SLC6A4*, *HTR1B*, *SNAP-25*, o gene latrofilina 3 (*LPHN3*) e o gene óxido nítrico sintase (*NOS1*). A Tabela 2 retirada deste artigo apresenta os principais genes candidatos, investigados em estudos de ligação ou associação, e inclui as referências que confirmam a associação dos mesmos com o transtorno.

Tabela 2 - Os genes candidatos que apresentam evidências de associação com TDAH.

Gene	Variante	Localização	Função Biológica	Referências
<i>SLC6A3</i>	40 bp VNTR	3' UTR	Regulador da dopamina extracelular e mediador da recaptação de dopamina na sinapse.	Cook et. al, 1995 Gizer et. al, 2009
<i>DRD4</i>	48 bp VNTR	Exon	GPCR ativado pelo neurotransmissor dopamina.	La Hoste et al, 1996 Gizer et. al, 2009
<i>DRD5</i>	148 pb repetição de dinucleotídeos	5' flanking	Transdução de sinais extracelulares, sob a forma de dopamina em várias respostas intracelulares, incluindo efeitos no adenilato ciclase, nos níveis de Ca ²⁺ e na condutividade do K ⁺ .	Daly et. al, 1999 Gizer et. al, 2009
<i>SLC6A4</i>	40 pb in/del	5' flanking	Um membro da família dos transportadores de membrana que são dependentes de Na ⁺ e Cl. Mediador da receptação de serotonina na sinapse.	Manor et. al, 2002 Gizer et. al, 2009
<i>HTR1B</i>	rs6296	Exon 1	GPCR para serotonina. O primeiro alvo para antidepressivos e substância psicoativas.	Hawi et al, 2002 Gizer et. al, 2009
<i>SNAP25</i>	rs3746544	3' UTR	Proteína da membrana plasmática essencial para a função da vesícula sináptica e liberação do neurotransmissor.	Brophy et. al, 2002 Gizer et. al, 2009
<i>SLC9A9</i>	Inversão do ponto de parada	Região 3p14-q21	Um membro da grande família 9 de carregadores de soluto. Ação na troca eletroneural de H/Na ⁺ através das membranas.	de Silva et al, 2003 Lasky-Su et al, 2008 Mick et al, 2010
<i>LPHN3</i>	Haplótipos	Exon 4-19	Codifica um membro da subfamília	Arcos-burgos et al,

	englobando variantes em exons		latrophilina de GPCR. Pode atuar na transdução de sinal e na adesão celular.	2010, Ribases et al, 2011
<i>GIT1</i>	rs550818	Intron	GPCR quinase. Pode estar envolvida no trafico de vesículas, adesão celular e aumento da velocidade de migração de células. Maior expressão do <i>GIT1</i> é conhecido por regular os receptores Beta 2 adrenérgicos.	Won et al, 2011
<i>NOS1</i>	180-210 bp CA repetidos	Exon	Mediador de vários processos biológicos incluindo neurotransmissão e é associado com condições neurodegenerativas.	Reif et al, 2009 Franke et al, 2009
Abreviaturas: GPCR, Receptores acoplados a proteína G; UTR, região não traduzida; VNTR, número variável de repetições em tandem.				

Fonte: Hawi et al, 2015

Estudos de GWAS podem identificar variantes comuns que aumentam o risco para determinada doença, utilizando genotipagens em larga escala. Os GWAS de pacientes com TDAH já identificaram vários potenciais genes de risco e têm revelado algumas sobreposições de resultados, principalmente no locus contendo o gene *cadherina 13 (CDH13)* (Lesch et al, 2008). O gene *CDH13* codifica uma molécula de adesão celular que também é reguladora do crescimento das células neuronais (Stergiakouli e Thapar, 2010). Vários resultados fornecem um efeito comum para genes que codificam células de adesão (como o *CDH13*), reguladores de plasticidade sináptica (ex. alfa catemina 2 – *CTNNA2*) e canais iônicos ou proteínas relacionadas (ex. canais de cálcio dependentes de tensão e a dipeptil-peptidase 6 – *DPP6*). No entanto, apesar da alta herdabilidade do transtorno e de todos os genes já relacionados ao TDAH, nenhum dos genes investigados até o momento parece ser suficiente ou necessário para o desenvolvimento do transtorno. Além disso, parece que variantes genéticas comuns sozinhas, mesmo que tenham um efeito na doença, ainda não são capazes de explicar toda a variância do fenótipo atribuível aos genes.

Uma possível razão para a falta de sucesso de muitos estudos genéticos em doenças complexas é a existência de interação entre locus. Se um fator genético funcional, principalmente em doenças genéticas, envolve vários outros genes e, possivelmente, fatores ambientais, seu efeito potencial pode ser disperso quando ele for analisado isoladamente. Por isso, muitos métodos estatísticos e softwares foram criados para testar essas interações entre locus em estudos de associação (Cordell, 2009).

Hipóteses de interações gene-gene baseadas em evidências biológicas

podem ser oriundas de estudos experimentais *in vivo*, *in vitro* ou também de análises de bioinformática com foco na interface de interações proteína-proteína. Mota et. al. (2013), baseados na hipótese de formação de heterodímeros entre os receptores de dopamina D2 (*DRD2*) e D4 (*DRD4*) (Borroto-Escuela et. al, 2011; Gonzalez et. al, 2012), demonstraram, em duas amostras independentes, um efeito epistático de variantes comuns nos genes *DRD2* e *DRD4* na susceptibilidade à dependência de álcool, o que está provavelmente refletindo os diferentes padrões de heteromerização propostos. É importante ressaltar que muitos resultados controversos de associações entre os genes dos receptores de dopamina (*DRD2* e *DRD4*) e à dependência de álcool têm sido publicados. Os achados de Mota et. al., 2013, portanto, abrem uma nova perspectiva de investigação e/ ou reavaliação do papel desses genes nos transtornos psiquiátricos. Ainda nessa linha de investigação, nosso grupo também detectou uma interação significativa entre polimorfismos funcionais nos genes do receptor mineralocorticoide (*NR3C2*) e do receptor glicocorticoide (*NR3C1*) na susceptibilidade à dependência de nicotina (Rovaris et. al., 2013b). A hipótese de um efeito epistático dos genes *NR3C2* e *NR3C1* foi baseada em padrões de heterodimerização desses receptores sobre a regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, o qual pode estar envolvido, a partir de mecanismos relacionados com o estresse, em diferentes aspectos do uso de tabaco. Em conjunto, esses estudos de interações baseados em hipóteses biológicas (Borroto-Escuela et al., 2011; Gonzalez et. al., 2012; Mota et. al., 2013; Rovaris et. al., 2013b) sugerem um modo promissor de investigação do papel de variantes genéticas comuns na susceptibilidade a doenças complexas.

3.4 PRNPE NCAM1

O gene *PRNP* codifica uma glicoproteína de membrana chamada de Proteína Prion Celular (PrPC), encontrada nos terminais sinápticos de diversas áreas do sistema nervoso central (Salès et. al, 1998). Embora a função fisiológica da proteína PrPC não esteja completamente elucidada, sabe-se que isoformas alteradas dessa proteína se depositam no cérebro. Mutações no gene *PNRP* são responsáveis por uma categoria de doenças neurodegenerativas, conhecidas como doenças priônicas ou encefalopatias espongiformes, que acometem humanos e animais (Prusener,

1998).

Diversos estudos têm demonstrado que a função da proteína PrPc, e de suas interações com outros elementos, parece ser essencial para muitos fenômenos biológicos relacionados com a sinalização celular, plasticidade neural e consolidação da memória, entre outros, sugerindo um efeito em processos cognitivos (Zomosa-Signoret et al, 2008). Além disso, existem evidências recentes demonstrando que manipulações genéticas no gene *PRNP* modulam os efeitos do álcool em camundongos, tanto via sinalização glutamatérgica (Petit-Paitel et al, 2012) quanto via sinalização dopaminérgica (Rial et al, 2012).

O gene *PRNP* está localizado no braço curto cromossomo 20 e é composto por dois éxons, que são traduzidos em uma longa sequência de 253 aminoácidos (Prusener, 1998). Esse gene contém um polimorfismo comum no códon 129 (rs1799990), o qual pode codificar uma metionina (Met) ou uma valina (Val) nessa posição. Evidências sugerem que este polimorfismo altera a conformação da proteína e modula o risco de desenvolvimento das doenças priônicas (Petchanikow et al, 2001; Tahiri-Alaoui et al, 2004). De fato, alguns estudos têm também investigado associações entre esse polimorfismo e transtornos mentais, como a esquizofrenia e doença de Alzheimer, além de medidas neuropsicológicas e memória de longa duração (Papassotiropoulos et al, 2005; Martorell et al, 2007; Choi et al, 2010; Flirski et al, 2012). No entanto, os resultados são ainda pouco conclusivos.

O gene *NCAM1* está localizado no cromossomo 11q23.1, e codifica a proteína NCAM (*neural cell adhesion molecule*), a qual faz parte da superfamília de genes de imunoglobulina, e é amplamente expressa no SNC. O *NCAM1* é expresso em células e neurônios que promovem a adesão e migração celular, a plasticidade sináptica, o crescimento, proliferação, diferenciação e sobrevivência de neuritos (Maness, Schachner 2007), tendo também um importante papel regulatório durante o desenvolvimento do córtex pré-frontal (Cox et al. 2009).

