

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas

**FATORES AMBIENTAIS E GENÉTICOS ASSOCIADOS AO
TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE
TIPO DESATENTO: AVALIAÇÃO DE FUMO NA GESTAÇÃO E
GENES DOPAMINÉRGICOS E NORADRENÉRGICOS**

Marcelo Schmitz

Orientador: Prof. Dr. Luis Augusto Rohde

Co-orientadora: Profa. Dra. Mara Helena Hutz

TESE DE DOUTORADO

Porto Alegre, julho de 2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Para Tatiana.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luis Augusto Rohde, professor e amigo, pela orientação segura e permanente e pela confiança depositada em mim nestes 10 anos de convívio. Inquieto, tenaz, exigente e generoso, vem sendo modelo na minha formação profissional. É madeira de lei.

À Dra. Mara Helena Hutz, minha co-orientadora, que tive a felicidade de conhecer nos últimos anos e que amigavelmente aceitou ajudar-me, estando sempre disponível.

Ao Dr. Stephen Faraone que, mesmo à distância, esteve muito próximo, colaborando no desenvolvimento deste estudo.

À Tatiana Laufer da Silva que, com eficiência, cumpriu o papel de assistente de pesquisa e ajudou constantemente no gerenciamento deste projeto.

Aos assistentes de pesquisa Daniel Denardin e Thiago Gatti Pianca que acompanharam toda a jornada, sempre interessados, prontos e eficientes. Agradeço também aos assistentes Carolina Gallois, Christian Kieling e Lúcia Benetti que se incorporaram à equipe na reta de chegada e foram fundamentais na conclusão deste estudo.

Às psicólogas Heloísa Kaefer, Márcia Knijnik e Natália Soncini. Todas incansáveis e super disponíveis, mesmo nos finais de semana. Durante o campeonato, este time recebeu um reforço de peso. Meu muito obrigado também à psicóloga Joana Narvaez.

À Dra. Tatiana Roman e às biólogas Ana Paula Guimarães e Júlia Genro pela cuidadosa tarefa da análise genética.

A todos os membros do Programa de Déficit de Atenção/Hiperatividade (PRODAH) que de alguma maneira colaboraram com este projeto.

Ao laboratório Eli Lilly do Brasil Ltda pelo apoio financeiro, fundamental para o andamento deste projeto de pesquisa.

À CAPES, ao CNPq e à FAPERGS pelas bolsas de pesquisa fornecidas.

À Secretaria de Educação e Cultura e às diretoras e professoras das escolas estaduais que mostraram envolvimento com nosso trabalho e nossa equipe.

Aos pacientes e suas famílias que abriram as portas de suas casas e tiveram interesse e paciência, colaborando de forma decisiva na viabilização deste estudo.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	05
2 – REVISÃO DA LITERATURA	09
TDAH com Predomínio de Desatenção.....	09
TDAH e Fumo na Gestação.....	14
TDAH e Genes Candidatos.....	20
3 – OBJETIVOS.....	30
4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
5 – ARTIGO 1 EM INGLÊS.....	48
6 – ARTIGO 1 EM PORTUGUÊS.....	73
7 – ARTIGO 2 EM INGLÊS.....	98
8 – ARTIGO 2 EM PORTUGUÊS.....	122
9 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	146
10 – ANEXOS	148

INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) está entre os transtornos mentais mais comuns na psiquiatria de crianças e adolescentes. A prevalência deste transtorno tem apresentado grande variação nos estudos já realizados, a qual tem sido atribuída a diferenças metodológicas nos mesmos ^{1 2}. A maioria dos estudos de prevalência descreve taxas entre 3 e 10 % em crianças em idade escolar ^{3 4;5}.

Crianças com TDAH são caracterizadas pelo início precoce dos sintomas nucleares de desatenção, hiperatividade e impulsividade. A dimensão de desatenção inclui comportamentos como distração, dificuldade de concentração, de organização e finalização de tarefas. Inquietude e fala excessiva são sinais de hiperatividade. A impulsividade pode ser reconhecida principalmente em atividades em grupo: a criança interrompe as outras, tem dificuldade em esperar pela sua vez e troca de atividades facilmente. Em amostras clínicas, o transtorno é cerca de 3 vezes mais comum em meninos do que em meninas, as quais apresentam ainda menos hiperatividade e impulsividade ^{4;6-8}.

O TDAH tem um enorme impacto na sociedade em termos de custo financeiro, girando, nos Estados Unidos, em torno de US\$ 30 bilhões ao ano ⁹. Também é significativo este impacto em relação a estresse para as famílias, abandonos escolares, e seu potencial para levar à criminalidade e abuso de substâncias ¹⁰⁻¹⁴. O TDAH está associado a maior risco de baixo desempenho escolar, repetências, suspensões e expulsões, dificuldades de relacionamento com familiares e com pares, violações de trânsito e acidentes automobilísticos, assim como prejuízo na vida adulta nos relacionamentos sociais, maritais e profissionais ^{15;16}. Em mais de 50 % dos casos existe comorbidade com transtornos do aprendizado, transtorno do humor e de ansiedade, transtornos disruptivos do comportamento e transtornos de abuso de

substâncias e de álcool, tornando o prognóstico ainda pior ¹⁷⁻¹⁹. Além desses fatores, crianças que experimentam o fracasso precocemente, o que é comum no TDAH, são muito vulneráveis a uma ampla gama de complicações psicossociais. Essas, por sua vez, podem levar a problemas crônicos em diferentes esferas da vida, persistindo mesmo quando os sintomas nucleares remitem total ou parcialmente ao longo dos anos.

As causas do TDAH ainda não estão esclarecidas, mas tanto fatores ambientais como genéticos têm sido implicados. Há evidências sugerindo que aspectos ambientais pré-natais possam contribuir na etiologia do TDAH. Exposição direta à nicotina pela mãe durante a gravidez tem sido associada ao TDAH em estudos com amostras clínicas ^{20;21}. Um forte suporte para o componente genético na etiologia do TDAH tem surgido de estudos de famílias, de gêmeos e de adoção ²². O modo de transmissão não está claro ainda, mas é provável que seja pela influência de vários genes em conjunto, cada um contribuindo com um pequeno efeito. Vários estudos moleculares têm sido realizados na tentativa de esclarecimento destes aspectos. Estudos de associação tem se focado nos genes que regulam o sistema de neurotransmissão dopaminérgica, baseado nas teorias dopaminérgicas do TDAH ^{23;24}. Há também evidências de que o sistema de neurotransmissão noradrenérgica esteja implicado no TDAH ²⁵. Mais recentemente alguns estudos têm associado os genes noradrenérgicos com maiores escores de desatenção ^{26;27}.

Sendo o TDAH uma síndrome bastante heterogênea na sua apresentação fenotípica ²⁸, diversas estratégias têm sido propostas para reduzir essa heterogeneidade. Entre elas ressaltam-se estudos de análise fatorial ²⁹⁻³², análises de classes latentes ^{28;32-35} e análises baseadas na agregação de comorbidades aos sintomas nucleares do transtorno ³⁶. Baseada principalmente nos resultados de análises fatoriais em diversas culturas, o DSM-IV propõe a divisão do TDAH em três tipos: predominantemente desatento, predominantemente hiperativo/impulsivo e combinado ³. Já a classificação oficial de transtornos mentais no Brasil (CID-10) ³⁷

somente estabelece o diagnóstico de Perturbação da Atividade e Atenção (F90.0) dentro do grupo dos Transtornos Hiperativos (F90). Para este diagnóstico da CID-10 há a necessidade da ocorrência tanto de sintomas de hiperatividade como de desatenção, sendo portanto menos flexível quanto à proposta de redução da heterogeneidade clínica.

O estudo dos diferentes tipos de TDAH se reveste de fundamental importância clínica. Em primeiro lugar, o perfil de comorbidades é diferente de acordo com o tipo de TDAH. As crianças com TDAH com predomínio de hiperatividade são mais impulsivas, agressivas e apresentam altas taxas de sintomas de transtorno de conduta, por outro lado, as crianças com TDAH predominantemente desatento parecem apresentar taxas mais elevadas de ansiedade, depressão e disfunção social³⁸. Em segundo lugar, a proporção masculino/feminino também é diferente de acordo com o tipo de TDAH. Por exemplo, Biederman et al.³⁹ encontraram que o sexo feminino estava mais associado ao tipo predominantemente desatento. Finalmente, embora em amostras não referidas o TDAH com predomínio de desatenção represente uma proporção alta dos casos¹, claramente em amostras referidas há uma subestimação destes e uma super-representação de casos combinados⁴⁰. Como a maioria dos estudos atuais de fatores associados, de risco e mesmo estudos modernos de genética molecular têm como base amostras referidas, uma parcela significativa dos indivíduos com TDAH (aqueles com predomínio de desatenção) não vêm recebendo atenção específica das investigações na área. Vale ainda lembrar que a remissão dos sintomas nucleares do TDAH ao longo do ciclo vital apresenta padrões diferentes. A hiperatividade e a impulsividade apresentam taxas de remissão maiores. Já as características de desatenção, desorganização e disfunção executiva são mais persistentes ao longo dos anos, com o potencial de gerar danos geralmente até a vida adulta⁴¹.

Assim, este projeto vem colaborar para um melhor entendimento deste tipo de TDAH, especificamente de seus aspectos etiológicos, pela integração dos aspectos

ambientais e genéticos. Um maior conhecimento permitirá uma melhor caracterização de diferentes tipos da doença, determinando condições mais específicas, e, portanto, mais sujeitas a intervenções mais eficazes. Além disso, a vulnerabilidade ao TDAH poderá ser detectada precocemente, desenvolvendo-se, conseqüentemente, estratégias de prevenção.

A presente tese é composta de duas partes. A primeira compreende uma revisão da literatura científica sobre o TDAH com predomínio de desatenção e os aspectos genéticos e ambientais ligados à etiologia deste transtorno. A segunda parte é composta pelos objetivos deste estudo e os artigos resultantes deste projeto. Com isso, atendendo as exigências para qualificação de doutor deste pós-graduação.

REVISÃO DA LITERATURA

TDAH COM PREDOMÍNIO DE DESATENÇÃO

As tentativas para definir subtipos de TDAH iniciaram na década de 70 e então com o DSM III (American Psychiatric Association⁴² ficou oficialmente estabelecida uma definição de 2 subtipos clínicos: transtorno de déficit de atenção (TDA) com hiperatividade e o TDA sem hiperatividade. Com o surgimento do DSM III R⁴³, que via o TDAH como uma entidade diagnóstica única, houve uma redução no número de estudos com o objetivo de diferenciar subtipos. Contudo, continuaram aparecendo artigos que davam suporte ao conceito sustentado pelo sistema classificatório do DSM III que incluía os subtipos do transtorno^{44-47 48}. Com o advento do DSM IV³, o transtorno foi novamente considerado como sendo bidimensional, consistindo de grupos de sintomas de desatenção e hiperatividade/impulsividade, de onde os 3 subtipos podem ser derivados: tipo predominantemente desatento(D), tipo predominantemente hiperativo-impulsivo (HI) e tipo combinado (C).

Se os subtipos de TDAH do DSM IV têm significado clínico, espera-se que eles sejam distinguíveis também por critérios externos e não só pelos sintomas que os definem⁴⁹. Diversos estudos têm sido publicados apontando diferenças no funcionamento social, acadêmico e comportamental entre os subtipos de TDAH^{8;50-52}, sendo que a maioria destes tem envolvido basicamente amostras clínicas^{7;53-56}. Estes estudos encontraram de forma consistente que os subtipos exibem diferentes padrões de prejuízo de acordo com as dimensões de sintomas apresentadas⁵⁷ e muitos autores concordam que as maiores diferenças são encontradas entre o tipo desatento e os demais^{38;58;59}.

Ao pesquisar a prevalência dos tipos em amostras clínicas observa-se que 55% dos pacientes apresentam TDAH-C, enquanto 27% são com predomínio de

desatenção⁶⁰. No nosso meio, em uma amostra clínica de 285 pacientes com TDAH encontrou-se uma prevalência de 62,5% para o tipo combinado, 26,5% para o desatento e 11,2% para o hiperativo-impulsivo⁴⁰. Em amostras não clínicas a prevalência de TDAH-D é bem maior. Graetz et al.¹ encontraram uma prevalência 3,7 % de desatentos (equivalente a praticamente 50% dos casos com TDAH), sendo este mais comum que os demais subtipos, cada um com taxas de prevalência de 1,9 %. Estes resultados são consistentes com estudos prévios com amostras comunitárias^{8;29;50}. Em recente publicação, Woo & Rey⁶¹ afirmam que, como um todo, os estudos apontam que o tipo desatento é o mais comum, com aproximadamente metade dos casos.

Diferenças entre os subtipos também foram encontradas em alguns estudos em relação à idade e ao gênero, sendo os indivíduos do tipo desatento mais velhos e predominantemente do sexo feminino^{7;54}. Esta diferença de idade talvez se deva ao fato de que os sintomas do TDAH têm uma manifestação diferente ao longo dos estágios desenvolvimentais, visto que o declínio dos sintomas ocorre de maneira diferenciada, sendo a desatenção o sintoma com menor taxa de remissão⁴¹.

As crianças com TDAH-D parecem apresentar taxas mais elevadas de ansiedade, depressão e disfunção social, enquanto as dos outros subtipos são mais impulsivas, agressivas e apresentam altas taxas de sintomas de transtorno de conduta (TC)^{38;62-65}. Contudo, há estudos mostrando resultados diferentes. Power et al⁶⁶ descreveram níveis semelhantes de ansiedade nos subtipos desatento e combinado, quando a severidade dos transtornos externalizantes foi controlada. Alguns estudos que compararam os 3 subtipos mostraram maiores taxas de ansiedade e depressão nos subtipos desatento e combinado, indicando que se há diferença neste aspecto seria em relação ao subtipo com predomínio de hiperatividade^{7;50;67}.

A maioria dos estudos conclui que o TDAH na ausência de TC não aumenta o risco para o uso de drogas^{68;69}. Contudo, isto parece não ser verdade para o subtipo desatento. Flory et al⁷⁰ avaliaram 481 adultos jovens e encontraram que a presença

de sintomas de desatenção interagindo com sintomas de TC predizia desfechos de uso e dependência de drogas. Nessa mesma direção, Tapert et al ⁷¹ documentaram que adolescentes com dificuldades atencionais apresentavam risco significativamente maior de uso problemático de álcool e drogas oito anos após o diagnóstico do que aqueles adolescentes sem essas dificuldades. Os achados se mantiveram mesmo após controle para inúmeros fatores de confusão, como TC. Também em relação ao fumo de cigarros, há um estudo em amostra comunitária que encontrou maior associação com o subtipo com predomínio de desatenção ⁷².