Alguns estudos encontraram associações de variantes no gene *NCAM1* com transtornos mentais, como a esquizofrenia, autismo e o transtorno do humor bipolar, o que sugere que o gene pode ter múltiplos efeitos (Arai et al. 2004; Lewis et al, 2003; Vawter, 2000). Camundongos *knockout* para o gene *NCAM1* já foram usados para imitar sintomas de esquizofrenia (Wood et al, 2001) e outros estudos mostraram que esses modelos animais *NCAM1* apresentaram comportamentos de hiperatividade, agressividade, inquietação e comportamento social anormal (Stork et

al, 2000). Já em humanos, alterações nesse gene também estão ligadas a defeitos no tubo neural (Deak et al, 2005).

É interessante ressaltar ainda que o gene *NCAM1* está localizado em um cluster gênico na região cromossômica 11q, juntamente com os genes *TTC12* (*tetratricopeptide repeat domain 12*), *ANKK1* (*ankyrin repeat and kinase domain containing 1*) e *DRD2*, e muitos estudos têm relacionado polimorfismos nesses genes com diversos comportamentos em humanos, especialmente com o uso de substâncias. Haplótipos dessa região já foram associados com o uso de nicotina, dependência de álcool e de drogas (Yang et al, 2008; Gelernter et al, 2006; Nelson et al, 2013). Com relação ao TDAH, alguns autores têm demonstrado que a interação entre variantes dessa região com variantes do gene *LPHN3* aumenta o risco de desenvolvimento do transtorno (Acosta et al. 2011; Jain et al. 2012; Bruxel et al. 2015). Em um estudo do nosso grupo, publicado por Mota et al. (2015), polimorfismos do cluster gênico *NCAM1-TTC12-ANKK1-DRD2* foram associados com a presença de comorbidades (transtorno depressivo maior e transtorno de ansiedade generalizado) e com dimensões de temperamento (persistência e evitação de danos), na amostra de pacientes adultos com TDAH, sugerindo que essas variantes podem também contribuir para a heterogeneidade clínica observado no transtorno.

Em conjunto, os trabalhos descritos acima sugerem que interações envolvendo o gene *NCAM1* podem contribuir para o desenvolvimento e/ou heterogeneidade clínica do TDAH. Desta forma, considerando as evidências que sugerem que o envolvimento da proteína PrPc em diferentes processos fisiológicos depende de sua interação com outros elementos (Martins e Brentani, 2002; Coitinho et al, 2007; Santos et. al, 2013) e que, entre as proteínas que interagem diretamente com a PrPc, destaca-se a NCAM (Schmitt-Ulms et al, 2001), este estudo tem como objetivo principal avaliar possíveis efeitos epistáticos dos genes *PRNP* e *NCAM1* na predisposição ao TDAH e aos TUS.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

As amostras, descritas a seguir, de indivíduos adultos foram cedidas, para a realização desse projeto, pelo professor Claiton Henrique Dotto Bau – coordenador principal do grupo de pesquisa em genética psiquiátrica de adultos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). A amostra referente às crianças foi cedida pelos professores Mara Helena Hutz e Luis Augusto Rohde, coordenadores do grupo de pesquisa em TDAH na infância da UFRGS. Todos os indivíduos estudados assinam termos de consentimento, aprovados pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, onde as amostras foram coletadas. No caso das crianças, um termo de consentimento foi assinado por todos os pais e, para cada criança ou adolescente, foi solicitada uma aprovação verbal.

4.1.1 Adultos com TDAH

A amostra foi composta por 535 indivíduos euro descendentes, de ambos os sexos, diagnosticados no Programa de Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (ProDAH) do HCPA. Os pacientes preencheram os critérios de diagnóstico do DSM-IV (APA, 1994) e foram avaliados em relação à gravidade dos sintomas de TDAH.

O protocolo de pesquisa também incluiu uma avaliação de dados sócios demográficos, diagnósticos quanto à presença de comorbidades psiquiátricas, avaliações neuropsicológicas e de dimensões de temperamento. Todas as avaliações foram realizadas por psiquiatras e psicólogos com experiência clínica em TDAH e domínio dos instrumentos utilizados na rotina do ProDAH. Uma melhor caracterização dos instrumentos clínicos utilizados pode ser encontrada em descrita em Cerqueira et al. (2010) e Silva et al. (2014).

4.1.2 Crianças com TDAH

A amostra foi composta por 431 crianças com TDAH e 77 crianças controles, de ambos os sexos, avaliados por psiquiatras da infância do ProDAH do HCPA. O diagnóstico dos pacientes foi realizado de acordo com os critérios do DSM-IV (APA, 1994).

O protocolo de pesquisa também incluiu avaliação de dados sócios demográficos, diagnósticos quanto à presença de comorbidades psiquiátricas e avaliações neuropsicológicas dos pacientes. Maiores detalhes podem ser encontrados em Roman et al. (2001), Schmitz et al. (2006) e Bruxel et al. (2015).

4.1.3 Dependentes de álcool

A amostra foi composta por 126 homens, maiores de 18 anos, dependentes de álcool, diagnosticados durante o período de internação no Hospital Espírita de Porto Alegre. O processo de diagnóstico seguiu os critérios do DSM-III. Além disso, uma avaliação estruturada para genética no alcoolismo (*Structured Assessment for the Genetics in Alcoholism – SSAGA*; Bucholz et al, 1994) foi empregada para avaliar a gravidade dos sintomas e o perfil de comorbidades. Uma descrição mais detalhada da amostra pode ser encontrada em Contini et al. (2006).

4.1.4 População geral

A amostra foi composta por 639 indivíduos, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, recrutados no banco de sangue do HCPA. O TDAH foi avaliado pela ASRS (*Adult ADHD Self-Report Scale screener*), enquanto que outros transtornos psiquiátricos foram diagnosticados a partir de um módulo de *screening* do SCID-I (*Structured Clinical Interview for DSM-IV*). Essa amostra foi coletada para servir de grupo controle nos estudos de genética do TDAH em adultos e do alcoolismo (excluindo abusadores e dependentes de álcool). Maiores detalhes em Kortmann et al. (2013).

4.1.5 Usuários de nicotina

A amostra foi formada por 463 indivíduos usuários de nicotina das amostras descritas nos itens anteriores, com exceção das crianças, que foram avaliados a partir de um questionário de tolerância (*Fagerström Test for Nicotine Dependence - FTND*). O critério para tabagismo *lifetime* foi definido como o uso diário de cigarros de tabaco, no presente ou no passado, por no mínimo 30 dias, já que o tabagismo diário é fortemente correlacionado com a dependência de nicotina (Mayhew et.al. 2000; Wellman et.al. 2004; Polina et.al. 2009).

4.2 Métodos laboratoriais

Os polimorfismos analisados foram o rs1799990, no gene *PRNP*, e o rs965560, no gene *NCAM1*. As amostras de DNA dos participantes, já armazenadas, foram amplificadas e genotipadas pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) através do sistema de discriminação alélica TaqMan® (Applied Biosystems). O protocolo de genotipagem seguiu as recomendações do fabricante (*assay-code*: C_2969398_10 para o rs1799990 e C_8909661_10 para o rs965560).

4.3 Análises estatísticas

O equilíbrio de Hardy-Weinberg e as associações entre os genótipos dos polimorfismos com as variáveis categóricas foram testadas pelo teste do qui-quadrado de Pearson. As comparações das variáveis clínicas contínuas entre os diferentes genótipos foram realizadas através de ANOVA. As interações gene-gene sobre a susceptibilidade ao TDAH e às dependências de álcool e nicotina foram testadas por modelos lineares gerais.

5 RESULTADOS

A amostra de adultos com TDAH foi composta por 535 indivíduos, com uma média de idade de 33,6 anos, sendo 55,7% do sexo masculino. A gravidade média dos sintomas, avaliados pela escala SNAP-IV, foi de 1,88 ($\pm 0,55$) para os sintomas de desatenção, 1,45 ($\pm 0,78$) para os sintomas de hiperatividade e 1,55 ($\pm 0,87$) para os sintomas de impulsividade. A amostra apresentou um escore de QI médio estimado de 102 ($\pm 9,33$) e 7,9% dos pacientes apresentaram o diagnóstico de dependência de álcool *lifetime* e 43,7% de uso de nicotina.

A amostra de crianças com TDAH foi composta por 431 indivíduos, com uma média de idade de 10,4 anos ($\pm 3,14$), sendo que 77,6% são meninos. O escore de QI médio estimado para essa amostra foi de 92,2 ($\pm 13,6$) e a gravidade média dos sintomas, avaliados pela escala SNAP-IV, foi de 1,92 ($\pm 0,57$) para os sintomas de desatenção e 1,62 ($\pm 0,78$) para os sintomas de hiperatividade.

As frequências alélicas e genótípicas para os polimorfismos rs1799990-*PRNP* e rs965560-*NCAM1* nas amostras de pacientes com TDAH, indivíduos controles e de homens dependentes de álcool encontram-se descritas na tabela 3. As frequências genótípicas para todas as amostras descritas estão de acordo com o esperado para o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 3: Frequências genótípicas e alélicas dos polimorfismos rs1799990-*PRNP* e rs965560-*NCAM1* nas amostras investigadas

Variável	Crianças com TDAH <i>n</i> = 431	Crianças sem TDAH <i>n</i> = 77	Adultos com TDAH <i>n</i> = 535	Adultos da população geral <i>n</i> = 639	Homens dependentes de álcool <i>n</i> = 130
rs1799990					
AA	191 (44,3)	27 (35,1)	243 (45,4)	275 (43,0)	54 (41,6)
AG	181 (42,0)	33 (42,8)	235 (43,9)	292 (45,7)	58 (44,6)
GG	59 (13,7)	17 (22,1)	57 (10,7)	72 (11,3)	18 (13,8)
alelo A	0,65	0,56	0,67	0,66	0,64
alelo G	0,35	0,44	0,33	0,34	0,36
rs965560					
AA	45 (10,4)	4 (5,2)	46 (8,6)	63 (9,8)	11 (8,5)
AG	180 (41,8)	35 (45,4)	240 (44,9)	265 (41,5)	44 (33,8)
GG	206 (47,8)	38 (49,4)	249 (46,5)	311 (48,7)	75 (57,7)
alelo A	0,31	0,28	0,31	0,31	0,25
alelo G	0,69	0,72	0,69	0,69	0,75

Abreviações: TDAH, Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade. As frequências genótípicas estão expressas como *n* e (%).