Carlson et al ⁷³ publicaram o primeiro estudo a sugerir que estudantes portadores de TDA sem hiperatividade têm um risco maior para apresentar problemas acadêmicos, particularmente no desempenho de matemática, comparados com os hiperativos. Já com os critérios do DSM IV, Morgan et al ⁷⁴ relataram que o subtipo desatento apresentava maior taxa de transtornos do aprendizado em matemática. Num estudo com amostra comunitária, Todd et al ⁷⁵ encontraram pior desempenho acadêmico e maior uso de recursos de educação especial para crianças e adolescentes com TDAH-D e TDAH-C. Esses dados somados a outros estudos bem desenhados indicam que o tipo com predomínio de desatenção parecem apresentar, conjuntamente com o tipo combinado, uma taxa mais elevada de comprometimento acadêmico ^{60;62;63;65}.

Antes da publicação do DSM IV ³ três estudos controlados investigaram possíveis diferenças entre os subtipos de TDAH em relação a testes neuropsicológicos direcionados especificamente a comprometimento de lobo frontal apresentando resultados divergentes. Em um destes estudos foi concluído que havia falta de evidências que apontassem para a existência de perfis diferentes cognitivos entre os subtipos de TDAH ⁷³. Nos outros dois, os resultados mostraram diferenças significativas em apenas algumas variáveis investigadas, não permitindo inferências maiores sobre distintos desempenhos neuropsicológicos entre os subtipos ^{15;76;77}. Barkley, Du Paul e McMurray ¹⁵ haviam postulado que crianças com o subtipo

desatento (que denominaram sem hiperatividade) apresentavam mais problemas com a memória, destreza visomotora e velocidade de processamento cognitivo geral.

Com o advento do DSM IV surgiram outros estudos tentando verificar diferenças neuropsicológicas entre os subtipos do TDAH. Faraone et al ⁷ não encontraram diferenças nas medidas neuropsicológicas entre os subtipos. Klorman et al ⁷⁸ relataram um pior desempenho nas funções executivas no subtipo combinado. No nosso meio, Schmitz et al ⁷⁹ em estudo avaliando com testes neuropsicológicos os três subtipos do TDAH encontraram que o grupo de desatentos e o de combinados tiveram pior desempenho, sendo que os desatentos foram os mais prejudicados no teste que avalia mais especificamente o funcionamento do lobo frontal. Alguns autores relatam, ainda que os indivíduos com TDAH com predomínio de desatenção demonstram grande dificuldade nas tarefas que requerem controle mental, tais como mudança de objetivos e planejamento enquanto os do tipo combinado demonstram mais déficit na inibição do comportamento ^{59;60;80-82}.

Piek et al ⁸³, num estudo avaliando habilidade motora entre os subtipos de TDAH, encontraram que meninos com predomínio de desatenção tinham pior habilidade motora fina. Mais interessante foi o achado de que a severidade da sintomatologia de desatenção foi um preditor significativo de dificuldades de coordenação motora. Outros estudos também sugerem que meninos com sintomas de desatenção têm capacidades motoras mais pobres ^{84;85}.

As crianças desatentas podem apresentar um nível mais alto de isolamento social e retraimento ^{38;64}. Alguns autores sugerem que crianças com TDAH com predomínio de desatenção sofrem de inabilidade social, o que pode ser o cerne da imaturidade (com o isolamento há pouca oportunidade de aprender habilidades sociais de forma apropriada) ou da ansiedade e da relutância de participar em atividades de grupo ^{1;64}, num estudo com amostra comunitária, evidenciaram que as crianças desatentas foram pontuadas como tendo menos auto-estima, mais problemas sociais e maiores problemas com os professores do que os hiperativos. O impacto emocional

que os problemas das crianças causam nos pais também foi maior no grupo de desatentos.

Com relação ao TDAH na vida adulta, sabe-se que alguns sintomas relatados na infância podem desaparecer enquanto o impacto de outros sintomas torna-se ainda mais evidente, simplesmente porque mais associado a comprometimento funcional. Nesse contexto, os déficits atentos passam a se associar com comprometimento da memória e freqüente comprometimento funcional uma vez que as demandas da vida adulta são maiores e mais complexas. É importante lembrar que os pais deste adulto com TDAH, normalmente, não estão mais exercendo o papel que tinham na infância, quando funcionavam freqüentemente como fonte contínua de auxílio na organização e no planejamento, além de exercerem reforço no desempenho de atividades que demandavam atenção.

Por fim, é importante salientar que a maioria dos estudos com amostras tanto clínicas quanto não referidas incluem casos com até cinco sintomas de hiperatividade (abaixo do ponto de corte da DSM-IV) no grupo de TDAH com predomínio de desatenção. Esse ponto de corte embora possa ter sentido nosográfico, não tem maior sentido do ponto de vista neurobiológico. Assim, esse artefato classificatório pode contribuir para a dificuldade de diferenciação em relação a diversos desfechos entre os subtipos combinado e desatento em muitos estudos.

Em resumo, já se passaram mais de 10 anos da publicação do DSM IV e ainda não há um corpo de estudos que apóie com consistência a validade do TDAH com predomínio de desatenção. Parece que a nova classificação aumentou a prevalência do TDAH, talvez refletindo justamente o acréscimo deste subtipo²⁹. O TDAH-PD parece apresentar um padrão único de prejuízos associados, sendo este mais caracterizado por problemas acadêmicos e de mais longa duração. Assim, levando em consideração o exposto acima, fica claro que há a necessidade de uma maior investigação sobre este subtipo específico de TDAH.

TDAAH E FUMO NA GESTAÇÃO

A questão do fumo na gravidez tem provocado uma preocupação aumentada desde os anos 60 e tem contribuído para um crescente corpo de estudos averiguando os possíveis efeitos do fumo em geral e do fumo na gravidez em particular.

Nos EUA, 46 estados processaram a indústria do tabaco^{86;87} com cifras em torno de US\$ 360 bilhões. Estes estados alegaram que o fumo materno tem relação causal com complicações no nascimento e desfechos neurológicos adversos⁸⁸.

O fumo na gravidez tem diminuído significativamente nas últimas décadas, mas estima-se que entre 13 e 34% das gestantes ainda fumem diariamente^{89;90}. A maioria destas mulheres é jovem, solteira e de baixo nível sócio econômico⁸⁹. O fumo na gravidez afeta o feto principalmente por causa dos efeitos tóxicos indiretos. Um exemplo destes é a restrição do fluxo sangüíneo à placenta por causa dos efeitos vasoconstritores das catecolaminas liberadas das adrenais e das células nervosas após ativação pela nicotina⁹¹. A nicotina passa rápida e completamente pela barreira placentária, sendo que as concentrações no feto são geralmente 15% acima dos níveis maternos⁹².

Os efeitos adversos do fumo materno na gravidez foram descritos pela primeira vez por Simpson & Linda⁹³. Os efeitos danosos relatados desde então incluem não somente complicações perinatais como prematuridade e baixo peso ao nascer^{94;95}, mas também anormalidades clínicas mais específicas no neonato como hipertensão⁹⁶, fissuras na cavidade oral⁹⁷) e função pulmonar anormal⁹⁸. Também tem se visto que a nicotina afeta o desenvolvimento cerebral. Estudos com animais demonstraram diminuição do fluxo sangüíneo cerebral e diminuição do peso total do cérebro em fetos expostos à nicotina⁹². Estes achados podem estar relacionados a menor circunferência craniana em filhotes de “mães fumantes”⁹⁹. Recentemente, Roy et al¹⁰⁰ encontraram que exposição pré-natal à nicotina provocou alterações estruturais e comprometeu a maturação neuronal. Ainda, estas alterações iniciais influenciaram

profundamente o desenvolvimento de células que surgiram posteriormente ou durante a vida pós-natal.

Resultados de estudos com animais também indicam que a exposição pré-natal à nicotina pode resultar em características de hiperatividade na prole ¹⁰¹) e que estes efeitos são duradouros ¹⁰². Os mecanismos possíveis podem ser relacionados à modulação do sistema dopaminérgico e a um aumento do número de receptores nicotínicos ^{103;104}.

Embora a exposição pré-natal à nicotina tenha levado ao desenvolvimento de sintomas tipo TDAH em animais de laboratório ^{105;106}, permanece incerto se a exposição à nicotina no útero leva à hiperatividade em humanos, ou se fatores biológicos compartilhados contribuem para o desenvolvimento de hiperatividade e adição à nicotina. Por exemplo, adultos com TDAH iniciam a fumar mais cedo ¹⁰⁷ e demonstram taxas aumentadas de uso de nicotina e mais dificuldade em programas para parar de fumar ¹⁰⁸ comparados com controles sem TDAH. Também a nicotina e certas medicações usadas no tratamento do TDAH tem efeitos semelhantes nos centros mesolímbicos cerebrais ^{109;110}.

Outros fatores perinatais também influenciam o risco para sintomas de TDAH. A ocorrência de déficits de atenção é muito alta entre crianças com baixo peso significativo ao nascer ¹¹¹. Baixo peso ao nascer tem demonstrado ser um fator de risco geral para problemas comportamentais na infância ¹¹².

Exposição pré-natal à nicotina também pode causar outros problemas neurodesenvolvimentais e neurocomportamentais ¹¹³. Atraso de desenvolvimento intelectual ¹¹⁴ e comportamento impulsivo ¹¹⁵, têm sido relatados em bebês e crianças mais velhas que foram expostos à nicotina durante o período intrauterino. Contudo, Linnet et al ¹¹⁶ em revisão sobre esse assunto, relataram associações inconsistentes entre fumo pré-natal e capacidades desenvolvimentais e intelectuais a longo prazo.

A literatura sugere que o fumo durante a gravidez está associado com transtornos de conduta e comportamentais (externalizantes) mais do que com

transtornos emocionais (internalizantes), sendo que os efeitos danosos em meninos podem ser mais pronunciados do que em meninas ^{117;118}.

Considerando que o TDAH é freqüentemente comórbido com transtorno de conduta (TC) ^{119;120} e que o fumo na gravidez pode aumentar o risco de TC de 2 a 4 vezes ^{115;117;121;122}, esta comorbidade pode também confundir os estudos de fumo na gravidez e TDAH. Visto que TDAH, TC, transtornos de uso de substâncias e transtorno de personalidade anti-social são conhecidos por coexistirem em famílias ^{10;38;123-126}, a associação presumida entre fumo na gravidez e TDAH pode ser mediada por outro transtorno. Por exemplo, Weissman et al ¹¹⁵ ajustaram seus resultados para diagnósticos psiquiátricos parentais (outros que não TDAH), enquanto que Milberger et al ^{21;127} não ajustaram para TC ou transtorno de personalidade anti-social nos estudos prévios que documentaram um risco aumentado para TDAH na prole na presença de fumo durante a gravidez. Portanto, os achados negativos de Weissman et al ¹¹⁵ com relação ao TDAH podem ter resultado do controle estatístico para TC e não de uma falta de poder estatístico. Assim fica evidente a necessidade da avaliação de fatores de confusão no estudo da associação entre TDAH e fumo na gravidez.

Estudos retrospectivos investigaram se fumo na gravidez está relacionado à desatenção ou hiperatividade em crianças. Algumas dessas investigações encontram efeitos significativos ^{20;115;128;129}, enquanto outras não ^{121;130;131}. Além de problemas metodológicos como avaliação retrospectiva de fumo pré-natal, outras limitações incluem avaliação de fumo somente como uma variável dicotômica, não relato de resultados por gênero, estudo restrito a um tipo de sintoma (p.ex., desatenção ou hiperatividade) e uso de amostras não representativas.

Estudos de caso-controle apoiaram a hipótese de que exposição pré-natal à nicotina pode resultar em sintomas de TDAH. Milberger et al ^{21;127} encontraram um risco 2.7 vezes maior para TDAH associado com fumo materno em 140 casos e 120 controles e um risco 4.4 vezes aumentado para TDAH em seus 303 irmãos de alto risco. Os resultados do estudo de Mick et al ²⁰, baseado na re-análise dos dados de

Milberger et al.^{21;127} e acrescidos de dados de uma amostra de meninas, mostraram uma menor razão de chances de 2,1 para esse transtorno.

Alguns estudos de seguimento classificaram TDAH de acordo com os critérios do DSM e coletaram a informação sobre fumo materno retrospectivamente^{115;121;130;132}. Nenhuma associação entre fumo pré-natal e TDAH foi encontrada nestes quatro estudos.

Maughan et al.¹³³ encontraram que fumo na gestação estava associado ao transtorno de conduta, mas não aos sintomas de TDAH, num estudo prospectivo e de base populacional. Contudo somente três itens de TDAH foram avaliados.

Alguns estudos de seguimento mais recentes apresentaram resultados positivos. Batstra et al.¹³⁴ encontraram após ajuste para fatores de confusão como nível sócio-econômico e complicações pré e peri-natais, que as crianças de mães que fumaram na gravidez tiveram mais sinais de déficits de atenção e maiores níveis de comportamento inoportuno do que as crianças não expostas à nicotina intra-útero. Também crianças de mães fumantes tiveram uma performance pior em tarefas de aritmética e ortografia. Rodriguez e Bohlin¹³⁵ demonstraram que fumo e estresse na gravidez foram independentemente associados com sintomas posteriores de TDAH na prole. Kotimaa et al.¹³⁶ verificaram que, mesmo após ajuste por sexo, estrutura familiar, nível sócio-econômico, idade materna e uso de álcool pela mãe, o fumo na gestação estava associado com hiperatividade. Também uma relação dose-resposta positiva foi vista entre fumo na gravidez e hiperatividade.

Em um estudo de base populacional que avaliou mais de 1.400 pares de gêmeos, Thapar et al.¹³⁷ examinaram se fumo na gravidez estaria associado com sintomas de TDAH na prole e se este efeito seria adicional às influências genéticas. Esses investigadores demonstraram que fumo na gestação parece apresentar uma associação com sintomas de TDAH na prole que é adicional aos efeitos dos genes e não atribuível a efeitos de compartilhamento de avaliadores, vieses de referência clínica ou covariação com comportamento anti-social. Entretanto, Knopik et al.¹³⁸, em

um estudo recente avaliando 1936 pares de gêmeos, encontraram que o risco para TDAH não estava significativamente aumentado nos indivíduos cujas mães fumaram durante a gestação.

Os resultados dos estudos examinando diferenças entre fumo pré-natal e pós-natal variaram. No estudo de Weissman et al ¹¹⁵, fumo pós-parto não foi associado com TDAH na prole. A informação sobre exposição para este estudo foi coletada retrospectivamente para um pequeno grupo de sujeitos com idades variando amplamente entre 6 e 23 anos. Da mesma forma, o fumo materno pré-natal e pós-natal não tiveram nenhum impacto em déficits de atenção ou impulsividade numa amostra de indivíduos com mais de 10 anos de idade ¹¹³.

Dois outros estudos com amostras relativamente maiores de cerca de 2.000 crianças revelaram associações estatisticamente significativas entre fumo pós-natal e hiperatividade (Weitzman et al, 1992) e níveis de atividade (Eskenazi & Trupin, 1995). Houve uma freqüência muito baixa de fumantes exclusivamente pré-natal ou pós-natal no estudo de Weitzman et al ¹³¹, o que tornou difícil desvencilhar a contribuição independente feita por cada variável. Eskenazi & Trupin ¹³⁹ primariamente desenharam seus estudos para testar déficits cognitivos e incluíram somente três itens de nível de atividade pontuada pela mãe. É improvável que os itens selecionados tenham tido sensibilidade suficiente para capturar o conceito completo de TDAH.

Vários estudos demonstraram que o feto masculino é mais sensível às circunstâncias intrauterina e peri-natais que contribuem para transtornos do sistema nervoso central ^{122;140}. Embora trabalhos prévios sugiram que o gênero pode não modificar a relação entre fumo na gravidez e TDAH ¹²⁷, tem se demonstrado que modifica a relação entre TC e fumo na gravidez ^{115;117}. Os meninos são hiper-representados em amostras clínicas, o que pode ocorrer por uma apresentação clínica mais difícil nos meninos ³⁹ e porque menos prejuízo é visível nas meninas ¹⁴¹. É possível que tanto meninos como meninas sejam afetados, mas de maneiras diferentes ¹⁴². Na medida que os relatos prévios ¹²⁷ examinando interações entre

gênero e exposição pré-natal a cigarros tinham relativamente poucos sujeitos do sexo feminino com TDAH, os efeitos do gênero ainda precisam ser melhor examinados.

Fergusson et al ¹¹⁷ levantaram a hipótese de que fumo na gravidez pode ser um marcador para desvantagem social e que seria esta adversidade que contaria para o aumento do risco para transtornos disruptivos do comportamento em crianças expostas intra-útero à nicotina e aos produtos do cigarro. Contrariando esta hipótese, contudo, eles acharam que a relação entre fumo na gravidez e psicopatologia nas suas crianças persistiu mesmo após controlar estatisticamente para uma extensa variedade de fatores de risco social.

Pesquisas clínicas voltadas mais especificamente ao estudo da associação entre aspectos atencionais (e não somente o desfecho TDAH) e fumo na gravidez também foram realizadas. Alguns estudos de coorte acharam resultados positivos para a associação ^{134;143-147}. Contudo, um impacto negativo do fumo na gravidez sobre a atenção nem sempre tem sido encontrado. Fried et al ¹⁴⁸, numa coorte acompanhando 126 crianças, não evidenciaram tal associação. Landgren et al ¹¹³ em um estudo de caso-controle não mostraram associação entre fumo e problemas atencionais. Mais recentemente, Cornelius et al ¹¹³ num estudo prospectivo bem desenhado com uma amostra de 593 crianças também não encontraram associação entre fumo na gravidez e déficits atencionais.

Um dos desfechos teratológicos comportamentais associados à exposição pré-natal à nicotina que pode ser identificado é um prejuízo nas capacidades atencionais. Esta associação vem sendo investigada por diversos tipos de estudos, havendo resultados discordantes entre estes. Nos Estados Unidos, a taxa global de fumo entre as gestantes é em média 20 % ⁸⁹, sendo que em estratos específicos da população com mais risco esta pode chegar a 50% ¹⁴⁹. Portanto, o entendimento mais aprofundado desta associação pode originar um corpo de evidências que justifiquem uma política de saúde pública específica para esta questão, com aconselhamento das gestantes sobre os riscos de danos cognitivos de longo prazo a suas proles.

TDAH E GENES CANDIDATOS

O estudo da genética do TDAH envolve dois tipos de investigações: os estudos genéticos clássicos e os estudos moleculares. Os estudos clássicos compreendem as pesquisas com famílias, com gêmeos, com adotados e as análises de segregação. É com esse tipo de estudo que se identifica a existência de um componente genético determinando ou influenciando a característica (ou transtorno) em questão. Essas abordagens também permitem estimar o tamanho do efeito desse componente no fenótipo e como ocorre a sua transmissão. Uma vez que a participação de fatores genéticos na doença tenha sido sugerida pelos estudos epidemiológicos, o próximo passo é, então, identificar os genes envolvidos na determinação da característica. Esses resultados mais específicos são alcançados com os estudos moleculares, nos quais os chamados genes candidatos (genes possivelmente relevantes para a neurobiologia da característica ou doença) são investigados por diferentes tipos de análises ¹⁵⁰.

Estudos com famílias demonstraram consistentemente uma recorrência familiar significativa para este transtorno ¹⁵⁰. Por exemplo, o risco para o TDAH parece ser de 2 a 8 vezes maior nos pais de crianças afetadas do que na população em geral ^{151;152}. A maioria dos estudos com gêmeos encontrou grande concordância para o TDAH, sendo significativamente maior entre gêmeos monozigóticos do que entre dizigóticos ^{22;153}. A herdabilidade estimada é alta, girando em torno de 0,8 ¹⁵¹, o que sugere uma forte influência genética. Estudos com adotados, que conseguem distinguir melhor os efeitos genéticos dos ambientais, têm indicado que pais biológicos de pacientes afetados têm uma prevalência de TDAH em torno de 3 vezes maior do que os pais adotivos ¹⁵⁴.

As análises de segregação fornecem evidências de transmissão genética por demonstrar que o padrão de uma doença nas famílias é consistente com mecanismos de herança conhecidos. Diferentes estudos com o TDAH já foram realizados neste

sentido. Inicialmente foi proposto herança poligênica para a doença, como normalmente ocorre na maioria das psicopatologias. Entretanto, a hipótese de um gene principal, de efeito maior também já foi considerada. Porém, se o TDAH tem, realmente, diferentes causas genéticas, é provável que existam vários genes de efeito pequeno que interagem entre si e com o ambiente. De qualquer forma, este, ou estes supostos genes parecem ser responsáveis não pelo TDAH em si, mas por uma suscetibilidade a este transtorno, surgida por alterações em processos específicos, e o seu desenvolvimento parece depender da interação destes genes com diversos outros fatores ambientais ^{36;155-157}.

Os mecanismos exatos envolvidos na neurobiologia do TDAH ainda não estão esclarecidos. Os resultados dos testes neuropsicológicos indicaram que as crianças com TDAH apresentam déficits de inibição comportamental e em diferentes processos cognitivos, funções em que estão implicadas certas áreas corticais frontais e subcorticais. Estas áreas, conforme visto em estudos de neuroimagem, são menores nas crianças com TDAH, o que corrobora seu envolvimento com a doença. Os núcleos basais caudado e putamen, que formam o *striatum*, de menor tamanho nestes pacientes, também estão associados aos déficits neuropsicológicos desta patologia. A observação de que o metabolismo cerebral é diminuído nestas regiões, juntamente com os dados acima, sugere a participação de circuitos corticoestriatais no TDAH ^{23;155;158;159}.

A definição dos genes candidatos baseia-se em diferentes tipos de evidências, como as que sugerem o envolvimento de rotas bioquímicas ou processos biológicos específicos. O primeiro gene relacionado ao TDAH foi o gene do receptor β da tireóide (hTR β). Esse gene pode apresentar mutações causadoras de resistência generalizada ao hormônio da tireóide (GRTH), uma doença autossômica rara. Hauser et al ¹⁶⁰, investigando pacientes com essa doença, verificaram que o TDAH foi mais comum entre os probandos do que entre os controles, sugerindo que esse transtorno estaria associado ao hormônio da tireóide. Entretanto, sendo a GRTH uma condição

extremamente rara, esses resultados seriam aplicáveis apenas a um provável subtipo de TDAH. Além disso, a associação verificada poderia ser em função de uma disrupção em uma rota neurobiológica comum às duas doenças. Estudos posteriores não confirmaram essa associação ^{150;161}.

As regiões cerebrais citadas anteriormente, possivelmente implicadas na fisiopatologia do TDAH, são ricas em catecolaminas, o que favorece a idéia de que alterações nas rotas destas substâncias tenham um papel na etiologia deste transtorno. Diversos estudos já realizados sugeriram que disfunções nos sistemas da dopamina e da noradrenalina, em determinadas áreas, originariam os sintomas e levariam ao desenvolvimento da doença. A participação destes neurotransmissores é corroborada pela ação endógena dos fármacos utilizados no tratamento do TDAH, onde alterações como aumento da liberação dopaminérgica e da inibição adrenérgica, também em áreas específicas, parecem ser necessárias para a eficácia clínica dos medicamentos. Estes dados sugerem que um desequilíbrio neuroquímico, caracterizado provavelmente por diminuição da dopamina e aumento da noradrenalina, pode ser a base neurobiológica do TDAH ^{158;159;162;163}. Assim, temos evidências farmacológicas, bioquímicas e de estudos neurobiológicos que vêm indicando o envolvimento dos sistemas dopaminérgico, noradrenérgico e, mais recentemente, serotoninérgico na fisiopatologia do TDAH ^{23;162;164}. Dessa forma, genes que codificam os componentes desses sistemas parecem ser os candidatos ideais para os estudos moleculares desse transtorno.

O sistema dopaminérgico vem sendo o principal alvo dessas pesquisas. O mais robusto achado em TDAH é a associação de um polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) no exon 3 do gene do receptor D4 de dopamina (DRD4) ¹⁶⁵, o qual é expresso nos níveis mais altos no córtex pré-frontal ¹⁶⁶. Os primeiros a detectar a associação do gene do DRD4 com o TDAH foram LaHoste e cols. ¹⁶⁷. Estes pesquisadores detectaram uma associação com o alelo de 7 repetições (DRD4.7). A grande maioria dos estudos tem se focado no alelo de 7 repetições (7R)

do polimorfismo VNTR de 48 pares de base (48pb). No nosso meio, um estudo de associação entre este gene e o transtorno demonstrou um pequeno, mas significativo efeito do alelo de 7 repetições do DRD4 no transtorno ¹⁶⁸.

Faraone et al ¹⁶⁹ publicaram uma meta-análise dos estudos de associação para o gene DRD4 no TDAH, sendo o efeito estimado significativo, mas muito pequeno, com uma razão de chances combinada de 1,4 de acordo com os estudos de base familiar e de 1,9 de acordo com os estudos de caso-controle. Maher et al ¹⁷⁰ realizaram uma meta-análise investigando sujeitos com TDAH e o alelo DRD4.7 usando análise com o teste de desequilíbrio de transmissão (TDT). Eles incluíram dados de 14 estudos. A razão de chances combinada estimada foi 1,41, demonstrando associação positiva. Mais recentemente, foram publicados outros estudos com resultados de associação positiva ^{24;171;172}, mas também resultados apontando para a não existência da associação ^{173;174}. Assim, Asherson ¹⁷⁵ comparando dados de vários estudos descreve como surpreendente que, dada a quantidade de evidências que dão suporte à associação entre DRD4 e TDAH, ainda não esteja estabelecido o papel funcional deste gene no TDAH.

O transportador de dopamina (DAT1) está fortemente implicado no TDAH visto que ele é inibido pelo metilfenidato (MFD), que é o principal tratamento farmacológico para o TDAH, levando a um aumento da quantidade e da duração da dopamina na fenda sináptica ¹⁷⁶. O primeiro relato de associação do gene DAT1 com TDAH foi feito por Cook et al ¹⁷⁷. Por meio de método de risco relativo de haplótipo (HRR), foi detectada uma associação com um alelo de 480pb de um VNTR localizado na região 3' não traduzida do gene, correspondendo a dez cópias de uma unidade de repetição de 40pb (alelo 10R). Estudos de 10 polimorfismos no gene DAT1 foram relatados, principalmente o alelo de 40pb no exon 15. Embora o achado de que o alelo 10R confere risco para o TDAH seja o segundo mais replicado, os resultados globais dos estudos deixam dúvidas. Uma meta-análise ¹⁷⁰, incluindo 11 estudos com um total de 824 meioses informativas, resultou numa razão de chances combinada estimada não

significativa de 1,27 para o alelo de 480pb. Posteriormente, houve relatos positivos¹⁷⁸⁻¹⁸¹ e negativos^{173;182;183} desta associação.

O receptor de dopamina D5 (DRD5) tem estrutura muito parecida com o DRD1. Ambos estimulam a atividade da adenil-ciclase, mas o DRD5 tem uma afinidade 10 vezes maior do que o DRD1. Daly et al¹⁸⁴ encontraram associação significativa deste receptor com o TDAH, analisando uma amostra de 91 famílias. Contudo, estudo posterior¹⁸⁵ não replicou os resultados prévios, encontrando um pequeno número de transmissões de 2 alelos deste gene. Maher et al¹⁷⁰ também fizeram uma meta-análise para o DRD5. Dados de 5 estudos com um total de 340 meioses informativas foram combinados resultando numa razão de chances combinada significativa de 1,57. Depois disso, dois estudos acharam associação positiva entre DRD5 e TDAH^{178;179;181}. Mais recentemente, outra meta-análise encontrou associação significativa¹⁸⁶.

O gene do receptor D1 (DRD1) de dopamina é outro loco que pode estar relacionado com o TDAH. Este receptor, juntamente com o D2, é o mais abundante receptor de dopamina no cérebro. Embora tenham ações antagônicas, os receptores D1 e D2 interagem no funcionamento celular normal, de modo que um regula a atividade do outro. Alterações neste mecanismo já foram relacionadas a alguns transtornos psiquiátricos^{187;188}. O receptor de dopamina D3 (DRD3) também é um interessante candidato como fator de suscetibilidade genética para o TDAH. Manipulações experimentais deste gene sugerem que tenha um papel na locomoção em animais¹⁸⁹. Não se sabe se a hiperlocomoção em animais de experimentação representa um verdadeiro modelo de hiperatividade em crianças. Claramente o TDAH é mais complexo do que o simples comportamento motor, mas outros aspectos do TDAH não podem ser facilmente medidos em modelos animais. Contudo, as investigações com os genes que codificam estes receptores dopaminérgicos (D1, D2 e D3) ainda são muito reduzidas, impedindo maiores conclusões¹⁹⁰.