Não foram detectadas associações significativas entre o polimorfismo rs1799990-*PRNP* com os TUS (dependência de álcool e uso de nicotina) e TDAH em adultos. Foi observada uma associação entre o alelo A do polimorfismo com o TDAH na infância ($p=0,04$). Essas análises estão descritas na tabela 4. Não foram detectadas interações significativas entre os polimorfismos investigados sobre a susceptibilidade ao TDAH, na infância ($p=0,507$) e na fase adulta ($p=0,238$), e às dependências de álcool ($p=0,276$) e nicotina ($p=0,07$).

Tabela 4: Comparação entre as frequências alélicas e genóticas do polimorfismo rs1799990-*PRNP* em indivíduos com TDAH e controles, em homens dependentes de álcool e controles e em usuários de nicotina e controles.

Amostra	Genótipos			<i>p</i>	Alelos		<i>P</i>
	AA	AG	GG		A	G	
Adultos com TDAH ($n=535$)	243 (45,4)	235 (43,9)	57 (10,7)	0,710	0,67	0,33	0,47
Controles ($n=639$)	275 (43,0)	292 (45,7)	72 (11,3)		0,66	0,34	
Crianças com TDAH ($n=431$)	191 (44,3)	181 (42,0)	59 (13,7)	0,112	0,65	0,35	0,04
Controles ($n=77$)	27 (35,1)	33 (42,9)	17 (22,1)		0,56	0,44	
Crianças com TDAH + TC ($n=53$)	22 (41,5)	22 (41,5)	9 (17,0)	0,760	0,62	0,38	0,55
Crianças apenas com TDAH ($n=378$)	169 (44,7)	159 (42,1)	50 (13,2)		0,65	0,35	
Homens dependentes de álcool ($n=130$)	54 (41,5)	58 (44,6)	18 (13,8)	0,597	0,64	0,36	0,46
Controles homens ($n=314$)	138 (43,9)	143 (45,5)	33 (10,5)		0,67	0,33	
Uso de nicotina ($n=463$)	191 (41,3)	219 (47,3)	53 (11,4)	0,322	0,65	0,35	0,27
Controles ($n=845$)	384 (45,4)	366 (43,3)	95 (11,2)		0,67	0,33	

Abreviações: TDAH, Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade; TC, transtorno de conduta. As frequências genóticas estão expressas como *n* e (%).

Na tabela 5 encontra-se uma descrição geral da amostra de adultos com TDAH, categorizada de acordo com os genótipos para os dois polimorfismos analisados. Os dados incluem principais comorbidades, escores de gravidade de sintomas de TDAH, dimensões de temperamento e escores de desempenho cognitivo. Não foram observadas associações significativas com o polimorfismo rs965560-*NCAM1*. Com relação ao polimorfismo rs1799990-*PRNP*, podemos destacar que indivíduos heterozigotos AG apresentaram uma maior frequência da comorbidade TOD ($p=0,017$), assim como escores médios de sintomas de TOD significativamente mais elevados ($p=0,012$), em comparação aos indivíduos

homozigotos GG. Para as demais variáveis investigadas, não foram detectadas diferenças significativas entre os genótipos.

Tabela 5: Efeitos dos polimorfismos rs1799990 e rs965560 em características clínicas da amostra de pacientes adultos com TDAH

Característica	PRNP-rs1799990				NCAM1-rs965560			
	AA n=243	AG n=235	GG n=57	p*	GG n=249	AG n=240	AA n=46	p*
Comorbidades								
Diagnóstico TOD atual, n (%)	71 (31,8)	85 (39,4)	11 (20,0)	0,018^a	78 (33,6)	75 (34,2)	14 (32,6)	0,974
Diagnóstico TOD <i>lifetime</i> , n (%)	141 (58,3)	151 (64,5)	32 (57,1)	0,311	149 (59,8)	148 (62,4)	27 (58,7)	0,799
Transtorno de conduta antes dos 15, n (%)	46 (19,1)	54 (23,2)	6 (10,5)	0,091	50 (20,5)	49 (20,7)	7 (15,2)	0,694
Personalidade antissocial, n (%)	17 (7,1)	17 (7,3)	1 (1,8)	0,296	16 (6,5)	16 (6,8)	3 (6,5)	0,991
Transtorno depressivo maior, n (%)	91 (37,4)	94 (40,0)	20 (35,1)	0,737	90 (36,1)	92 (38,3)	23 (50,0)	0,207
Dependência de álcool, n (%)	20 (8,2)	17 (7,2)	5 (8,8)	0,887	20 (8,0)	20 (8,3)	2 (4,3)	0,648
Abuso de álcool (<i>lifetime</i>), n (%)	12 (4,9)	16 (6,8)	4 (7,0)	0,643	16 (6,4)	14 (5,8)	2 (4,4)	0,867
Uso de nicotina, n (%)	103 (42,4)	111 (47,2)	20 (35,1)	0,214	99 (39,8)	114 (47,5)	21 (45,7)	0,218
TUS, n (%)	113 (46,5)	118 (50,4)	24 (42,1)	0,460	113 (45,4)	123 (51,3)	19 (42,2)	0,318
Gravidade dos sintomas de TDAH								
SNAP desatenção, média (±DP)	1,86 (0,56)	1,91 (0,55)	1,80 (0,51)	0,342	1,90 (0,57)	1,85 (0,54)	1,85 (0,51)	0,642
SNAP hiperatividade, média (±DP)	1,45 (0,76)	1,48 (0,80)	1,32 (0,78)	0,398	1,47 (0,77)	1,39 (0,80)	1,61 (0,76)	0,195
SNAP impulsividade, média (±DP)	1,53 (0,87)	1,59 (0,88)	1,43 (0,89)	0,451	1,60 (0,85)	1,47 (0,90)	1,67 (0,84)	0,180
SNAP TOD, média (±DP)	0,90 (0,57)	0,99 (0,62)	0,74 (0,47)	0,012^b	0,93 (0,57)	0,90 (0,58)	1,06 (0,66)	0,248
SNAP TDAH, média (±DP)	1,67 (0,53)	1,71 (0,52)	1,58 (0,52)	0,213	1,71 (0,52)	1,63 (0,53)	1,74 (0,52)	0,251
SNAP TDAH + TOD, média (±DP)	1,43 (0,49)	1,49 (0,50)	1,32 (0,46)	0,056	1,47 (0,48)	1,41 (0,49)	1,53 (0,52)	0,219
Dimensões de temperamento								
Procura por novidades, média (±DP)	24,9 (6,12)	24,3 (6,81)	23,7 (5,65)	0,377	24,7 (6,28)	24,1 (6,48)	25,7 (6,45)	0,283
Evitação de danos, média (±DP)	20,5 (7,17)	20,2 (6,95)	21,7 (8,14)	0,367	20,5 (6,96)	20,5 (7,21)	20,3 (8,36)	0,959
Dependência de recompensa, média (±DP)	14,9 (3,86)	14,4 (4,17)	14,7 (4,52)	0,402	14,4 (4,20)	14,9 (3,93)	14,7 (4,03)	0,331
Persistência, média (±DP)	4,1 (1,98)	4,3 (1,82)	4,2 (1,96)	0,477	4,1 (1,87)	4,2 (1,97)	4,40 (1,84)	0,677
Desempenho cognitivo								
Escore no subteste vocabulário, média (±DP)	105 (10,2)	105 (10,0)	107 (10,0)	0,590	106 (9,0)	105 (11,0)	107 (9,9)	0,472
Escore no subteste cubos, média (±DP)	99 (12,4)	98 (14,2)	98 (12,4)	0,766	99 (13,1)	97 (12,8)	101 (14,6)	0,216
QI total estimado, média (±DP)	102 (8,5)	102 (10,0)	103 (9,1)	0,723	103 (8,2)	101 (9,5)	104 (10,9)	0,162

Abreviações: TDAH, Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade; TOD, transtorno opositor desafiante; TUS, transtorno por uso de substâncias (inclui abuso e dependência de álcool, uso de nicotina e uso de outras drogas); SNAP, *Swanson, Nolan and Pelham Rating Scale*; DP, desvio padrão; QI, Quociente de Inteligência.

Post-hoc (Bonferroni): ^a AA-AG p=0,30; **AG-GG p=0,017**; AA-GG p=0,228. ^b AA-AG p=0,337; **AG-GG p=0,012**; AA-GG p=0,169.

A tabela 6 apresenta a descrição geral dessa amostra de crianças, categorizada de acordo com os genótipos do polimorfismo rs1799990-*PRNP*. Da mesma forma que o observado para adultos, nenhuma associação significativa com esse polimorfismo foi detectada.