Os estudos dos genes do sistema noradrenérgico concentram-se no gene que codifica a enzima dopamina beta-hidroxilase (DBH), que converte a dopamina em

noradrenalina. Daly et al ¹⁸⁴ foram os primeiros a testar a associação entre um polimorfismo (*TaqI*) desse gene e TDAH. Depois disso outros três estudos evidenciaram associação para este mesmo polimorfismo ^{183;191;192}. Contudo, para outros seis polimorfismos do DBH, os resultados são negativos. Também, o gene do transportador de noradrenalina (NET1) foi relacionado ao TDAH por causa da eficácia terapêutica dos antidepressivos tricíclicos e, recentemente, da atomoxetina (um inibidor seletivo da recaptação da noradrenalina) neste transtorno. Recentemente, Bobb et al ¹⁹⁰ encontraram associação entre 2 polimorfismos do NET1 e TDAH. Nos demais estudos, somente resultados negativos foram encontrados na avaliação do gene do NET1 ^{193-195 196}.

Os genes que codificam os receptores adrenérgicos também têm sido estudados. Estudos em animais sugerem que projeções noradrenérgicas no córtex pré-frontal potencializam a função cortical pré-frontal, como a memória de trabalho, basicamente através de receptores pós-sinápticos alfa-2 ¹⁹⁷. Dos diversos tipos de receptores alfa-2 no cérebro, o mais promissor para estudos é o alfa-2-A (ADRA2A). Este receptor está expresso em muitas áreas cerebrais, mas é o receptor noradrenérgico mais prevalente no córtex pré-frontal. Evidências farmacológicas em animais e humanos dão suporte à importância do sistema noradrenérgico, e em especial o ADRA2A, em operações cognitivas do córtex pré-frontal que estão provavelmente envolvidas no TDAH. Por exemplo, evidências mais definitivas vêm de estudos que demonstraram que a guanfacina, um agonista seletivo alfa-2-A, melhora o desempenho em tarefas que dependem de funções corticais pré-frontais em macacos e em humanos, mas não afeta o comportamento quando o cortex pré-frontal não é exigido. Comings e cols ¹⁹⁸ foram os primeiros a testar a hipótese de que o TDAH estivesse associado a este gene. Os resultados da análise de regressão mostraram uma correlação significativa entre os marcadores clínicos, tendo o ADRA2A e outros genes noradrenérgicos um significativo efeito aditivo. Dois estudos posteriores não confirmaram esses achados ^{199;200}. Contudo, mais recentemente, dois estudos tiveram

resultados positivos. Roman et al ²⁶, estudando crianças brasileiras com TDAH, detectaram efeito do gene ADRA2A nos escores dos sintomas de desatenção e combinados. Park et al ²⁷ também encontraram associação entre este gene e as dimensões de sintomas de desatenção e de hiperatividade-impulsividade.

Outro gene candidato para associação com TDAH é o catecol-O-metiltransferase (COMT), o qual contribui para a depuração da dopamina e da noradrenalina. Este gene tem sido associado a abuso de substâncias ²⁰¹, um desfecho comum em casos de crianças com TDAH ²⁰². Além disso, crianças com síndrome velo-cardio-facial (uma síndrome de deleção da região cromossômica 22q11, aonde o gene da COMT foi localizado) frequentemente têm sintomas de TDAH, sugerindo que este gene possa ter papel etiológico neste transtorno ²⁰³. Há dados controversos na literatura recente. Eisenberg e cols. ²⁰⁴ foram os primeiros a encontrar associação significativa entre o COMT e TDAH. Mais recentemente, Qian et al ²⁰⁵ encontraram associação com dois alelos diferentes. Porém, seis outros estudos obtiveram resultados negativos para a associação ²⁰⁶⁻²¹⁰. Também é possível que este polimorfismo esteja ligado a variações no desempenho cognitivo, que é deficiente em alguns casos de TDAH ^{211;212}.

Evidência para associação entre a serotonina (5-HT) e o TDAH vem de um estudo que demonstrou que o MFD diminui a hiperlocomoção de ratos "DAT1-knockout" pelo aumento da neurotransmissão de 5-HT ²¹³. Também, baixos níveis de plaquetas e de 5-HT sérica foram relatados em probandos com TDAH ^{214;215}. Além disso, foi observada uma associação entre baixa atividade serotoninérgica e comportamento desinibido e impulsivo em animais e em humanos ^{216;217}. Três polimorfismos do gene transportador de serotonina (5-HTT) vêm sendo estudados no TDAH, sendo o foco principal o alelo de 44pb de um polimorfismo de inserção/deleção na região promotora do gene. O terceiro achado mais replicado em genética molecular no TDAH é a associação entre alelo para a inserção e TDAH. São cinco estudos com resultados positivos ²¹⁸⁻²²² e dois negativos ^{223;224}. Kent et al ²²⁵, agrupando dados de 3

estudos do polimorfismo, encontraram uma associação pequena, mas significativa (razão de chances combinada = 1,33).

A definição de tipos de TDAH pelo DSM-IV, assim como as diferentes formas de tratamento, e as várias doenças que podem coexistir com este transtorno mostram que, pelo menos ao nível fenotípico, o TDAH é uma patologia bastante heterogênea. De acordo com esta consideração, casos diversos provavelmente apresentam fenomenologias particulares (heterogeneidade clínica) e, conseqüentemente, heterogeneidade etiológica. Visto que o TDAH é uma doença multifatorial, as causas envolvem, possivelmente, variáveis biológicas e ambientais, que atuam diferentemente na manifestação de cada tipo de TDAH. É provável que estas características influenciem os resultados de investigações sobre a etiologia da doença. De fato, como foi sugerido em diferentes estudos com outras doenças psiquiátricas, esta heterogeneidade pode obscurecer um achado positivo, e deve ser considerada como um fator de confusão. Assim, a redução da heterogeneidade clínica do TDAH, através do delineamento de subtipos, parece ser um recurso realmente importante em pesquisas dessa natureza, uma vez que tipos com componentes biológicos ou ambientais mais ou menos ativos podem ser identificados. Esta medida facilitaria a interpretação dos dados, sobretudo em estudos neurobiológicos e com genes candidatos, permitindo um maior esclarecimento da fisiopatologia do TDAH ^{38;155 18}.

Dentro desta linha de raciocínio, alguns estudos têm avaliado a associação de genes candidatos e especificamente problemas atencionais, seja em avaliações dimensionais ou categóricas.

Nos estudos de Rowe et al ^{226;227}, foi verificada uma influência particular do alelo de 7R do DRD4 sobre a dimensão desatenção. Vários outros polimorfismos desse gene já foram estudados. McCracken et al ²²⁸ verificaram a transmissão preferencial do alelo de 240pb, mais significativa apenas quando casos com desatenção foram considerados. Swanson et al ²²⁹ foram responsáveis pela primeira publicação sobre a influência de alelos de risco no TDAH sobre o endofenótipo

cognitivo, usando testes neuropsicológicos que avaliavam especificamente capacidade atencional em pacientes com TDAH. Contrário a hipótese do estudo, eles acharam um desempenho atencional prejudicado no grupo sem o alelo de risco de 7R do DRD4. Em uma amostra de 81 crianças com TDAH, Frank et al ¹⁷⁴ investigaram a relação entre um polimorfismo do gene do DRD4 e os subtipos do transtorno. Não houve associação significativa para o subtipo desatento.

Um estudo que avaliou um gene do sistema nicotínico apresentou uma associação significativa de um polimorfismo com problemas atencionais severos, em indivíduos com o diagnóstico de TDAH ²³⁰. Qian et al ²⁰⁵, avaliaram numa amostra de chineses um polimorfismo do gene da COMT. Esses investigadores encontraram uma associação significativa na subamostra de meninos com TDAH. Os resultados foram especialmente pronunciados no subtipo desatento. Roman et al ²⁶, numa amostra de crianças e adolescentes com TDAH, encontraram associação do gene ADRA2A em análises dimensionais nos grupos de sintomas que incluíam desatenção (desatento e combinado). O achado de associação do ADRA2A com escores atencionais em sujeitos com TDAH foi replicado em uma amostra independente pelo mesmo grupo ²³¹. Num estudo de seguimento até os 5 anos de idade, Kahn et al ¹⁸² avaliaram 161 crianças e não encontraram associação entre o alelo de 480pb do gene do DAT e escores de desatenção.

Enquanto todas as estimativas de herdabilidade indicam que os fatores genéticos contribuem de forma preponderante na variação fenotípica do TDAH, ainda não foram apresentadas evidências conclusivas em relação ao envolvimento de qualquer gene em específico. Os três genes mais replicados (DRD4, DAT1 e 5-HTT) têm múltiplos resultados tanto negativos como positivos. Um dado interessante é que das publicações entre 1991 e 1998, 86% (12 de 14) tiveram resultados positivos, enquanto que no período seguinte a taxa foi de 27% (55 de 201). Isto parece ser um indicativo de que foi alto o viés de publicação nos primeiros anos de estudos de genética molecular do TDAH. Também, os dados das meta-análises mostraram que

são baixas as razões de chance médias para os genes candidatos: 1,9 para DRD4; 1,3 para 5-HTT; 1,2 para DAT1 e DRD5 ^{169;186;225;232}.

Contudo, de maneira geral, pode-se considerar que a pesquisa em genética no TDAH está num bom ritmo de evolução, visto a grande quantidade de publicações nos últimos anos. Porém, dada a alta herdabilidade do transtorno e o nível de consistência dos resultados obtidos, ainda há muito espaço para melhorias. Existe evidência de que ocorrem diferentes padrões de herdabilidade entre os subtipos do TDAH ²³³. Portanto, analisar as amostras agregando os subtipos pode fazer com que se perca poder estatístico, o que reforça a importância de examinar amostras específicas de subtipos do transtorno. Também a padronização de medidas, o uso de amostras maiores, a busca por endofenótipos e a avaliação da interação gene-ambiente são recursos que devem ser cada vez mais aplicados. Apesar das inconsistências, há acúmulo de evidência para associação entre pelo menos 4 genes (DRD4, DAT1, 5-HTT e DRD5) e o TDAH. Assim, com a seqüência da pesquisa nesta área, podem surgir novas terapias baseadas no conhecimento genético que ajudariam milhões de crianças e adultos com este diagnóstico.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Estudar o efeito de genes candidatos dos sistemas noradrenérgico e dopaminérgico e exposição gestacional a tabaco sobre a ocorrência do subtipo desatento do TDAH.

Objetivos Específicos

Testar a associação entre o grau de exposição a tabaco na gestação e a gravidade de desatenção em crianças e adolescentes.

Verificar se existe transmissão preferencial de alelos de risco nos genes candidatos através de análise intra-familiar.

Avaliar o efeito da interação entre os genes candidatos, dois a dois, no TDAH com predomínio de desatenção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Graetz BW, Sawyer MG, Hazell PL, Arney F, Baghurst P. Validity of DSM-IVADHD subtypes in a nationally representative sample of Australian children and adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:1410-7.
2. Polanczyk G, Lima MS, Horta B, Biederman J, Rohde LA. The worldwide prevalence of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Do geographic location and income of countries have an impact on variability of estimates? A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. 2005.
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed). Washington DC American Psychiatric Press . 1994.
4. 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* 1999;38:716-22.
5. Faraone SV, Sergeant JA, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003;2(2):104-13.
6. Dulcan M. Practice parameters for the assessment and treatment of children, adolescents, and adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. American Academy of Child and Adolescent Psychiatry. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:85S-121S.
7. Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL. Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:185-93.
8. Gaub M, Carlson CL. Behavioral characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1997;25:103-11.
9. Birnbaum HG, Kessler RC, Lowe SW, Secnik K, Greenberg PE, Leong SA *et al.* Costs of attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD) in the US: excess costs of persons with ADHD and their family members in 2000. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(2):195-206.
10. Biederman J, Milberger S, Faraone SV, Kiely K, Guite J, Mick E *et al.* Impact of adversity on functioning and comorbidity in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1995;34:1495-503.
11. Fergusson DM, Lynskey MT, Horwood LJ. Conduct problems and attention deficit behaviour in middle childhood and cannabis use by age 15. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1993;27:673-82.
12. Gittelman R, Mannuzza S, Shenker R, Bonagura N. Hyperactive boys almost grown up. I. Psychiatric status. *Arch.Gen.Psychiatry* 1985;42:937-47.

13. Mannuzza S, Gittelman-Klein R, Horowitz-Konig P, Giampino TL. Hyperactive boys almost grown up: V. Criminecriminality and its relationship to psychiatric status. *Arch.Gen.Psychiatry* 1989;46:1073-9.
14. Schubiner H, Tzelepis A, Isaacson JH, Warbasse LH, III, Zacharek M, Musial J. The dual diagnosis of attention-deficit/hyperactivity disorder and substance abuse: case reports and literature review. *J.Clin.Psychiatry* 1995;56:146-50.
15. Barkley RA, DuPaul GJ, McMurray MB. Comprehensive evaluation of attention deficit disorder with and without hyperactivity as defined by research criteria. *J.Consult Clin.Psychol.* 1990;58:775-89.
16. Barkley RA, Guevremont DC, Anastopoulos AD, DuPaul GJ, Shelton TL. Driving-related risks and outcomes of attention deficit hyperactivity disorder in adolescents and young adults: a 3- to 5-year follow-up survey. *Pediatrics* 1993;92:212-8.
17. Biederman J, Faraone SV, Spencer T, Wilens T, Norman D, Lapey KA *et al.* Patterns of psychiatric comorbidity, cognition, and psychosocial functioning in adults with attention deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Psychiatry* 1993;150:1792-8.
18. Jensen PS, Martin D, Cantwell DP. Comorbidity in ADHD: implications for research, practice, and DSM-V. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:1065-79.
19. Souza I, Pinheiro MA, Denardin D, Mattos P, Rohde LA. Attention-deficit/hyperactivity disorder and comorbidity in Brazil: comparisons between two referred samples. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2004;13:243-8.
20. Mick E, Biederman J, Faraone SV, Sayer J, Kleinman S. Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:378-85.
21. 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* 1996;153:1138-42.
22. Thapar A, Holmes J, Poulton K, Harrington R. Genetic basis of attention deficit and hyperactivity. *Br.J.Psychiatry* 1999;174:105-11.
23. Castellanos FX. Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clin.Pediatr.(Phila)* 1997;36:381-93.
24. Qian Q, Wang Y, Zhou R, Yang L, Faraone SV. Family-based and case-control association studies of DRD4 and DAT1 polymorphisms in Chinese attention deficit hyperactivity disorder patients suggest long repeats contribute to genetic risk for the disorder. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2004;128:84-9.
25. Biederman J, Spencer T. Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol.Psychiatry* 1999;46:1234-42.
26. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-

- deficit/hyperactivity disorder? *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;120:116-20.
27. Park I, Nigg JT, Waldman ID, Nummy, KA, Huang-Pollock C, Rappley M *et al.* Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Mol.Psychiatry* , 1-9. 2004.
 28. Rasmussen ER, Todd RD, Neuman RJ, Heath AC, Reich W, Rohde LA. Comparison of male adolescent-report of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) symptoms across two cultures using latent class and principal components analysis. *J.Child Psychol.Psychiatry* 2002;43:797-805.
 29. Baumgaertel A, Wolraich ML, Dietrich M. Comparison of diagnostic criteria for attention deficit disorders in a German elementary school sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1995;34:629-38.
 30. Brito GN, Pinto RC, Lins MF. A behavioral assessment scale for attention deficit disorder in Brazilian children based on DSM-III-R criteria. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1995;23:509-20.
 31. Lopez-Campo GX, Gomez-Betancur LA, Aguirre-Acevedo DC, Puerta IC, Pineda DA. [Attention and executive function tests components in attention deficit/hyperactivity children]. *Rev.Neurol.* 2005;40:331-9.
 32. Rohde LA, Barbosa G, Polanczyk G, Eizirik M, Rasmussen ER, Neuman RJ *et al.* Factor and latent class analysis of DSM-IV ADHD symptoms in a school sample of Brazilian adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:711-8.
 33. Hudziak JJ, Heath AC, Madden PF, Reich W, Bucholz KK, Slutske W *et al.* Latent class and factor analysis of DSM-IV ADHD: a twin study of female adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:848-57.
 34. Rasmussen ER, Neuman RJ, Heath AC, Levy F, Hay DA, Todd RD. Replication of the latent class structure of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) subtypes in a sample of Australian twins. *J.Child Psychol.Psychiatry* 2002;43:1018-28.
 35. Todd RD. Genetics of attention deficit/hyperactivity disorder: are we ready for molecular genetic studies? *Am.J.Med.Genet.* 2000;96:241-3.
 36. Jensen PS, Mrazek D, Knapp PK, Steinberg L, Pfeffer C, Schowalter J *et al.* Evolution and revolution in child psychiatry: ADHD as a disorder of adaptation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:1672-9.
 37. ICD-10. *Commun.Dis.Rep.CDR Wkly.* 1992;2:125.
 38. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:4-16.
 39. Biederman J, Mick E, Faraone SV, Braaten E, Doyle A, Spencer T *et al.* Influence of gender on attention deficit hyperactivity disorder in children referred to a psychiatric clinic. *Am.J.Psychiatry* 2002;159:36-42.
 40. Rohde LA. ADHD in Brazil: the DSM-IV criteria in a culturally different population. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:1131-3.

41. 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* 2000;157:816-8.
42. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (3rd ed). Washington DC American Psychiatric Press . 1980.
43. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (3rd ed, rev). Washington DC American Psychiatric Press . 1987.
44. Trommer BL, Hoepfner JA, Zecker SG. The go-no go test in attention deficit disorder is sensitive to methylphenidate. *J.Child Neurol.* 1991;6 Suppl:S128-S131.
45. Lahey BB, Carlson CL. Validity of the diagnostic category of attention deficit disorder without hyperactivity: a review of the literature. *J.Learn.Disabil.* 1991;24:110-20.
46. Epstein MA, Shaywitz SE, Shaywitz BA, Woolston JL. The boundaries of attention deficit disorder. *J.Learn.Disabil.* 1991;24:78-86.
47. Hynd GW, Lorys AR, Semrud-Clikeman M, Nieves N, Huettnner MI, Lahey BB. Attention deficit disorder without hyperactivity: a distinct behavioral and neurocognitive syndrome. *J.Child Neurol.* 1991;6 Suppl:S37-S43.
48. Shaywitz BA, Shaywitz SE. Comorbidity: a critical issue in attention deficit disorder. *J.Child Neurol.* 1991;6 Suppl:S13-S22.
49. Cantwell DP, Rutter M. Classification: conceptual issues and substantive findings. In Rutter M, Taylor E, Hersov L, eds. *Child and Adolescent Psychiatry: Modern Approches*, pp 3-21. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994.
50. Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J. Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:319-24.
51. Marshall RM, Hynd GW, Handwerk MJ, Hall J. Academic underachievement in ADHD subtypes. *J.Learn.Disabil.* 1997;30:635-42.
52. Parternite CE, Loney J, Roberts MA. A preliminary validation of subtypes of DSM-V attention deficit hyperactivity disorder. *J.Attention Disorders* 1996;1:70-86.
53. Eiraldi RB, Power TJ, Nezu CM. Patterns of comorbidity associated with subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder among 6- to 12-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:503-14.
54. Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW *et al.* DSM-IV field trials for attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Am.J.Psychiatry* 1994;151:1673-85.
55. Lahey BB, Pelham WE, Stein MA, Loney J, Trapani C, Nugent K *et al.* Validity of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder for younger children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:695-702.

56. McBurnett K, Pfiffner LJ, Willcutt E, Tamm L, Lerner M, Ottolini YL *et al.* Experimental cross-validation of DSM-IV types of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:17-24.
57. McBurnett K, Lahey BB, Rathouz PJ, Loeber R. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Arch.Gen.Psychiatry* 2000;57:38-43.
58. Brito GN, Pereira CC, Santos-Morales TR. Behavioral and neuropsychological correlates of hyperactivity and inattention in Brazilian school children. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:732-9.
59. Gansler DA, Fucetola R, Kregel M, Stetson S, Zimering R, Makary C. Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1998;186:776-81.
60. Carlson CL, Mann M. Attention-deficit/hyperactivity disorder, predominantly inattentive subtype. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 2000;9:499-510, vi.
61. Woo BS, Rey JM. The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 2005;39:344-53.
62. Rohde LA, Ferreira MH, Zomer A, Forster L, Zimmermann H. The impact of living on the streets on latency children's friendships. *Rev.Saude Publica* 1998;32:273-80.
63. Rohde LA, Biederman J, Zimmermann H, Schmitz M, Martins S, Tramontina S. Exploring ADHD age-of-onset criterion in Brazilian adolescents. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2000;9:212-8.
64. Pfiffner LJ, Calzada E, McBurnett K. Interventions to enhance social competence. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 2000;9:689-709, x.
65. Biederman J, Faraone SV, Mick E, Williamson S, Wilens TE, Spencer TJ *et al.* Clinical correlates of ADHD in females: findings from a large group of girls ascertained from pediatric and psychiatric referral sources. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:966-75.
66. Power TJ, Costigan TE, Eiraldi RB, Leff SS. Variations in anxiety and depression as a function of ADHD subtypes defined by DSM-IV: do subtype differences exist or not? *J.Abnorm.Child Psychol.* 2004;32:27-37.
67. Willcutt EG, Pennington BF, Chhabildas NA, Friedman MC, Alexander J. Psychiatric comorbidity associated with DSM-IV ADHD in a nonreferred sample of twins. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:1355-62.
68. Disney ER, Elkins IJ, McGue M, Iacono WG. Effects of ADHD, conduct disorder, and gender on substance use and abuse in adolescence. *Am.J.Psychiatry* 1999;156:1515-21.
69. Lynskey MT, Fergusson DM. Childhood conduct problems, attention deficit behaviors, and adolescent alcohol, tobacco, and illicit drug use. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1995;23:281-302.
70. Flory K, Milich R, Lynam DR, Leukefeld C, Clayton R. Relation between childhood disruptive behavior disorders and substance use and dependence

symptoms in young adulthood: individuals with symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder are uniquely at risk. *Psychol.Addict.Behav.* 2003;17:151-8.

71. Tapert SF, Granholm E, Leedy NG, Brown SA. Substance use and withdrawal: neuropsychological functioning over 8 years in youth. *J.Int.Neuropsychol.Soc.* 2002;8:873-83.
72. Tercyak KP, Lerman C, Audrain J. Association of attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms with levels of cigarette smoking in a community sample of adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:799-805.
73. Carlson C, Lahey B, Neeper R. Direct Assessment of the cognitiv correlates of attention deficit disorders with ald without hyperactivity. *J.Behv Assessm Psychopathology* 1986;8:69-86.
74. Morgan A, Hynd GW, Riccio C, Hall J. Validity of DSM IV ADHD predominantly inattentive and combined types: relationship to previous DSM diagnoses/subtype differences. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:325-33.
75. Todd RD, Sitdhiraksa N, Reich W, Ji TH, Joyner CA, Heath AC *et al.* Discrimination of DSM-IV and latent class attention-deficit/hyperactivity disorder subtypes by educational and cognitive performance in a population-based sample of child and adolescent twins. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:820-8.
76. Barkley RA, Grodzinsky G, DuPaul GJ. Frontal lobe functions in attention deficit disorder with and without hyperactivity: a review and research report. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1992;20:163-88.
77. Trommer BL, Hoepfner JA, Lorber R, Amrstrong KJ. The go-on-go paradigm in attention deficit disorder. *Annal Neurology* 1988;24:610-4.
78. Klorman R, Hazel-Fernandez LA, Shaywitz SE, Fletcher JM, Marchione KE, Holahan JM *et al.* Executive functioning deficits in attention-deficit/hyperactivity disorder are independent of oppositional defiant or reading disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:1148-55.
79. Schmitz M, Cadore L, Paczko M, Kipper L, Chaves M, Rohde LA *et al.* Neuropsychological performance in DSM-IV ADHD subtypes: an exploratory study with untreated adolescents. *Can.J.Psychiatry* 2002;47:863-9.
80. Kempton S, Vance A, Maruff P, Luk E, Costin J, Pantelis C. Executive function and attention deficit hyperactivity disorder: stimulant medication and better executive function performance in children. *Psychol.Med.* 1999;29:527-38.
81. Seidman LJ, Biederman J, Monuteaux MC, Weber W, Faraone SV. Neuropsychological functioning in nonreferred siblings of children with attention deficit/hyperactivity disorder. *J.Abnorm.Psychol.* 2000;109:252-65.
82. Barkley RA. Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychol.Bull.* 1997;121:65-94.
83. Piek JP, Pitcher TM, Hay DA. Motor coordination and kinaesthesia in boys with attention deficit-hyperactivity disorder. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:159-65.

84. Pitcher TM, Piek JP, Barrett NC. Timing and force control in boys with attention deficit hyperactivity disorder: subtype differences and the effect of comorbid developmental coordination disorder. *Hum.Mov Sci.* 2002;21:919-45.
85. Pitcher TM, Piek JP, Hay DA. Fine and gross motor ability in males with ADHD. *Dev.Med.Child Neurol.* 2003;45:525-35.
86. Taylor J. House GOP rejects tobacco proposal: Move prompts democrats to charge republicans aren't serious about bill. *Wall Street Journal* , A3-A4. 1998.
87. Gunby P. Legal challenge to medically correct smoking bans. *JAMA* 1994;271:577.
88. Reynolds CR. The inference of causality between smoking and low birth weight: Good science or good politics? *Journal of Forensic Neuropsychology* 1999;1:55-86.
89. Kvale K, Glysch RL, Gothard M, Aakko E, Remington P. Trends in smoking during pregnancy, Wisconsin 1990 to 1996. *WMJ.* 2000;99:63-7.
90. Lassen K, Oei TP. Effects of maternal cigarette smoking during pregnancy on long-term physical and cognitive parameters of child development. *Addict.Behav.* 1998;23:635-53.
91. Hagino N, Lee JW. Effect of maternal nicotine on the development of sites for [3H] nicotine binding in the fetal brain. *Int.Dev.Neurosci.* 1985;3:567-71.
92. Walker A, Rosenberg M, Balaban-Gil K. Neurodevelopmental and neurobehavioral sequelae of selected substances of abuse and psychiatric medications in utero. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 1999;8:845-67.
93. Simpson WJ, Linda L. A preliminary report on cigarette smoking and the incidence of prematurity. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 1957;73:807-15.
94. Blake KV, Gurrin LC, Evans SF, Beilin LJ, Landau LI, Stanley FJ *et al.* Maternal cigarette smoking during pregnancy, low birth weight and subsequent blood pressure in early childhood. *Early Hum.Dev.* 2000;57:137-47.
95. Windham GC, Eaton A, Hopkins B. Evidence for an association between environmental tobacco smoke exposure and birthweight: a meta-analysis and new data. *Paediatr.Perinat.Epidemiol.* 1999;13:35-57.
96. Beratis NG, Varvarigou A, Katsibris J, Gartaganis SP. Vascular retinal abnormalities in neonates of mothers who smoked during pregnancy. *J.Pediatr.* 2000;136:760-6.
97. Keels, MA. The role of cigarette smoking during pregnancy in the etiology of cleft lip with or without cleft palate. 1991. University of North Carolina at Chapel Hill.
98. Agabiti N, Mallone S, Forastiere F, Corbo GM, Ferro S, Renzoni E *et al.* The impact of parental smoking on asthma and wheezing. SIDRIA Collaborative Group. Studi Italiani sui Disturbi Respiratori nell'Infanzia e l'Ambiente. *Epidemiology* 1999;10:692-8.

99. Källen K. Maternal smoking during pregnancy and infant head circumference at birth. *Early Hum.Dev.* 2000;58:204.
100. Roy TS, Seidler FJ, Slotkin TA. Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2002;300:124-33.
101. Eriksson P, Ankarberg E, Fredriksson A. Exposure to nicotine during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain nicotinic receptors and in behaviour of adult mice. *Brain Res.* 2000;853:41-8.
102. Ajarem JS, Ahmad M. Prenatal nicotine exposure modifies behavior of mice through early development. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 1998;59:313-8.
103. Slotkin TA, Lappi SE, Seidler FJ. Impact of fetal nicotine exposure on development of rat brain regions: critical sensitive periods or effects of withdrawal? *Brain Res.Bull.* 1993;31:319-28.
104. Marks MJ, Farnham DA, Grady SR, Collins AC. Nicotinic receptor function determined by stimulation of rubidium efflux from mouse brain synaptosomes. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 1993;264:542-52.
105. Fung YK. Postnatal behavioural effects of maternal nicotine exposure in rats. *J.Pharm.Pharmacol.* 1988;40:870-2.
106. Johns JM, Louis TM, Becker RF, Means LW. Behavioral effects of prenatal exposure to nicotine in guinea pigs. *Neurobehav.Toxicol.Teratol.* 1982;4:365-9.
107. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Chen L, Jones J. ADHD is associated with early initiation of cigarette smoking in children and adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:37-44.
108. Pomerleau OF, Downey KK, Stelson FW, Pomerleau CS. Cigarette smoking in adult patients diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder. *J.Subst.Abuse* 1995;7:373-8.
109. Cogger RW, Moe KL, Serafetinides EA. Attention deficit disorder in adults and nicotine dependence: psychobiological factors in resistance to recovery? *J.Psychoactive Drugs* 1996;28:229-40.
110. Conners CK, Levin ED, Sparrow E, Hinton SC, Erhardt D, Meck WH *et al.* Nicotine and attention in adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Psychopharmacol.Bull.* 1996;32:67-73.
111. Hille ET, den Ouden AL, Saigal S, Wolke D, Lambert M, Whitaker A *et al.* Behavioural problems in children who weigh 1000 g or less at birth in four countries. *Lancet* 2001;357:1641-3.
112. Kelly YJ, Nazroo JY, McMunn A, Boreham R, Marmot M. Birthweight and behavioural problems in children: a modifiable effect? *Int.J.Epidemiol.* 2001;30:88-94.
113. Cornelius MD, Ryan CM, Day NL, Goldschmidt L, Willford JA. Prenatal tobacco effects on neuropsychological outcomes among preadolescents. *J.Dev.Behav.Pediatr.* 2001;22:217-25.