Tabela 6: Efeitos do polimorfismo rs1799990-*PRNP* em características clínicas da amostra de crianças com TDAH

Característica	rs1799990				p*
	Total	AA	AG	GG	
QI Estimado, média (±DP)	92,2 (13,6)	92,3 (12,9)	92,6 (14,1)	90,9 (14,1)	0,726
Comorbidades					
Diagnóstico de TOD, <i>n</i> (%)	159 (37,1)	74 (39,2)	64 (35,6)	21 (35,6)	0,747
Diagnóstico de TC, <i>n</i> (%)	53 (12,4)	22 (11,6)	22 (12,2)	9 (15,3)	0,760
Transtorno de Ansiedade, <i>n</i> (%)	144 (28,6)	65 (30,2)	59 (27,7)	20 (26,3)	0,756
Transtorno de Humor, <i>n</i> (%)	56 (11,1)	23 (10,6)	21 (9,9)	12 (15,8)	0,355
Gravidade					
SNAP Hiperatividade, média (±DP)	1,63 (0,78)	1,67 (0,81)	1,64 (0,74)	1,43 (0,84)	0,342
SNAP Desatenção, média (±DP)	1,92 (0,58)	1,97 (0,59)	1,90 (0,56)	1,85 (0,60)	0,522
SNAP Total, média (±DP)	1,59 (0,56)	1,62 (0,59)	1,59 (0,55)	1,45 (0,53)	0,386
SNAP Oposição, média (±DP)	1,16 (0,78)	1,17 (0,81)	1,17 (0,78)	1,04 (0,63)	0,694

Abreviações: TDAH, Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade; QI, Quociente de Inteligência; TOD, transtorno opositor; TC, transtorno de conduta; SNAP, Swanson, Nolan and Pelham Rating Scale; DP, desvio padrão.

Na tabela 7 são descritos os testes de associação entre os polimorfismos investigados na amostra de dependentes de álcool. Não foram detectadas associações significativas para nenhuma das variáveis clínicas investigadas, para nenhum dos polimorfismos.

Tabela 7: Efeitos dos polimorfismos rs1799990 e rs965560 em características clínicas da amostra de homens dependentes de álcool

Característica	rs1799990- <i>PRNP</i>				rs965560- <i>NCAM1</i>			
	AA	AG	GG	<i>p</i> *	GG	AG	AA	<i>p</i> *
Comorbidades								
Personalidade antissocial	10 (18,5)	6 (10,2)	4 (22,2)	0,335	12 (16,0)	8 (18,2)	0 (0,0)	0,319
Uso de nicotina, <i>n</i> (%)	49 (94,2)	47 (83,9)	15 (88,32)	0,236	64 (88,9)	39 (88,6)	9 (90,0)	0,992
Uso de Drogas, <i>n</i> (%)	9 (17,3)	14 (24,6)	3 (17,6)	0,614	18 (24,7)	7 (15,9)	1 (10,0)	0,364
Depressão, <i>n</i> (%)	17 (32,7)	20 (35,7)	7 (41,2)	0,814	23 (31,9)	15 (34,1)	6 (60,0)	0,235
Alucinações, <i>n</i> (%)	26 (50,0)	38 (66,87)	5 (29,4)	0,016	39 (53,4)	25 (56,8)	5 (50,0)	0,901
Tremores, <i>n</i> (%)	11 (21,2)	17 (29,8)	2 (11,8)	0,238	17 (23,3)	13 (29,5)	0 (0,0)	0,139
Pensamento suicida, <i>n</i> (%)	22 (42,3)	19 (33,3)	6 (35,2)	0,616	25 (34,2)	20 (45,5)	2 (20,0)	0,243
Dimensões de temperamento								
Procura por novidades, média (\pm DP)	15,1 (4,9)	15,9 (5,2)	14,5 (5,0)	0,507	15,7 (5,3)	15,3 (4,9)	14,0 (3,7)	0,571
Evitação de danos, média (\pm DP)	16,4 (5,2)	17,3 (5,6)	17,7 (4,2)	0,572	16,8 (5,3)	17,8 (5,2)	15,1 (4,5)	0,308
Dependência de recompensa, média (\pm DP)	16,3 (3,3)	17,2 (3,5)	18,2 (2,5)	0,098	16,9 (3,4)	17,0 (3,1)	16,8 (3,7)	0,974

6 DISCUSSÃO

O polimorfismo rs1799990 do gene da *Prion protein (PRNP)* é um conhecido fator de risco para formas familiares e esporádicas de doenças priônicas (Prusener, 1998; Tranchant et al, 1999), dentre elas, podemos destacar, a doença de Creutzfeldt-Jacob (Palmer et al, 1991) e a insônia familiar fatal (Zerr et al, 1998). Ainda, esse polimorfismo tem sido associado com a doença de Alzheimer (Dermaut, 2003), com a esclerose múltipla (Chubukova et al, 2009), com a redução da substância branca em cérebros de pacientes com esquizofrenia (Rujescu et al, 2002) e com funções cognitivas de pacientes saudáveis (Rujescu et al, 2003). O envolvimento da proteína PrPc em funções cognitivas também foi observado em experimentos com camundongos que não expressavam essa proteína, os quais apresentaram graves deficiências cognitivas. Com a reconstituição da PrPc nos neurônios, os déficits eram normalizados (Criado et al, 2005). Além disso, manipulações genéticas no gene *PRNP* parecem modular os efeitos do álcool em camundongos (Petit-Paitel et al, 2012, Rial et al, 2013).

Com base nas evidências do envolvimento da PrPc em funções cognitivas, e também de uma possível influência do gene *PRNP* na dependência de substâncias, observada em modelos animais, investigamos um possível papel do polimorfismo rs1799990 no TDAH e nas dependências de álcool e nicotina. Nossos resultados não evidenciaram nenhum efeito direto dessa variante na susceptibilidade ao TDAH em adultos ou aos TUS, álcool e nicotina. Na amostra de crianças, detectamos uma associação do alelo A com o TDAH. Embora o tamanho amostral do nosso grupo controle para a infância ($n=77$) seja bastante pequeno e, portanto, a interpretação desse resultado requer cautela e mais investigações, em amostras maiores, alguns autores têm demonstrado que esse alelo está associado com um pior desempenho cognitivo, tanto em pacientes saudáveis (Rujescu et al, 2003) quanto em pacientes com transtornos psicóticos (Martorell et al, 2007). Em nossa amostra, no entanto, não detectamos nenhuma associação do polimorfismo com os escores de QI estimado, tanto em crianças quanto adultos com TDAH. Cabe ainda ressaltar que, na literatura, o efeito desse polimorfismo em variáveis cognitivas ainda é bastante controverso, assim como o efeito de cada alelo em específico. No estudo publicado por Papassotiropoulos et al (2005), os

indivíduos portadores do alelo A apresentaram uma melhor memória de longa duração.

Nesse sentido, podemos hipotetizar que a variante rs1799990 no gene *PRPN* esteja ligada a situações de prejuízos cognitivos mais graves e processos neurodegenerativos. O TDAH, nesse quadro, poderia ser considerado um transtorno mais brando do que os outros já relacionados com a PrPc, e, por consequência disso, o polimorfismo não tenha tido efeito nas variáveis cognitivas avaliadas em nossas amostras. Em concordância com os nossos achados, no artigo publicado por Choi et al. (2010), os autores testam a associação entre o rs1799990 e os fenótipos de esclerose múltipla, prejuízo cognitivo leve, alcoolismo e esquizofrenia, constatando que, na população Coreana estudada, essa variante não aumenta a suscetibilidade a nenhuma das condições avaliadas. Outros estudos também não encontram associações desse polimorfismo com a esquizofrenia (Rejescu et al, 2002; Tsai et al, 2001). No TDAH, nenhum estudo prévio investigou essa variante.

Como mencionado anteriormente, alterações do gene *PRNP* podem estar ligadas aos TUS e, com base nisso, também avaliamos um possível efeito diferencial em crianças com maior risco de desenvolver TUS, que são as crianças que, além de apresentar TDAH, apresentam simultaneamente o TC. No entanto, ao compararmos o grupo de crianças com TDAH e TC com crianças que apresentam apenas TDAH, não detectamos diferenças genéticas significativas entre os grupos.

Outra hipótese testada foi a da desinibição comportamental, que tenta explicar uma maior propensão de desenvolver TUS em indivíduos com TDAH. De acordo com essa hipótese, o TDAH e os TUS, juntamente com os transtornos disruptivos do comportamento, como o TC e o TOD, fariam parte de um espectro de comportamentos e patologias que compartilham uma via de susceptibilidade, que reflete numa tendência à desinibição comportamental. Desta forma, esses indivíduos apresentariam um padrão de comportamento e de temperamento que os levaria a buscar uma gratificação imediata, não se preocupando com as ações serem socialmente inadequadas ou apresentarem consequências negativas a médio e longo prazo, o que os levaria também a maiores chances de uso de substâncias. Para avaliar esse aspecto, investigamos o papel do polimorfismo no gene *PRNP* nas dimensões de temperamento e também nos transtornos disruptivos de comportamento. Nossos resultados não demonstram nenhum efeito do polimorfismo nas variáveis de temperamento, nas amostras de pacientes adultos com

TDAH e de homens dependentes de álcool. No entanto, detectamos uma associação do genótipo AG do polimorfismo com a presença de TOD e com escores de gravidade dos sintomas de TOD mais elevados, em comparação com o genótipo GG, em adultos com TDAH. Esses achados, juntamente com a associação do alelo A com o TDAH na infância, apontam para um possível efeito dessa variante no TDAH. No entanto, esses achados ainda precisam ser melhores explorados e caracterizados.

O gene *NCAM1*, por sua vez, já foi associado com déficits neurocognitivos através de prejuízos na plasticidade ou conectividade neuronal (Sullivan et al, 2007). Também já foi relacionado com a esquizofrenia e o transtorno do humor bipolar (Arai et al. 2004; Lewis et al, 2003; Sullivan et al, 2007; Atz et al, 2007). O estudo de Schmitt-Ulms et al. (2001) mostrou que existe uma interação entre o gene *PRNP* e o gene *NCAM1*, mas não conseguiu identificar sobre quais funções celulares essa interação age. Já o estudo publicado por Santuccioni et al (2005) mostra que essa interação entre os dois genes existe e está envolvida com o desenvolvimento do SNC. Em nosso estudo, testamos a interação entre o polimorfismo rs1799990, no gene *PRNP*, e o polimorfismo rs965560, no gene *NCAM1* e os resultados indicaram que a interação testada não apresenta um papel significativo na susceptibilidade ao TDAH ou às dependências de álcool e nicotina. Da mesma forma, o polimorfismo investigado no gene *NCAM1* não apresentou efeitos principais em nenhuma das variáveis investigadas, tanto na amostra de adultos com TDAH, quanto nas amostras de dependentes de álcool e nicotina.

7 CONCLUSÃO

Em conjunto, nossos resultados indicam que o polimorfismo rs1799990, no gene *PRNP*, pode estar associado com o TDAH na infância e com a presença de TOD em adultos com TDAH. Para as dependências de álcool e nicotina, nenhum efeito significativo dessa variante foi detectado. Não foram detectadas interações significativas entre os polimorfismos sobre a susceptibilidade ao TDAH, e as dependências de álcool e nicotina. Esses resultados, no entanto, são preliminares e não foram testados para múltiplos testes. Novas análises mais aprofundadas são necessárias para avaliar o real impacto dessa variante no TDAH.

REFERÊNCIAS

ACOSTA MT, VÉLEZ JI, BUSTAMANTE ML, BALOG JZ, ARCOS-BURGOS M, MUENKE M. A two-locus genetic interaction between LPHN3 and 11q predicts ADHD severity and long-term outcome. **Transl Psychiatry**. v.1, e17, 2011.

ALBAYRAK O, FRIEDEL S, SCHIMMELMANN BG, HINNEY A, HEBEBRAND J. Genetic aspects in attention deficit/hyperactivity disorder. **J Neural transm**. v.115, n.2, p.305–315, 2008.

ALWIS, D, LYNSKEY MT, REIERSEN AM. AGRAWAL A. Attention-deficit/hyperactivity disorder subtypes and substance use and use disorders in NESARC. **Addictive Behaviors**. v.39, p.1278-1285, 2014.

APA. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Washington, DC: **American Psychiatric Association**; 2014.

APA. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth edition. **American Psychiatric Association**. Washington, DC, 2004

ARAI M, ITOKAWA M, YAMADA K, TOYOTA T, HAGA S, UJIKE H, et al. Association of neural cell adhesion molecule 1 gene polymorphisms with bipolar affective disorder in Japanese individuals. **Biol Psychiatry**. v.55, n.8, p.804–810, 2004.

ARCOS-BURGOS M, JAIN M, ACOSTA MT, SHIVELY S, STANESCU H, WALLIS D et al. A common variant of the latrophilin 3 gene, LPHN3, confers susceptibility to ADHD and predicts effectiveness of stimulant medication. **Mol Psychiatry**. v.15, p.1053–1066, 2010.

ARNSTEN AF. Fundamentals of attention-deficit/hyperactivity disorder: Circuits and pathways. **J Clin Psychiatry**. v.67, p.7-12, 2006.

ATKINSON, M., HOLLIS, C. NICE guideline: attention déficit hyperactivity disorder. **Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed**. v.95, p.24–27, 2010.

ATZ ME, ROLLINS B, VAWTER MP. NCAM1 association study of bipolar disorder and schizophrenia: polymorphisms and alternatively spliced isoforms lead to similarities and differences. **Psychiatr Genet**. v.17,n.2, p.55–67, 2007.

BARBARESI WJ, KATUSIC SK, COLLIGAN RC, WEAVER AL, JACOBSEN SJ. Long-term school outcomes for children with attentiondeficit/hyperactivity disorder: a population-based perspective. **J Dev Behav Pediatr**. v.28, n.4, p.265–273, 2007.

BARKLEY RA, MURPHY KR, DUPAUL GI, BUSH T. Driving in young adults with attention

deficit hyperactivity disorder: knowledge, performance, adverse outcomes, and the role of executive functioning. **J Int Neuropsychol Soc.** v.8, p.655-672, 2002.

BARRY E, HAWI Z, KIRLET A. Avenues for pharmacogenetic research in ADHD. In: Fitzgerald M, Bellgrove M, Gill M (eds). A handbook of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. **John Wiley & Sons, Ltd.** p.357–358, 2007.

BIEDERMAN J, MONUTEAUX MC, MICK E, WILENS TE, FONTANELLA JA, POETZL KM, KIRK T, MASSE J, FARAONE SV. Is cigarette smoking a gateway drug to subsequent alcohol and illicit drug use disorders? A controlled study of youths with and without ADHD. **Biol Psychiatry.** v.59, p.258-264, 2006.

BIEDERMAN J, MICK E, FARAONE SV. Age-dependent decline of symptoms of attention deficit hyperactivity disorder: impact of remission definition and symptom type. **Am J Psychiatry** v.157, p.816-818, 2000.

BIEDERMAN J, MILBERGER S, FARAONE SV, KIELY K, GUTE J, MICK E, ABLON S, WARBURTON R, REED E. Family-environment risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. A test of Rutter's indicators of adversity. **Arch Gen Psychiatry.** v.52, p.464-467, 1995.

BIEDERMAN J, MONUTEAUX M, MICK E, SPENCER T, WILENS T, SILVA J, et al. Young adult outcome of attention deficit hyperactivity disorder: a controlled 10 year prospective follow-up study. **Psychological Medicine.** v.36, p.167-179, 2006.

BIEDERMAN J, MONUTEAUX MC, SPENCER T, WILENS TE, FARAONE SV. Do stimulants have a protective effect on the development of psychiatric disorders in youth with ADHD? A ten-year follow-up study. **Pediatrics.** v.124, n.1, p.71-78, 2009.

BIEDERMAN J, WILENS T, MICK E, SPENCER T, FARAONE SV. Pharmacotherapy of attention deficit/hyperactivity disorder reduces risk for substance use disorder. **Pediatrics.** v.104, n.2, 1999.

BOOMSMA DI, SAVIOUK V, HOTTENGA JJ, DISTEL MA, DE MOOR MH, VINK JM, GEELS LM, VAN BEEK JH, BARTELS M, DE GEUS EJ et. al. Genetic epidemiology of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD index) in adults. **PLoS One** v.5, 2010.

BRIKELL I, KUJA-HALKOLA R, LARSSON H. Heritability of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in Adults. **American Journal Of Medical Genetics Part B.** v.9999, pag.1–8, 2015.

BROPHY K, HAWI Z, KIRLEY A, FITZGERALD M, GILL M. Synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): evidence of linkage and association in the Irish population. **Mol Psychiatry.** v.7, p.913–917, 2002.

BRUXEL EM, SALATINO-OLIVEIRA A, AKUTAGAVA-MARTINS GC, TOVO-RODRIGUES L, GENRO JP, ZENI CP, ET. AL. LPHN3 and attention-deficit/hyperactivity disorder: a susceptibility and pharmacogenetic study. **Genes, Brain and Behavior.** v.14, p.419–

427, 2015.

BUSSING R, MASON DM, BELL L, PORTER P, GARVAN C. Adolescent outcomes of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder in a diverse community sample. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.** v.49, n.6, p.595–605, 2010.

CANTWELL DP. Genetics of hyperactivity. **J Child Psychol Psychiatry.** v.16, p.261-264, 1975.

CAVACUITI C. American Society of Addiction Medicine. Principles of Addiction Medicine: The Essentials. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott **Williams & Wilkins;** 2011.

CERQUEIRA CC, POLINA ER, CONTINI V, MARQUES FZ, GREVET EH, SALGADO CA, DA SILVA PO, PICON FA, BELMONTE-DE-ABREU P E BAU CH. ADRA2A polymorphisms and ADHD in adults: possible mediating effect of personality. **Psychiatry Res.** v.186, p.345-350, 2010.

CHOI IG, WOO SI, KIM HJ, KIM DJ, PARK BL, CHEONG HS, PASAJE CF, PARK TJ, BAE JS, CHAI YG, SHIN HD. Lack of association between PRNP M129V polymorphism and multiple sclerosis, mild cognitive impairment, alcoholism and schizophrenia in a Korean population. **Dis Markers.** v.28, n.5, p.315-321, 2010.

CHUBUKOVA OV, MUSTAFINA OE, CHEMERIS AV, TUKTAROVA IA, BAKHTIAROVA KZ, MAGZHANOV RV, NIKONOROV M. Polymorphism of the prion protein PRNP gene and risk of multiple sclerosis development in ethnic Russians from Bashkortostan. **Genetika.** v.45, p.691–699, 2009.

COGHILL D, BANASCHEWSKI T. The genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Expert Rev Neurother.** v.9, p.1547-1565, 2009.

COITINHO AS, LOPES MH, HAJJ GN, ROSSATO JI, FREITAS AR, CASTRO CC, CAMMAROTA M, BRENTANI RR, IZQUIERDO I, MARTINS VR. Short-term memory formation and long-term memory consolidation are enhanced by cellular prion association to stress-inducible protein 1. **Neurobiol Dis.** v.26, n.1, p.282-90, 2007.

CONTINI V, MARQUES FZ, GARCIA CE, HUTZ MH E BAU CH. MAOA-uVNTR polymorphism in a Brazilian sample: further support for the association with impulsive behaviors and alcohol dependence. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.** v.141B, p.305-308, 2006.

COOK EH, STEIN MA, KRASOWSKI MD, COX NJ, OLKON DM, KIEFFER JE et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. **Am J Hum Genet.** v.56, p.993-998, 1995.