114. Eskenazi B, Castorina R. Association of prenatal maternal or postnatal child environmental tobacco smoke exposure and neurodevelopmental and behavioral problems in children. *Environ.Health Perspect.* 1999;107:991-1000.
115. Weissman MM, Warner V, Wickramaratne PJ, Kandel DB. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:892-9.
116. Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, Wisborg K, Henriksen TB, Rodriguez A *et al.* Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am.J.Psychiatry* 2003;160:1028-40.
117. Fergusson DM, Woodward LJ, Horwood LJ. Maternal smoking during pregnancy and psychiatric adjustment in late adolescence. *Arch.Gen.Psychiatry* 1998;55:721-7.
118. Day NL, Richardson GA, Goldschmidt L, Cornelius MD. Effects of prenatal tobacco exposure on preschoolers' behavior. *J.Dev.Behav.Pediatr.* 2000;21:180-8.
119. Angold A, Costello EJ, Erkanli A. Comorbidity. *J.Child Psychol.Psychiatry* 1999;40:57-87.
120. Biederman J, Newcorn J, Sprich S. Comorbidity of attention deficit hyperactivity disorder with conduct, depressive, anxiety, and other disorders. *Am.J.Psychiatry* 1991;148:564-77.
121. Wakschlag LS, Lahey BB, Loeber R, Green SM, Gordon RA, Leventhal BL. Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorder in boys. *Arch.Gen.Psychiatry* 1997;54:670-6.
122. Ernst M, Moolchan ET, Robinson ML. Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:630-41.
123. Boyle MH, Pickles A. Maternal depressive symptoms and ratings of emotional disorder symptoms in children and adolescents. *J.Child Psychol.Psychiatry* 1997;38:981-92.
124. Faraone SV, Biederman J, Chen WJ, Milberger S, Warburton R, Tsuang MT. Genetic heterogeneity in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): gender, psychiatric comorbidity, and maternal ADHD. *J.Abnorm.Psychol.* 1995;104:334-45.
125. Wilens TE, Biederman J, Mick E, Faraone SV, Spencer T. Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is associated with early onset substance use disorders. *J.Nerv.Ment.Dis.* 1997;185:475-82.
126. Wilens TE. AOD use and attention deficit/hyperactivity disorder. *Alcohol Health Res.World* 1998;22:127-30.
127. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Jones J. Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings. *J.Clin.Child Psychol.* 1998;27:352-8.

128. Fried PA. Prenatal exposure to marihuana and tobacco during infancy, early and middle childhood: effects and an attempt at synthesis. *Arch.Toxicol.Suppl* 1995;17:233-60.
129. Orlebeke JF, Knol DL, Verhulst FC. Child behavior problems increased by maternal smoking during pregnancy. *Arch.Environ.Health* 1999;54:15-9.
130. McGee R, Stanton WR. Smoking in pregnancy and child development to age 9 years. *J.Paediatr.Child Health* 1994;30:263-8.
131. Weitzman M, Gortmaker S, Sobol A. Maternal smoking and behavior problems of children. *Pediatrics* 1992;90:342-9.
132. Hill SY, Lowers L, Locke-Wellman J, Shen SA. Maternal smoking and drinking during pregnancy and the risk for child and adolescent psychiatric disorders. *J.Stud.Alcohol* 2000;61:661-8.
133. Maughan B, Taylor C, Taylor A, Butler N, Bynner J. Pregnancy smoking and childhood conduct problems: a causal association? *J.Child Psychol.Psychiatry* 2001;42:1021-8.
134. Batstra L, Hadders-Algra M, Neeleman J. Effect of antenatal exposure to maternal smoking on behavioural problems and academic achievement in childhood: prospective evidence from a Dutch birth cohort. *Early Hum.Dev.* 2003;75:21-33.
135. Rodriguez A, Bohlin G. Are maternal smoking and stress during pregnancy related to ADHD symptoms in children? *J.Child Psychol.Psychiatry* 2005;46:246-54.
136. Kotimaa AJ, Moilanen I, Taanila A, Ebeling H, Smalley SL, McGough JJ *et al.* Maternal smoking and hyperactivity in 8-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2003;42:826-33.
137. Thapar A, Fowler T, Rice F, Scourfield J, van den BM, Thomas H *et al.* Maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. *Am.J.Psychiatry* 2003;160:1985-9.
138. Knopid VS, Sparrow EP, Madden PA, Bucholz KK, Hudziak JJ, Reich W. *et al.* Contributins of paternal alcoholism, prenatal substance expouse, and genetic transmission to child ADHD risk: a female twin study. *Psychological Medicine* 35:5, 625-635. 2005.
139. Eskenazi B, Trupin LS. Passive and active maternal smoking during pregnancy, as measured by serum cotinine, and postnatal smoke exposure. II. Effects on neurodevelopment at age 5 years. *Am.J.Epidemiol.* 1995;142:S19-S29.
140. McCartney J. Reflections on volatile substance dependency treatment. Negotiating the boundary between inner and outer reality. *J.Subst.Abuse Treat.* 1999;16:255-64.
141. Newcorn JH, Halperin JM, Jensen PS, Abikoff HB, Arnold LE, Cantwell DP *et al.* Symptom profiles in children with ADHD: effects of comorbidity and gender. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:137-46.

142. Coe CL, Lulbach GR, Schneider ML. Prenatal disturbance alters the size of the corpus callosum in young monkeys. *Dev.Psychobiol.* 2002;41:178-85.
143. Fried PA, Watkinson B. Differential effects on facets of attention in adolescents prenatally exposed to cigarettes and marihuana. *Neurotoxicol.Teratol.* 2001;23:421-30.
144. Kristjansson EA, Fried PA, Watkinson B. Maternal smoking during pregnancy affects children's vigilance performance. *Drug Alcohol Depend.* 1989;24:11-9.
145. Leech SL, Richardson GA, Goldschmidt L, Day NL. Prenatal substance exposure: effects on attention and impulsivity of 6-year-olds. *Neurotoxicol.Teratol.* 1999;21:109-18.
146. Naeye RL, Peters EC. Mental development of children whose mothers smoked during pregnancy. *Obstet.Gynecol.* 1984;64:601-7.
147. Streissguth AP, Barr HM, Martin DC. Alcohol exposure in utero and functional deficits in children during the first four years of life. *Ciba Found.Symp.* 1984;105:176-96.
148. Fried PA, Watkinson B, Gray R. A follow-up study of attentional behavior in 6-year-old children exposed prenatally to marihuana, cigarettes, and alcohol. *Neurotoxicol.Teratol.* 1992;14:299-311.
149. Cornelius MD, Taylor PM, Geva D, Day NL. Prenatal tobacco and marijuana use among adolescents: effects on offspring gestational age, growth, and morphology. *Pediatrics* 1995;95:738-43.
150. Tannock R. Attention deficit hyperactivity disorder: advances in cognitive, neurobiological, and genetic research. *J.Child Psychol.Psychiatry* 1998;39:65-99.
151. Faraone SV, Biederman J. Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. *Biol.Psychiatry* 1998;44:951-8.
152. Epstein JN, Conners CK, Erhardt D, Arnold LE, Hechtman L, Hinshaw SP *et al.* Familial aggregation of ADHD characteristics. *J.Abnorm.Child Psychol.* 2000;28:585-94.
153. Faraone SV, Doyle AE. The nature and heritability of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 2001;10:299-ix.
154. Sprich S, Biederman J, Crawford MH, Mundy E, Faraone SV. Adoptive and biological families of children and adolescents with ADHD. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2000;39:1432-7.
155. Faraone SV, Biederman J. Do attention deficit hyperactivity disorder and major depression share familial risk factors? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1997;185:533-41.
156. Nigg JT, Goldsmith HH. Developmental psychopathology, personality, and temperament: reflections on recent behavioral genetics research. *Hum.Biol.* 1998;70:387-412.

157. Belmaker RH, Biederman J. Genetic markers, temperament, and psychopathology. *Biol.Psychiatry* 1994;36:71-2.
158. Zametkin AJ, Liotta W. The neurobiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:17-23.
159. Swanson J, Castellanos FX, Murias M, LaHoste G, Kennedy J. Cognitive neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. *Curr Opin.Neurobiol.* 1998;8:263-71.
160. Hauser P, Zametkin AJ, Martinez P, Vitiello B, Matochik JA, Mixson AJ *et al.* Attention deficit-hyperactivity disorder in people with generalized resistance to thyroid hormone. *N.Engl.J.Med.* 1993;328:997-1001.
161. Smalley SL. Genetic influences in childhood-onset psychiatric disorders: autism and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Am.J.Hum.Genet.* 1997;60:1276-82.
162. Pliszka SR, McCracken JT, Maas JW. Catecholamines in attention-deficit hyperactivity disorder: current perspectives. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:264-72.
163. Levy F, Barr C, Sunohara G. Directions of aetiologic research on attention deficit hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1998;32:97-103.
164. Quist JF, Kennedy JL. Genetics of childhood disorders: XXIII. ADHD, Part 7: The serotonin system. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:253-6.
165. Asherson PJ, Curran S. Approaches to gene mapping in complex disorders and their application in child psychiatry and psychology. *Br.J.Psychiatry* 2001;179:122-8.
166. Falzone TL, Gelman DM, Young JI, Grandy DK, Low MJ, Rubinstein M. Absence of dopamine D4 receptors results in enhanced reactivity to unconditioned, but not conditioned, fear. *Eur.J.Neurosci.* 2002;15:158-64.
167. 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* 1996;1:121-4.
168. 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.* 2001;105:471-8.
169. Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Psychiatry* 2001;158:1052-7.
170. Maher BS, Marazita ML, Ferrell RE, Vanyukov MM. Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychiatr.Genet.* 2002;12:207-15.
171. Seeger G, Schloss P, Schmidt MH, Ruter-Jungfleisch A, Henn FA. Gene-environment interaction in hyperkinetic conduct disorder (HD + CD) as indicated by season of birth variations in dopamine receptor (DRD4) gene polymorphism. *Neurosci.Lett.* 2004;366:282-6.

172. Qian Q, Wang Y, Li J, Yang L, Wang B, Zhou R. [Association studies of dopamine D4 receptor gene and dopamine transporter gene polymorphisms in Han Chinese patients with attention deficit hyperactivity disorder]. *Beijing Da.Xue.Xue.Bao.* 2003;35:412-8.
173. Marino C, Giorda R, Vanzin L, Molteni M, Lorusso ML, Nobile M *et al.* No evidence for association and linkage disequilibrium between dyslexia and markers of four dopamine-related genes. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2003;12:198-202.
174. Frank Y, Pergolizzi RG, Perilla MJ. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr.Neurol.* 2004;31:345-8.
175. Asherson P. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in the post-genomic era. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2004;13 Suppl 1:150-170.
176. Amara SG, Kuhar MJ. Neurotransmitter transporters: recent progress. *Annu.Rev.Neurosci.* 1993;16:73-93.
177. Cook EH, Jr., Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE *et al.* Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. *Am.J.Hum.Genet.* 1995;56:993-8.
178. Hawi Z, Lowe N, Kirley A, Gruenhage F, Nothen M, Greenwood T *et al.* Linkage disequilibrium mapping at DAT1, DRD5 and DBH narrows the search for ADHD susceptibility alleles at these loci. *Mol.Psychiatry* 2003;8:299-308.
179. Kustanovich V, Ishii J, Crawford L, Yang M, McGough JJ, McCracken JT *et al.* Transmission disequilibrium testing of dopamine-related candidate gene polymorphisms in ADHD: confirmation of association of ADHD with DRD4 and DRD5. *Mol.Psychiatry* 2004;9:711-7.
180. Chen CK, Chen SL, Mill J, Huang YS, Lin SK, Curran S *et al.* The dopamine transporter gene is associated with attention deficit hyperactivity disorder in a Taiwanese sample. *Mol.Psychiatry* 2003;8:393-6.
181. Kirley A, Hawi Z, Daly G, McCarron M, Mullins C, Millar N *et al.* Dopaminergic system genes in ADHD: toward a biological hypothesis. *Neuropsychopharmacology* 2002;27:607-19.
182. Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, Lanphear BP. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors. *J.Pediatr.* 2003;143:104-10.
183. Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R *et al.* Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;119:77-85.
184. Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol.Psychiatry* 1999;4:192-6.
185. Barr CL, Wigg KG, Feng Y, Zai G, Malone M, Roberts W *et al.* Attention-deficit hyperactivity disorder and the gene for the dopamine D5 receptor. *Mol.Psychiatry* 2000;5:548-51.

186. Lowe N, Kirley A, Hawi Z, Sham P, Wickham H, Kratochvil CJ *et al.* Joint analysis of the DRD5 marker concludes association with attention-deficit/hyperactivity disorder confined to the predominantly inattentive and combined subtypes. *Am.J.Hum.Genet.* 2004;74:348-56.
187. Seeman P, Van Tol HH. Dopamine receptor pharmacology. *Trends Pharmacol.Sci.* 1994;15:264-70.
188. Seeman P, Van Tol HH. Dopamine D4-like receptor elevation in schizophrenia: cloned D2 and D4 receptors cannot be discriminated by raclopride competition against [3H]nemonapride. *J.Neurochem.* 1995;64:1413-5.
189. Ekman A, Nissbrandt H, Heilig M, Dijkstra D, Eriksson E. Central administration of dopamine D3 receptor antisense to rat: effects on locomotion, dopamine release and [3H]spiperone binding. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 1998;358:342-50.
190. Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK *et al.* Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2005;134:67-72.
191. Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M *et al.* Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine Beta-hydroxylase. *Am.J.Psychiatry* 2002;159:1046-8.
192. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence for the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and the dopamine-beta-hydroxylase gene. *Am.J.Med.Genet.* 2002;114:154-8.
193. De Luca, V, Muglia P, Jain U, Kennedy JL. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene Mnl1 polymorphism and adult ADHD. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2004;124:38-40.
194. Barr CL, Kroft J, Feng Y, Wigg K, Roberts W, Malone M *et al.* The norepinephrine transporter gene and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Med.Genet.* 2002;114:255-9.
195. McEvoy B, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. No evidence of linkage or association between the norepinephrine transporter (NET) gene polymorphisms and ADHD in the Irish population. *Am.J.Med.Genet.* 2002;114:665-6.
196. Xu X, Knight J, Brookes K, Mill J, Sham P, Craig I *et al.* DNA pooling analysis of 21 norepinephrine transporter gene SNPs with attention deficit hyperactivity disorder: no evidence for association. *Am.J.Med Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2005;134:115-8.
197. Arnsten AF, Steere JC, Hunt RD. The contribution of alpha 2-noradrenergic mechanisms of prefrontal cortical cognitive function. Potential significance for attention-deficit hyperactivity disorder. *Arch.Gen.Psychiatry* 1996;53:448-55.
198. Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Blake H, Wu S, MacMurray JP. Additive effect of three noradrenergic genes (ADRA2a, ADRA2C, DBH) on attention-deficit hyperactivity disorder and learning disabilities in Tourette syndrome subjects. *Clin.Genet.* 1999;55:160-72.