CORTESE S, IMPERATI D, ZHOU J, PROAL E, KLEIN RG, MANNUZZA S, RAMOS-OLAZAGASTI MA, MILHAM MP, KELLY C, CASTELLANOS X. White Matter Alterations at 33-Year Follow-Up in Adults with Childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. **Biol**

Psychiatry. v.74, p.591–598, 2013.

COX ET, BRENNAMAN LH, GABLE KL, HAMER RM, GLANTZ LA et al. Developmental regulation of neural cell adhesion molecule in human prefrontal cortex. **Neuroscience.** v.162, p.96–105, 2009.

CRIADO JR, SÁNCHEZ-ALAVEZ M, CONTI B, GIACCHINO JL, WILLS DN, HENRIKSEN SJ, et al. Mice devoid of prion protein have cognitive deficits that are rescued by reconstitution of PrP in neurons. **Neurobiology of Disease.** v.19, p.255-265, 2005.

CUNHA RA, FERRÉ S, VAUGEOIS JM, CHEN JF. Potential therapeutic interest of adenosine A2A receptors in psychiatric disorders. **Curr Pharm Des.** v.14, n.15, p.1512–1524, 2008.

CURATOLO P, D'AGATI E E MOAVERO R. The neurobiological basis of ADHD. **Ital J Pediatr.** v.36, p.79, 2010.

D'AGATI E, CASARELLI L, PITZANTI MB, PASINI A. Overflow movements and white matter abnormalities in ADHD. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.** v.34, p.441–445, 2010.

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.** v.4, p.192-196, 1999.

DA SILVA MA, CORDEIRO Q, LOUZA M, VALLADA H. Lack of association between a 30UTR VNTR polymorphism of dopamine transporter gene (SLC6A3) and ADHD in a Brazilian sample of adult patients. **J Atten Disord.** v.15, p.305–309, 2011.

DEAK KL, BOYLES AL, ETCHEVERS HC, MELVIN EC, SIEGEL DG, GRAHAM FL ET AL. SNPs in the neural cell adhesion molecule 1 gene (NCAM1) may be associated with human neural tube defects. **Hum Genet.** v.117, p.133–142, 2005.

DERMAUT B, CROES EA, RADEMAKERS R, VAN DEN BROECK M, CRUTS M et. al. PRNP Val129 homozygosity increases risk for earlyonset Alzheimer's disease. **Ann Neurol** v.53, p.409-412, 2003.

DE SILVA MG, ELLIOTT K, DAHL H-H, FITZPATRICK E, WILCOX S, DELATYCKI M et al. Disruption of a novel member of a sodium/hydrogen exchanger family and DOCK3 is associated with an attention deficit hyperactivity disorder-like phenotype. **J Med Genet.** v.40, p.733-740, 2003.

FARAONE SV E MICK E. Molecular genetics of attention deficit hyperactivity disorder. **Psychiatr Clin North Am.** v.33, p.159-180, 2010.

FARAONE SV, BIEDERMAN J, MICK E. The age-dependent decline of attention deficit hyperactivity disorder: a metaanalysis of follow-up studies. **Psychol. Med.** v.36, n.2, p.159-165, 2006.

FARAONE SV, BIEDERMAN J. Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**. v.44, p.951-958, 1998.

FARAONE SV, DOYLE AE. The nature and heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am** v.10, p.299-316, 2001.

FARAONE SV, PERLIS RH, DOYLE AE, SMOLLER JW, GORALNICK JJ, HOLMGREN MA E SKLAR P. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**. v.57, p.1313-1323, 2005.

FLETCHER A, BONELL C, SORHAINDO A, STRANGE V. How might schools influence young people's drug use? Development of theory from qualitative case-study research. **J Adolesc Health**. v.45, n.2, p.126–132, 2009.

FLIRSKI M, SIERUTA M, GOLAŃSKA E, KŁOSZEWSKA I, LIBERSKI PP, SOBÓW T. PRND 3'UTR polymorphism may be associated with behavioral disturbances in Alzheimer disease. **Prion**. v.6, n.1, p.73-80, 2012.

FRANKE B, FARAONE SV, ASHERSON P et al. The genetics of attention deficit/hyperactivity disorder in adults, a review. **Mol. Psychiatry**. v.17, n.10, p.960–987, 2012.

FRANKE B, NEALE BM, FARAONE SV. Genome-wide association studies in ADHD. **Hum Genet**. v.126, p.13–50, 2009.

GELERENTER J, YU Y, WEISS R, BRADY K, PANHUYSEN C, YANG BZ et al. Haplotype spanning TTC12 and ANKK1, flanked by the DRD2 and NCAM1 loci, is strongly associated to nicotine dependence in two distinct American populations. **Hum Mol Genet**. v.15, p.3498–3507, 2006.

GIEDD JN, RAPOPORT JL. Structural MRI of pediatric brain development: what have we learned and where are we going? **Neuron**. v.67, p.728-734, 2010.

GIZER IR, FICKS C E WALDMAN ID. Candidate gene studies of ADHD: a metaanalytic review. **Hum Genet**. v.126, p.51-90, 2009.

GONZALEZ S, RANGEL-BARAJAS C, PEPER M, LORENZO R, MORENO E, CIRUELA F ET. AL. Dopamine D4 receptor, but not the ADHD-associated D4. 7 variant, forms functional heteromers with the dopamine D2S receptor in the brain. **Mol Psychiatry**. v.17, p.650–662, 2012.

GUDJONSSON GH, SIGURDSSON JF, SIGFUSDOTTIR ID, YOUNG S. An epidemiological study of ADHD symptoms among young persons and the relationship with cigarette smoking, alcohol consumption and illicit drug use. **J Child Psychol Psychiatry**. v.53, n.3, p.304–312, 2012.

HAWI Z, CUMMINS TDR, TONG J, JOHNSON B, LAU R, SAMARRAI W, BELLGROVE

MA. The molecular genetic architecture of attention deficit hyperactivity disorder. **Molecular Psychiatry**. p.1-9, 2015.

HAWI Z, DRING M, KIRLEY A, FOLEY D, KENT L, CRADDOCK N et al. Serotonergic system and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a potential susceptibility locus at the 5-HT(1B) receptor gene in 273 nuclear families from a multicentre sample. **Mol Psychiatry**. v.7, p.718-725, 2002.

IACONO WG, MALONE SM E MCGUE M. Behavioral disinhibition and the development of early-onset addiction: common and specific influences. **Annu Rev Clin Psychol**. v.4, p.325-348, 2008.

JAIN M, VE´LEZ JI, ACOSTA MT, PALACIO LG, BALOG J, ROESSLER E, ET. AL. A cooperative interaction between LPHN3 and 11q doubles the risk for ADHD. **Molecular Psychiatry**. v.17, p.741–747, 2012.

JOHANSSON S, HALLELAND H, HALMOY A, JACOBSEN KK, LANDAAS ET, DRAMSDAHL M et. al. Genetic analyses of dopamine related genes in adult ADHD patients suggest an association with the DRD5- microsatellite repeat, but not with DRD4 or SLC6A3 VNTRs. **Am J Med Genet B**. v.147, p.1470-1475, 2008.

KISS JZ, MULLER D. Contribution of the neural cell adhesion molecule and synaptic plasticity. **Rev Neurosci**. v.12, p.297-310, 2001.

KLEIN RG, MANNUZZA S, OLAZAGASTI MA, ROIZEN E, HUTCHISON JA, LASHUA EC, CASTELLANOS FX. Clinical and functional outcome of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder 33 years later. *Arch Gen Psychiatry*. v.69, n.2, p.1295–1303, 2012.

KORTMANN GL, CONTINI V, BERTUZZI GP, MOTA NR, ROVARIS DR, PAIXÃO-CÔRTEZ VR, DE LIMA LL, BAU CHD. The role of a mineralocorticoid receptor gene functional polymorphism in the symptom dimensions of persistent ADHD. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**. v.263, n.3, p.181-8, 2013.

KONRAD K, EICKHOFF SB. Is the ADHD brain wired differently? A review on structural and functional connectivity in attention deficit hyperactivity disorder. **Hum Brain Mapp**. v.31, p.904-916, 2010.

LAHOSTE GJ, SWANSON JM, WIGAL SB, GLABE C, WIGAL T, KING N et al. Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder. **Mol Psychiatry**. v.1, p.121-124, 1996

LARSON K, RUSS SA, KAHN RS, HALFON N. Patterns of comorbidity, functioning, and service use for US children with ADHD, 2007. **Pediatrics**. v.127, p.462–470. 2011.

LASKY-SU J, NEALE BM, FRANKE B, ANNEY RJL, ZHOU K, MALLER JB et al. Genome-wide association scan of quantitative traits for attention deficit hyperactivity disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. **Am J Med Genet**

B Neuropsychiatr Genet. v.147, p.1345–1354, 2008.

LEE SS, HUMPHREYS KL, FLORY K, LIU R, GLASS K. Prospective association of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and substance use and abuse/dependence: a meta-analytic review. **Clin Psychol Rev.** v.31, p.328-341, 2011.

LESCH KP, TIMMESFELD N, RENNER TJ, HALPERIN R, ROSER C, NGUYEN TT et al. Molecular genetics of adult ADHD: converging evidence from genome-wide association and extended pedigree linkage studies. **J Neural Transm.** v.115, p.1573-1585, 2008.

LEVY F. The dopamine theory of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Aust N Z J Psychiatry.** v.25, p.277-283, 1991.

LEWIS CM, LEVINSON DF, WISE LH, DELISI LE, STRAUB RE, HOVATTA I, et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. **Am J Hum Genet.** v.73, n.1, p.34–48, 2003.