199. Barr CL, Wigg K, Zai G, Roberts W, Malone M, Schachar R *et al.* Attention-deficit hyperactivity disorder and the adrenergic receptors alpha 1C and alpha 2C. *Mol.Psychiatry* 2001;6:334-7.
200. Xu C, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL *et al.* Linkage study of the alpha2A adrenergic receptor in attention-deficit hyperactivity disorder families. *Am.J.Med.Genet.* 2001;105:159-62.
201. Vandenberg DJ, Rodriguez LA, Miller IT, Uhl GR, Lachman HM. High-activity catechol-O-methyltransferase allele is more prevalent in polysubstance abusers. *Am.J.Med.Genet.* 1997;74:439-42.
202. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Wilens T, Chu MP. Associations between ADHD and psychoactive substance use disorders. Findings from a longitudinal study of high-risk siblings of ADHD children. *Am.J.Addict.* 1997;6:318-29.
203. Carlson CL, Tamm L, Gaub M. Gender differences in children with ADHD, ODD, and co-occurring ADHD/ODD identified in a school population. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:1706-14.
204. Eisenberg J, Mei-Tal G, Steinberg A, Tartakovsky E, Zohar A, Gritsenko I *et al.* Haplotype relative risk study of catechol-O-methyltransferase (COMT) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): association of the high-enzyme activity Val allele with ADHD impulsive-hyperactive phenotype. *Am.J.Med.Genet.* 1999;88:497-502.
205. Qian Q, Wang Y, Zhou R, Li J, Wang B, Glatt S *et al.* Family-based and case-control association studies of catechol-O-methyltransferase in attention deficit hyperactivity disorder suggest genetic sexual dimorphism. *Am.J.Med Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;118:103-9.
206. Tahir E, Curran S, Yazgan Y, Ozbay F, Cirakoglu B, Asherson PJ. No association between low- and high-activity catecholamine-methyl-transferase (COMT) and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in a sample of Turkish children. *Am.J.Med.Genet.* 2000;96:285-8.
207. Barr CL, Wigg K, Malone M, Schachar R, Tannock R, Roberts W *et al.* Linkage study of catechol-O-methyltransferase and attention-deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Med.Genet.* 1999;88:710-3.
208. Hawi Z, Millar N, Daly G, Fitzgerald M, Gill M. No association between catechol-O-methyltransferase (COMT) gene polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in an Irish sample. *Am.J.Med.Genet.* 2000;96:282-4.
209. Payton A, Holmes J, Barrett JH, Hever T, Fitzpatrick H, Trumper AL *et al.* Examining for association between candidate gene polymorphisms in the dopamine pathway and attention-deficit hyperactivity disorder: a family-based study. *Am.J.Med.Genet.* 2001;105:464-70.
210. Zhang XN, Ruan LM, Le YP, Zhang Y. [Association analysis between attention-deficit hyperactivity disorder and Val158Met polymorphism of catechol-O-methyltransferase gene]. *Zhonghua Yi.Xue.Yi.Chuan Xue.Za Zhi.* 2003;20:322-4.

211. Castellanos FX, Tannock R. Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes. *Nat.Rev.Neurosci.* 2002;3:617-28.
212. Diamond A, Briand L, Fossella J, Gehlbach L. Genetic and neurochemical modulation of prefrontal cognitive functions in children. *Am.J.Psychiatry* 2004;161:125-32.
213. Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, Levin ED, Jaber M, Caron MG. Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. *Science* 1999;283:397-401.
214. Coleman M. Serotonin concentrations in whole blood of hyperactive children. *J.Pediatr.* 1971;78:985-90.
215. Bhagavan HN, Coleman M, Coursin DB. The effect of pyridoxine hydrochloride on blood serotonin and pyridoxal phosphate contents in hyperactive children. *Pediatrics* 1975;55:437-41.
216. Heffner TG, Seiden LS. Possible involvement of serotonergic neurons in the reduction of locomotor hyperactivity caused by amphetamine in neonatal rats depleted of brain dopamine. *Brain Res.* 1982;244:81-90.
217. Spivak B, Vered Y, Yoran-Hegesh R, Averbuch E, Mester R, Graf E *et al.* Circulatory levels of catecholamines, serotonin and lipids in attention deficit hyperactivity disorder. *Acta Psychiatr.Scand.* 1999;99:300-4.
218. Manor I, Eisenberg J, Tyano S, Sever Y, Cohen H, Ebstein RP *et al.* Family-based association study of the serotonin transporter promoter region polymorphism (5-HTTLPR) in attention deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Med.Genet.* 2001;105:91-5.
219. Seeger G, Schloss P, Schmidt MH. Functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene is associated with severe hyperkinetic disorders. *Mol.Psychiatry* 2001;6:235-8.
220. Retz W, Thome J, Blocher D, Baader M, Rosler M. Association of attention deficit hyperactivity disorder-related psychopathology and personality traits with the serotonin transporter promoter region polymorphism. *Neurosci.Lett.* 2002;319:133-6.
221. Zoroglu SS, Erdal ME, Alasehirli B, Erdal N, Sivasli E, Tutkun H *et al.* Significance of serotonin transporter gene 5-HTTLPR and variable number of tandem repeat polymorphism in attention deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychobiology* 2002;45:176-81.
222. Beitchman JH, Davidge KM, Kennedy JL, Atkinson L, Lee V, Shapiro S *et al.* The serotonin transporter gene in aggressive children with and without ADHD and nonaggressive matched controls. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2003;1008:248-51.
223. Langley K, Payton A, Hamshere ML, Pay HM, Lawson DC, Turic D *et al.* No evidence of association of two 5HT transporter gene polymorphisms and attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatr.Genet.* 2003;13:107-10.
224. Johann M, Bobbe G, Putzhammer A, Wodarz N. Comorbidity of alcohol dependence with attention-deficit hyperactivity disorder: differences in phenotype with increased severity of the substance disorder, but not in

- genotype (serotonin transporter and 5-hydroxytryptamine-2c receptor). *Alcohol Clin.Exp.Res.* 2003;27:1527-34.
225. Kent L, Doerry U, Hardy E, Parmar R, Gingell K, Hawi Z *et al.* Evidence that variation at the serotonin transporter gene influences susceptibility to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): analysis and pooled analysis. *Mol.Psychiatry* 2002;7:908-12.
 226. Rowe DC, Stever C, Giedinghagen LN, Gard JM, Cleveland HH, Terris ST *et al.* Dopamine DRD4 receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Mol.Psychiatry* 1998;3:419-26.
 227. Rowe DC, Stever C, Chase D, Sherman S, Abramowitz A, Waldman ID. Two dopamine genes related to reports of childhood retrospective inattention and conduct disorder symptoms. *Mol.Psychiatry* 2001;6:429-33.
 228. McCracken JT, Smalley SL, McGough JJ, Crawford L, Del'Homme M, Cantor RM *et al.* Evidence for linkage of a tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol.Psychiatry* 2000;5:531-6.
 229. Swanson J, Oosterlaan J, Murias M, Schuck S, Flodman P, Spence MA *et al.* Attention deficit/hyperactivity disorder children with a 7-repeat allele of the dopamine receptor D4 gene have extreme behavior but normal performance on critical neuropsychological tests of attention. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2000;97:4754-9.
 230. Todd RD, Lobos EA, Sun LW, Neuman RJ. Mutational analysis of the nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit gene in attention deficit/hyperactivity disorder: evidence for association of an intronic polymorphism with attention problems. *Mol.Psychiatry* 2003;8:103-8.
 231. Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde LA, Hutz MH. Futher evidence of involvement of alpha 2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional score of ADHD. *Submetido.*
 232. Curran S, Mill J, Tahir E, Kent L, Richards S, Gould A *et al.* Association study of a dopamine transporter polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in UK and Turkish samples. *Mol.Psychiatry* 2001;6:425-8.
 233. Todd RD, Rasmussen ER, Neuman RJ, Reich W, Hudziak JJ, Bucholz KK *et al.* Familiality and heritability of subtypes of attention deficit hyperactivity disorder in a population sample of adolescent female twins. *Am.J.Psychiatry* 2001;158:1891-8.

**SMOKING DURING PREGNANCY AND ATTENTION DEFICIT/HYPERACTIVITY
DISORDER – PREDOMINANTLY INATTENTIVE SUBTYPE: A CASE-CONTROL
STUDY**

Schmitz M¹, Denardin D¹, Silva TL¹, Pianca TG¹, Hutz MH², Faraone S³, Rohde LA¹

¹ADHD outpatient clinic, Child and Adolescent Psychiatric Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil. ²Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil. ³Department of Psychiatry, Upstate Medical University, New York, USA. Correspondence to: Dr. Luis Augusto Rohde, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Zip code: 90035-003.

This work was partially supported by research grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) (Grant 307780/2004-0) and from Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX, Brazil), Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Also, this study was supported by Eli Lilly Brazil.

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

ABSTRACT

Objective: To investigate the association between attention deficit/hyperactivity disorder – predominantly inattentive subtype (ADHD-I) and prenatal exposure to nicotine.

Methods: In a case-control study, we assessed 100 children and adolescents with ADHD-I and 100 non-ADHD controls. Cases and controls were matched by gender and age. Subjects were screened using teacher reports in the SNAP-IV rating scale in 12 public schools of Porto Alegre, Brazil. Cases and controls were systematically evaluated through structured diagnostic interviews. Prenatal exposure to nicotine was assessed as dichotomic, categorical and discrete variable (number of cigarettes smoked during pregnancy). The potential confounders were evaluated by direct interview with mothers.

Results: In univariate analyses, a significant association between smoking during pregnancy (defined both categorically and dimensionally) and ADHD-I was found. After adjusting for confounders (oppositional defiant disorder and alcohol use during pregnancy), children whose mothers smoked ≥ 10 cigarettes during pregnancy presented an odds ratio significantly higher for ADHD-I than children who were not exposed to nicotine during pregnancy (OR = 3.13; 95%CI = 1.15-8.55). The dimensional analysis showed significantly higher inattention scores in subjects exposed to nicotine during the intrauterine period than in controls after adjusting for confounders regardless the method employed to categorize nicotine use during pregnancy ($p < 0.05$).

Conclusions: ADHD-I seems to be associated with prenatal exposure to nicotine. In a non-clinical sample, we obtained results that concur with previous findings of other studies involving subjects with general ADHD.

Key words: attention deficit/hyperactivity disorder – predominantly inattentive subtype, inattention, pregnancy, nicotine, tobacco, cigarette.

INTRODUCTION

Attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most common mental disorders affecting children and adolescents with an estimate prevalence ranging from 3 to 10%¹⁻³. The estimative cost of ADHD in the US reaches approximately US\$ 30 billion a year⁴. The causes of ADHD remain unclear, but both genetic and environmental factors have been suggested as risk^{5,6}.

Smoking during pregnancy is one of the environmental factors that have been associated with ADHD. Smoking rates had a significant reduction among pregnant women over the last decades but the estimate percentage of pregnant women who still smoke every day is approximately 20%⁷. Prenatal exposure to nicotine may cause neurodevelopmental and neurobehavioral problems⁸. For instance, deficits in intellectual ability⁹ and impulsive behavior¹⁰ have been reported in infants and older children who were exposed to nicotine during the intrauterine period.

Several studies have demonstrated differences in social, academic and behavioral functioning between the ADHD subtypes¹¹⁻¹⁴, and most of these studies involved basically clinical samples¹⁵⁻¹⁹. These studies consistently found that the ADHD subtypes have different impairment patterns according to the dimensions of the symptoms presented²⁰ and many authors agree that the greatest differences can be found between the inattentive subtype and the other subtypes²¹⁻²³. For instance, most studies concluded that ADHD without conduct disorder (CD) does not increase the risk for drug abuse^{24;25}. However, this finding does not seem to be valid for the inattentive subtype. Flory et al²⁶ assessed 481 young adults and found that the presence of inattention and CD symptoms interacted to predict drug use and dependence. In addition, in a recent study, Woo & Rey²⁷ stated that the inattentive type is the most common subtype of ADHD, accounting for about half of the cases.

The studies on smoking during pregnancy and ADHD found contradictory results. Two follow-up studies using DSM III criteria for the disorder and retrospective data collection about smoking during pregnancy presented negative results^{28;29}. Other

two cohort studies used the DSM III R criteria for ADHD diagnosis and also did not find positive association^{10;30}. In a prospective population-based study, smoking during pregnancy was associated with conduct disorder but there was no association with ADHD³¹. Furthermore, a recent assessment of 1,936 pairs of twin siblings did not show the above mentioned association³². On the other hand, Milberger et al^{33;34} found a 2.7 higher risk for ADHD associated with maternal smoking in a case-control study. The results of Mick et al's study³⁵, based on the reanalysis of Milberger et al's data^{33;34} and supplemented with data from a sample of girls, showed a lower odds ratio of 2.1. In a population-based study including more than 1,400 pairs of twin siblings, Thapar et al³⁶ found an association between smoking during pregnancy and ADHD symptoms in the offspring. Therefore, it seems unclear if smoking during pregnancy is associated with the clinical diagnosis of ADHD, especially regarding non-referred samples. In addition, there are no reports in the literature about the association between the prenatal exposure to nicotine and ADHD — predominantly inattentive subtype.

Studies involving the analysis of the attentional scores (measured by symptom scales or neuropsychological tests) and its association with prenatal exposure to nicotine also found contradictory results. Kristjansson et al³⁷ assessed the dimension of inattention through the use of the Continuous Performance Test. No positive results were found for smoking during pregnancy and inattention scores. Other studies with different methodologies were also not able to find positive findings^{8;38-41}. In addition, a case-control study evaluating inattention symptoms found in a syndrome defined as deficits in attention, motor control, and perception (DAMP) (Nordic nosographic definition with high overlapping with ADHD) did not present association between smoking during pregnancy and attentional problems⁴². However, a negative impact of smoking during pregnancy on the attention was found in some studies⁴³⁻⁴⁵.