MANESS PF, SCHACHNER M. Neural recognition molecules of the immunoglobulin superfamily: signaling transducers of axon guidance and neuronal migration. **Nat Neurosci.** v.10, p.19–26, 2007.

MANNUZZA S, KLEIN RG, MOULTON JL. Persistence of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder into adulthood: what have we learned from the prospective follow-up studies? **J Atten Disord** v.7, p.93-100, 2003.

MANOR I, TYANO S, MEL E, EISENBERG J, BACHNER-MELMAN R, KOTLER M et al. Family-based and association studies of monoamine oxidase A and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): preferential transmission of the long promoter-region repeat and its association with impaired performance on a continuous performance test (TOVA). **Mol Psychiatry.** v.7, p.626–632, 2002.

MARTINS VR, BRENTANI RR. The biology of the cellular prion protein. **Neurochem Int.** v.4, n.5, p.353-355, 2002.

MARTORELL L, VALERO J, MULET B, GUTIÉRREZ-ZOTES A, CORTÉS MJ, JARIOD M, PÉREZ M, LABAD A, VILELLA E. M129V variation in the prion protein gene and psychotic disorders: relationship to neuropsychological and psychopathological measures. **J Psychiatr Res.** v.41, n.10, p.885-892, 2007.

MAYHEW KP, FLAY BR AND MOTT JA. Stages in the development of adolescent smoking. **Drug Alcohol Depend.** v.59, p.61-81, 2000.

MERIKANGAS KR, HE JP, BURSTEIN M, SWANSON SA, AVENEVOLI S, CUI L, BENJET C, GEORGIADES K, SWENDSEN J. Lifetime prevalence of mental disorders in U.S. adolescents: results from the National Comorbidity Survey Replication–Adolescent Supplement (NCS-A). **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.** v.49, n.10, p.980-989, 2010.

MICK E, BIEDERMAN J, FARAONE SV, SAYER J, KLEINMAN SE. Case-control study of ADHD and maternal smoking, alcohol use, and drug use during the pregnancy. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.** v.41, p.378-385, 2002.

MICK E, TODOROV A, SMALLEY S, HU X, LOO S, TODD RD et al. Family-based genomewide association scan of attention-deficit/hyperactivity disorder. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry** 2010; v.49, p.898-905, 2010.

MILBERGER S, BIEDERMAN J, FARAONE SV, CHEN L, JONES J. Is maternal smoking during pregnancy a risk factor for attention deficit hyperactivity disorder in children? **Am J Psychiatry.** v.153, p.1138-1142, 1996.

MOLINA BS, HINSHAW SP, SWANSON JM, ARNOLD LE, VITIELLO B, JENSEN PS, et al. MTA at 8 years: prospective follow-up of children treated for combined-type ADHD in a multisite study. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry.** v.5, p.484-500, 2009.

MOTA NR, ROVARIS DL, BERTUZZI GP, CONTINI V, VITOLA ES, GREVET EH, ROMAN T, CALLEGARI-JACQUES SM, HUTZ MH, BAU CHD. DRD2/DRD4 heteromerization may influence genetic susceptibility to alcohol dependence. **Mol Psychiatry.** v.18, p.401-402, 2013

MOTA NR, ROVARIS DL, KAPPEL DB, PICON, VITOLA ES, SALGADO CAI, KARAM RG, ROHDE LA, GREVET EH, BAU CHD. NCAM1-TTC12-ANKK1-DRD2 Gene Cluster and the Clinical and Genetic Heterogeneity of Adults with ADHD. **Am J Med Genet Part B.** v.168B, p.433–444, 2015.

MULLER DJ, CHIESA A, MANDELLI L, DE LV, DE RD, JAIN U et al. Correlation of a set of gene variants, life events and personality features on adult ADHD severity. **J Psychiatr Res.** v.44, p.598–604, 2010.

NELSON EC, LYNKEY MT, HEATH AC, WRAY N, AGRAWAL A, SHAND FL, HENDERS AK, WALLACE L, TODOROV AA, SCHRAGE AJ, SACCONI NL, MADDEN PA, DEGENHARDT L, MARTIN NG, MONTGOMERY GW. ANKK1, TTC12, and NCAM1 polymorphisms and heroin dependence: importance of considering drug exposure. **JAMA Psychiatry.** v.70, n.3, p.325-33, 2013.

NIGG JT, HINSHAW SP, CARTE ET, TREUTING JJ. Neuropsychological correlates of childhood attentiondeficit/hyperactivity disorder: explainable by comorbid disruptive behavior or reading problems? **J Abnorm Psychol.** v.107, n.3, p.468-480, 1998.

NIGG JT. Neuropsychologic theory and findings in attention-deficit/hyperactivity disorder: the state of the field and salient challenges for the coming decade. **Biol Psychiatry.** v.57, n.11, p.1424–1435, 2005.

OGDIE MN, MACPHIE L, MINASSIAN SL, YANG M, FISHER SE, FRANCK S, CANTOR RM, MCCracken JT, MCGOUGH JJ, NELSON SF, MONACO AP, SMALLEY SL. A Genomewide Scan for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in an Extended Sample:

Suggestive Linkage on 17p11. **Am J Hum Genet.** v.72, n.5, p.1268–1279, 2003.

PALMER MS, DRYDEN AJ, HUGHES JT, COLLINGE J. Homozygous prion protein genotype predisposes to sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. **Nature.** v.352, p.340–342, 1991.

PAPASSOTIROPOULOS A, WOLLMER MA, AGUZZI A, HOCK C, NITSCH RM, DE QUERVAIN DJ. The prion gene is associated with human long-term memory. **Hum Mol Genet.** v.14, n.15, p.2241-2246, 2005.

PASINI A, D'AGATI E. Pathophysiology of NSS in ADHD. **World J Biol Psychiatry.** v.10, p.495-502, 2009.

PAUS T. Mapping brain maturation and cognitive development during adolescence. **Trends Cogn Sci.** v.9, n.2, p.60–68, 2005.

PETCHANIKOW C, SABORIO GP, ANDERES L, FROSSARD MJ, OLMEDO MI, SOTO C. Biochemical and structural studies of the prion protein polymorphism. **FEBS Lett.** v.509, n.3, p.451-456, 2001.

PETIT-PAITEL A, MÉNARD B, GUYON A, BÉRINGUE V, NAHON JL, ZSÜRGER N, CHABRY J. Prion protein is a key determinant of alcohol sensitivity through the modulation of N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) activity. **PLoS One.** v.7, n.4, 2012.

PINGAULT JB, COTE SM, GALERA C, GENOLINI C, FALISSARD B, VITARO F, TREMBLAY RE. Childhood trajectories of inattention, hyperactivity and oppositional behaviors and prediction of substance abuse/dependence: A 15-year longitudinal population-based study. **Molecular Psychiatry,** p.1-7, 2012.

POLANCZYK, G., DE LIMA, M.S., HORTA, B.L., BIEDERMAN, J., ROHDE, L.A. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. **The American Journal of Psychiatry.** v.164, p.942-948, 2007.

POLINA ER, CONTINI V, HUTZ MH E BAU CH. The serotonin 2A receptor gene in alcohol dependence and tobacco smoking. **Drug Alcohol Depend.** v.101, p.128-131, 2009.

PRUSENER SB. Molecular biology and pathogenesis of prion diseases. **Trends in Biochemical Science.** v.21, n.12, p.481-487, 1998.

PURPER-OUAKIL D, RAMOZ N, LEPAGNOL-BESTEL AM, GORWOOD P E SIMONNEAU M. Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. **Pediatr Res.** v.69, p.69-76, 2011.

REIF A, JACOB CP, RUJESCU D, HERTERICH S, LANG S, GUTKNECHT L et al. Influence of functional variant of neuronal nitric oxide synthase on impulsive behaviors in humans. **Arch Gen Psychiatry.** v.66, p.41–50, 2009.

RIAL D, PIERMARTIRI TC, DUARTE FS, TASCA CI, WALZ R, PREDIGER RD.

Overexpression of cellular prion protein (PrP(C)) prevents cognitive dysfunction and apoptotic neuronal cell death induced by amyloid- β ($A\beta_{1-40}$) administration in mice. **Neuroscience**. v.215, p.79-89, 2012.

RIBASÉS M, RAMOS-QUIROGA JA, SÁNCHEZ-MORA C, BOSCH R, RICHARTE V, PALOMAR G et al. Contribution of LPHN3 to the genetic susceptibility to ADHD in adulthood: a replication study. **Genes Brain Behav**. v.10, p.149-157, 2011.

RIVERA-OLIVER M, DÍAZ-RÍOS M. Using caffeine and other adenosine receptor antagonists and agonists as therapeutic tools against neurodegenerative diseases: A review. **Life Sci**. v.101, v.0, p.1-9, 2014.

ROHDE LA, BIEDERMAN J, BUSNELLO EA, ZIMMERMANN H, SCHMITZ M, MARTINS S et al. ADHD in a school sample of Brazilian adolescents: a study of prevalence, comorbid conditions, and impairments. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**. v.38, p.716–722, 1999.

ROHDE LA, HALPERN R. Transtorno de déficit de atenção/hiperatividade: atualização. **J Pediatr**. v.80, p.61-70, 2004.

ROMAN T, SCHMITZ M, POLANCZYK G, EIZIRIK M, ROHDE LA, HUTZ MH. Attention-deficit hyperactivity disorder: a study of association with both the dopamine transporter gene and the dopamine D4 receptor gene. **Am J Med Genet**. v.105, n.5, p.471-8, 2001.

ROVARIS DL, MOTA NR, DE AZEREDO LA, CUPERTINO RB, BERTUZZI GP, POLINA ER, CONTINI V, KORTMANN GL, VITOLA ES, GREVET EH, et al. MR and GR functional SNPs may modulate tobacco smoking susceptibility. **J Neural Transm**. Epub ahead of print. 2013a.

ROVARIS DL, MOTA NR, CALLEGARI-JACKES, SM AND BAU, CHD. Approaching 'phantom heritability' in psychiatry by hypothesis-driven gene-gene. *Frontiers in Human Neuroscience*. Epub ahead of print, 2013b.

RUBIA K, CUBILLO A, SMITH AB, WOOLLEY J, HEYMAN I, BRAMMER MJ. Disorderspecific dysfunction in right inferior prefrontal cortex during two inhibition tasks in boys with attention-deficit hyperactivity disorder compared to boys with obsessivecompulsive disorder. **Hum Brain Mapp**. v.31, p.287–299, 2010.

RUJESCU D, HARTMANN AM, GONNERMANN C, MOLLER HJ, GIEGLING I. M129V variation in the prion protein may influence cognitive performance. **Molecular Psychiatry**. v.8, p.937–941, 2003.

RUJESCU D, MEISENZAHN EM, GIEGLING I, KIRNER A, LEINSINGER G, HEGERL U, et al. Methionine homozygosity at codon 129 in the prion protein is associated with white matter reduction and enlargement of CSF compartments in healthy volunteers and schizophrenic patients. **Neuroimage**. v.15, p.200-206, 2002.

SALÈS N, RODOLFO K, HÄSSIG R, FAUCHEUX B, DI GIAMBERARDINO L, MOYA KL.

Cellular prion protein localization in rodent and primate brain. **Eur J Neurosci**. Jun. p.2464-2471, 1998.

SANTOS TG, BERALDO FH, HAJJ GN, LOPES MH, ROFFE M, LUPINACCI FC, OSTAPCHENKO VG, PRADO VF, PRADO MA, MARTINS VR. Laminin- γ 1 chain and stress inducible protein 1 synergistically mediate PrPC-dependent axonal growth via Ca²⁺ mobilization in dorsal root ganglia neurons. **J Neurochem**. v.124, n.2, p.210-23, 2013.

SCHMITZ M, DENARDIN D, SILVA TL, PIANCA T, HUTZ MH, FARAONE S, ROHDE LA. Smoking During Pregnancy and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, Predominantly Inattentive Type: A Case-Control Study. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**. v.45, p.1338-1345, 2006.

SHAW P, ECKSTRAND K, SHARP W, BLUMENTHAL J, LERCH JP, GREENSTEIN D, CLASEN L, EVANS A, GIEDD J E RAPOPORT JL. Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. **Proc Natl Acad Sci USA**. v.104, p.19649-19654, 2007.

SHAW P, GILLIAM M, LIVERPOOL M, WEDDLE C, MALEK M, SHARP W, GREENSTEIN D, EVANS A, RAPOPORT J, GIEDD J. Cortical development in typically developing children with symptoms of hyperactivity and impulsivity: support for a dimensional view of attention deficit hyperactivity disorder. **Am J Psychiatry**. v.168, p.143-151, 2011.

SHAW P, MALEK M, WATSON B, GREENSTEIN D, ROSSI P, SHARP W. Trajectories of cerebral cortical development in childhood and adolescence and adult attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**. v.74, p.599-606, 2013.

SILVA KL, ROVARIS DL, GUIMAR~AES-DA-SILVA PO, VICTOR MM, SALGADO CAI ET. AL. Could comorbid bipolar disorder account for a significant share of executive function deficits in adults with attention-deficit hyperactivity disorder? **Bipolar Disord**. v.16, n.3, p.270-6, 2014.

SIMON, V., CZOBOR, P., BÁLINT, S., MÉSZÁROS, A., BITTER, I. Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. **The British Journal of Psychiatry**. v.194, p.204-211, 2009.

STERGIAKOULI E, THAPAR A. Fitting the pieces together: current research on the genetic basis of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). **Neuropsychiatr Dis Treat**. v.6, p.551-560, 2010.

STORK O, WELZL H, WOLFER D, SCHUSTER T, MANTEI N, STORK S et al. Recovery of emotional behaviour in neural cell adhesion molecule (NCAM) null mutant mice through transgenic expression of NCAM180. **Eur J Neurosci**. v.12, p.3291–3306, 2000.

SULLIVAN PF, KEEFE RSE, LANGE LA, LANGE EM, STROUP TS, LIEBERMAN J, MANESS PF. NCAM1 and Neurocognition in Schizophrenia. **Biol Psychiatry**. v.61, p. 902-910, 2007.

SWANSON JM, FLODMAN P, KENNEDY J, SPENCE MA, MOYZIS R, SCHUCK S, MURIAS M, MORIARITY J, BARR C, SMITH M et al. Dopamine genes and ADHD. **Neurosci Biobehav Rev.** v.24, p.21-25, 2000.

SWANSON JM, SERGEANT JA, TAYLOR E, SONUGA-BARKE EJ, JENSEN PS, CANTWELL DP. Attention-deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. **Lancet.** v.351, p.429-433, 1998.

SZOBOT CM, BUKSTEIN O. Attention deficit hyperactivity disorder and substance use disorders. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.** v.17, p.309-323, 2008.

TAHIRI-ALAOUI A, GILL AC, DISTERER P, JAMES W. Methionine 129 variant of human prion protein oligomerizes more rapidly than the valine 129 variant: implications for disease susceptibility to Creutzfeldt-Jakob disease. **J Biol Chem.** v.279, n.30, p.31390-31397, 2004.

THAPAR A, HOLMES J, POULTON K, HARRINGTON R. Genetic basis of attention deficit and hyperactivity. **Br J Psychiatry.** v.174, p.105–111, 1999.

TRANCHANT C, GERANTON L, GUIRAUD-CHAUMEIL C, MOHR M, WARTER JM. Basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. **Neurology.** v.52, p.1244–1249, 1999.

TSAI MT, SU YC, CHEN YH, CHEN CH. Lack of evidence to support the association of the human prion gene with schizophrenia. **Molecular Psychiatry.** v.6, p.74-78, 2001.

VAWTER MP. Dysregulation of the neural cell adhesion molecule and neuropsychiatric disorders. **Eur J Pharmacol.** v.405, p.385–395, 2000.

VOLKOW ND, WANG GJ, KOLLINS SH, et al. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. **JAMA.** v.302, n.10, p.1084–1091, 2009.

WEISS S, TZAVARA ET, DAVIS RJ, NOMIKOS GG, MICHAEL MCINTOSH J, GIROS B, MARTRES MP. Functional alterations of nicotinic neurotransmission in dopamine transporter knock-out mice. **Neuropharmacology.** v.52, p.1496-1508, 2007.

WELLMAN RJ, DIFRANZA JR, SAVAGEAU JA AND DUSSAULT GF. Short term patterns of early smoking acquisition. **Tob Control.** v.13, p.251-257, 2004.

WENDER PH, WOLF LE, WASSERTEIN J. Adults with ADHD. **Ann N Y Acad Sci.** v.931, p.1-16, 2001.

WESTERGARD L, CHRISTENSEN HM, HARRIS DA. The cellular prion protein (PrP(C)): its physiological function and role in disease. **Biochim Biophys Acta.** v.1772, p.629-644, 2007.

WILENS TE, ADAMSON J, SGAMBATI S, et al. Do individuals with ADHD self-medicate with cigarettes and substances of abuse? Results from a controlled family study of ADHD.

Am J Addict. v.16, p.14-21, 2007.

WOOD SJ, TOTH M. Molecular pathways of anxiety revealed by knockout mice. **Mol Neurobiol.** V.23, p.101–119, 2001.

WON H, MAH W, KIM E, KIM J-W, HAHM E-K, KIM M-H ET AL. GIT1 is associated with ADHD in humans and ADHD-like behaviors in mice. **Nat Med.** v.17, p.566-572, 2011.

YANG BZ, KRANZLER HR, ZHAO H, GRUEN JR, LUO X, GELERNTER J. Haplotypic variants in DRD2, ANKK1, TTC12, and NCAM1 are associated with comorbid alcohol and drug dependence. **Alcohol Clin Exp Res.** v.32, n.12, p.2117-2127, 2008.

YOUNG SE, FRIEDMAN NP, MIYAKE A, WILLCUTT EG, CORLEY RP, HABERSTICK BC, HEWITT JK. Behavioral disinhibition: liability for externalizing spectrum disorders and its genetic and environmental relation to response inhibition across adolescence. **J Abnorm Psychol.** v.118, p.117-130, 2009.

ZERR I, GIESE A, WINDL O, KROPP S, SCHULZ-SCHAEFFER W et. al. Phenotypic variability in fatal familial insomnia (D178N-129M) genotype. **Neurology** v.51, p.1398–1405, 1998.

ZHOU K, ASHERSON P, SHAM P, FRANKE B, ANNEY RJ, BUITELAAR J et al. Linkage to chromosome 1p36 for attention-deficit/hyperactivity disorder traits in school and home settings. **Biol Psychiatry.** v.64, p.571–576, 2008.

ZOMOSA-SIGNORET V, ARNAUD JD, FONTES P, ALVAREZ-MARTINEZ MT, LIAUTARD JP. Physiological role of the cellular prion protein. **Vet Res.** v.39, n.4, p.9, 2008.

ZULAUF CA, SPRICH SE, SAFREN AS, WILENS TE. The Complicated Relationship Between Attention Deficit/Hyperactivity Disorder and Substance Use Disorders. **Curr Psychiatry Rep.** v.16, p.436, 2014.