Therefore, the objective of this study was to investigate the association between prenatal exposure to nicotine and ADHD-I in a non-clinical sample of children and adolescents. In addition, we performed dimensional analyses to assess the impact of

smoking during pregnancy on scores of inattention. Based on the literature, our hypothesis was that a higher prevalence of smoking during pregnancy would be found specifically in mothers of patients with ADHD-I diagnosis.

METHODS

Subjects

The non-clinical sample of this case-control study was ascertained from 12 public schools of Porto Alegre, Brazil. These schools were selected only due to their location near the our University Hospital. The inclusion criteria were: a) age from 6 to 18 years; b) contact with the biological mother; c) presence of at least four inattention symptoms and at most three hyperactivity/impulsivity symptoms detected by the teacher who best knew the student using a screening scale (SNAP-IV) ⁴⁶. Each positive case selected was matched with a control (same gender and age) that had at most three inattention symptoms and/or three hyperactivity/impulsivity symptoms in the SNAP-IV scale completed by the teacher. The exclusion criteria for cases and controls were estimate IQ lower than 70 and diagnosis of psychosis.

Screening procedure

First, we contacted the schools to obtain the authorization to start the investigation. A child and adolescent psychiatrist gave a lecture for teachers of each school providing information about the research project and ADHD. Research assistants were trained on how to approach teachers and to guide them to complete the screening instrument. Afterwards, research assistants contacted the teachers of the 12 schools requesting the identification of all students with inattention problems. The teachers fulfilled the screening instrument for ADHD (SNAP-IV) for all identified students. Students with positive screening and controls (and their families) were invited to take part in the diagnostic phase of the study.

The project was approved by the Ethical Committee of our University Hospital (approved as an IRB by the Office for Human Research Protections, United States of America - IRB 00000921). Written informed consent was obtained from parents for the assessment of children. Children or adolescents provided verbal assent to participate in the study.

Diagnostic process

The diagnosis of ADHD-I and its co-morbidities were performed in our outpatient clinic by a three stage process: a) evaluation with a semi-structured interview (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version – K-SADS-E)⁴⁷, modified to assess DSM-IV criteria and administered to the parents by trained research assistants. This interview was previously translated into Portuguese and has been used for clinical purposes in national reference centers of Child and Adolescent Psychiatry. The interrater reliability for the ADHD diagnosis was previously assessed (Kappa coefficient = 0.94; $p < 0.001$)⁴⁸; b) discussion of each diagnostic derived from K-SADS-E in a clinical committee chaired by an experienced child and adolescent psychiatrist (LAR); c) clinical evaluation of ADHD-I and comorbid conditions using DSM-IV criteria by a child and adolescent psychiatrist who previously received the results of the K-SADS-E and conducted interviews with the parents and the child or adolescent. In addition, subjects overall functioning was assessed by the CGAS (Clinical Global Assessment Scale)⁴⁹. The CGAS is a widely used measure of child and adolescents global functioning with adequate psychometric properties (test/retest and interrater reliability/concurrent and discriminative validity)⁴⁹. The scale allows scores from 0 to 100. The higher the scores, the better the global functioning⁵⁰.

Confirmed ADHD-I cases presenting or not co-morbidity with other disorders and non-ADHD controls were included in the study. To assure that we are dealing with real ADHD – inattentive type, we only included cases fulfilling DSM-IV criteria for

ADHD inattentive type but presenting at most three symptoms of hyperactivity / impulsivity after this extensive evaluation.

The inattention score of the SNAP-IV scale was used in the dimensional analyses of inattention. The SNAP-IV scale is a review of the Swanson, Nolan and Pelham (SNAP) Questionnaire ⁴⁶. The instrument has four subscales (Total Scores – 26 items, Inattention – 9 items, Hyperactivity/Impulsivity – 9 items, and Oppositional – 8 items). The SNAP-IV is based on a scale from 0 to 3 and has been frequently used in ADHD investigations, including those designed to assess clinical interventions ⁴⁶. The internal consistency of the SNAP-IV seems to vary from good to excellent ⁵¹. In a previous study we obtained a Cronbach's alpha coefficient of 0.74 for the complete scale (26 items) in a different sample ⁵². The scale was completed by the subjects' parents.

The IQ score was obtained by Vocabulary and Block Design subtests of the Wechsler Intelligence Scale – Third Edition (WISC III) ⁵³ administered by trained psychologists.

The flow chart of the patients' participation in the study is shown in figure 1.

INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE

Study factor, demographic variables and confounders

Study factor. The study factor (smoking during pregnancy) was assessed with the biologic mother through a specific questionnaire designed for this study. The study factor was defined by three different methods: dichotomic, categorical (non-smoker, 1 to 9 cigarettes/day, ≥ 10 cigarettes/day) and discrete (number of cigarettes/day) definitions. The categorical approach was based on definitions used in previous studies on the association between smoking and either ADHD ^{10;45} or other medical conditions such as cardiovascular diseases ⁵⁴.

Demographic variables and confounders. Some demographic variables (age, gender, ethnicity, and schooling), and possible confounders (alcohol use during

pregnancy, maternal age and infant birth weight) were assessed with the caretakers and/or the biological mother through a specific questionnaire designed for this study. Socioeconomic status (SES) was defined by the socioeconomic scale of *Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado*⁵⁵. Comorbidity was evaluated through an extensive clinical assessment (see above). Parental ADHD was assessed by a child and adolescent psychiatrist using the ADHD module of the K-SADS-E, modified to assess DSM IV criteria. This strategy was used in several previous studies^{56,57}.

Data analysis

To compare patients with ADHD-I to their non-ADHD controls regarding demographic, clinical variables and the exposure to smoking during pregnancy, we used conditional logistic regression analysis⁵⁸. Potential confounders were defined based on conceptual analyses of the literature and/or using a broad statistical definition (association with both the study factor and outcome for a $p \leq 0.20$). This approach assured very conservative analyses.

Afterwards, we re-assessed differences between cases and controls for smoking during pregnancy adjusting for potential confounders using again conditional logistic regression analysis. For the purpose of these analyses, we used the categorical definition of the study factor.

In dimensional analyses, the ANOVA was used to assess the impact of smoking during pregnancy on attentional scores of the SNAP-IV subscale. Potential confounders were defined as mentioned above and included in the analyses. When exposure to nicotine during pregnancy was defined categorically (3 groups), a post-hoc test (Tukey test) was used to detect differences between groups. The significance level was 5%.

RESULTS

The sample comprised 100 subjects with ADHD-I and 100 non-ADHD controls. Subjects' demographic and clinical characteristics are shown in Table 1. The comparison between the two groups revealed significant differences regarding the maternal diagnosis of ADHD ($p < 0.001$), estimated IQ ($p = 0.002$), presence of ODD (oppositional defiant disorder) ($p = 0.001$), GAD (generalized anxiety disorder) ($p = 0.05$) and SP (social phobia) ($p = 0.004$) (see Table 1).

INSERT TABLE 1 ABOUT HERE

The univariate analysis demonstrated a significantly higher number of cigarettes smoked per day during pregnancy for mothers of subjects with ADHD-I ($p = 0.017$; OR = 1.07; CI = 1.01-1.14). The analysis of the proportion of smoking/non-smoking mothers (dichotomous analysis) did not reveal a significant difference between the cases (29% of smoking mothers) and controls (19% of smoking mothers). When stratification of the amount of cigarettes smoked per day during pregnancy was performed, a statistically significant difference between cases and controls emerged. The proportion of mothers of the ADHD-I group who smoked more than 10 cigarettes per day during pregnancy was significantly higher than the one of the controls' mothers ($p = 0.014$; OR = 3.19; CI = 1.27-8.04) (see Figure 2).

INSERT FIGURE 2 ABOUT HERE

The diagnosis of ODD and use of alcohol during pregnancy were considered potential confounders. The other variables were not associated with both the study factor and outcome for a $p \leq 0.20$. The conditional logistic regression demonstrated that the cases had a significantly higher prenatal exposure to nicotine than controls (see table 2) even after adjusting for these confounders (OR = 3.13; CI = 1.15-8.55).

INSERT TABLE 2 ABOUT HERE

Dimensional analyses also documented positive significant results. In these analyses, we considered as potential confounders the following variables: ODD, use of alcohol during pregnancy and conduct disorder, since these variables were associated both with the outcome (dimensional scores of inattention) and the study factor ($p < 0.20$). In ANOVA, the amount of cigarettes smoked per day during pregnancy was significantly associated with inattentive scores even adjusting for potential confounders ($F = 4.34$; $p = 0.014$). The greatest difference was found between those subjects whose mothers smoked ≥ 10 cigarettes per day and those subjects whose mothers did not smoke (Tukey, $p = 0.001$). There was also a significant difference between the two strata of smoking during pregnancy (≥ 10 cigarettes vs. 0 to 9 cigarettes) (Tukey, $p = 0.04$).

DISCUSSION

We investigated the association between prenatal exposure to nicotine and the diagnosis of ADHD-I in a non-referred sample comprising female and male children and adolescents. Significant differences between cases and controls regarding the amount of cigarettes smoked per day during pregnancy were found. The results were also significant in dimensional analyses. The multivariate analysis, after adjusting for confounders, demonstrated an odds ratio 3.13 times higher for ADHD-I in children whose mothers smoked ≥ 10 cigarettes a day during pregnancy compared to children whose mother did not smoke during pregnancy.

There is controversy in the literature on this issue. Many studies have reported negative results for the association of ADHD and smoking during pregnancy. Four follow-up studies that classified ADHD according to DSM criteria and performed a retrospective data collection on maternal smoking during pregnancy did not find such association^{10;28-30}. Maughan et al³¹, in a prospective population-based study, found an

association between smoking during pregnancy and CD, but the association with ADHD symptoms was not evidenced. Recently, Knopik et al ³² studied 1,936 pairs of twin siblings and found that the risk for ADHD was not significantly increased in subjects whose mothers smoked during pregnancy. Clinical studies that specifically focused on the assessment of the association between attentional score (not only ADHD) and smoking during pregnancy have also found negative results. Fried et al ³⁹ studied a cohort of 126 children. They evaluated inattention through neuropsychological tests and Conners' scale and did not demonstrate such association. Landgren et al ⁴² performed a case-control population-based study and did not find an association between smoking during pregnancy and attentional problems. More recently, Cornelius et al ⁸ carried out a well-designed prospective study with a sample of 593 children and also did not find this association. However, some previous studies presented results consistent with those shown in this study, both regarding general ADHD ³³⁻³⁵ and the dimensional analysis of attentional scores (in symptoms scales or neuropsychological tests) ⁴³⁻⁴⁵. Therefore, our results concur with these previous positive findings. Based on our review of the literature, these are the first results that suggest the association between smoking during pregnancy and ADHD in a non-referred sample including only subjects with ADHD-I.

Perinatal factors, maternal age, maternal history of ADHD and presence of co-morbidities have also been associated with ADHD. Prenatal exposure to alcohol and ADHD has been evidenced in some studies. Aronson et al ⁵⁹ found a high prevalence of ADHD in a small group of children of alcoholic mothers. More recently, Mick et al ³⁵, in a controlled study, found an increased risk for ADHD in children of mothers with history of alcohol use during pregnancy. Conduct disorder was also associated with smoking during pregnancy in previous studies ^{10;60}. Therefore, the contradictory results found in the literature about the association between smoking and ADHD might be related to problems in controlling these potential confounders. In our study, all these potential confounders were considered in analyses reinforcing the specific role of

smoking during pregnancy in ADHD-I.

Animal studies assessing the impact of nicotine exposure in the brain have demonstrated brain and behavioral abnormalities consistent with the studies in humans with ADHD. Reduction in the cerebral blood flow and in the brain weight in fetuses exposed to nicotine ⁶¹, smaller head circumference in the offspring of “smoking mothers” ⁶² and structural abnormalities and retardation in the neural maturation ⁶³ in rats exposed to nicotine are some examples. In addition, animal studies suggest that prenatal exposure to nicotine can cause hyperactivity symptoms in the offspring ⁶⁴ and that these are long-lasting effects ⁶⁵. Their mechanisms might be related to the modulation of the dopaminergic system and to an increase of the number of nicotinic receptors ^{66;67}.

Nicotine is the main psychoactive substance of tobacco and possibly compromises the development of neurotransmitter systems by different ways. First, its vasoconstrictor effect increases maternal blood pressure and heart rate, resulting in a reduction of uterine blood flow and also in a lower level of oxygen in the fetus brain ⁶⁸. It is well known that prenatal hypoxia produces alterations in neurotransmitter development in rats ⁶⁹. Also, nicotine interferes in the cell replication, one of the most critical stages of fetal development that ends when cell differentiation begins ⁷⁰. According to the hypothesis of Slotkin et al ⁷¹, fetal exposure to nicotine results in a premature switch from replication to differentiation of the target cells of cholinergic stimulation, causing very damage consequences to the future synaptic connections. There is evidence of a predominantly presynaptic site for nicotine receptors in the central nervous system, which is consistent with a modulatory role in neurotransmitter release. Some studies indicate that the nicotine receptors enhance the presynaptic release of dopamine, noradrenaline and serotonin ⁷⁰. Therefore, prenatal exposure to nicotine probably has direct effects in these systems, as well. The disruptions in the development of catecholaminergic systems may explain the increased incidence of ADHD in individuals prenatally exposed to nicotine, given the role of catecholamines in

this disorder⁷². Interestingly, several studies have reported reductions in the size of the cerebral structures in humans associated with the diagnosis of ADHD^{73;74}. Therefore, the association between smoking during pregnancy and ADHD-I demonstrated in this study supports the search for pathophysiological mechanisms that might explain the neurobiological bases of such disorder.

Strengths of the study

The strengths of this study are: a) the sample is comprised of non-referred subjects making it more representative of the population; b) the sample includes only subjects with ADHD – predominantly inattentive subtype. This is a step forward in the ADHD research field due to the shortage of studies specifically focused on this subtype. Furthermore, it is important to highlight that the diagnosis was obtained through an extensive clinic evaluation performed by a child and adolescent psychiatrist, instead of being derived from scores of self-reported scales of symptoms, which is a limitation in some studies. In addition, only subjects with at most three symptoms of hyperactivity were included suggesting that the sample includes subjects that represent real subjects with ADHD - inattentive subtype (e.g., samples including subjects with six or more inattentive symptoms and four or five hyperactive/impulsive symptoms might have higher chances of including subthreshold ADHD combined cases instead of real inattentive cases); c) our sample size was moderate reducing chances of Type II error; d) Finally, the results of this study were presented in the context of conservative statistical analyses, since a more broader criterion for the inclusion of variables as potential confounders was considered, and the main confounders described in the literature were included in the analyses.

Limitations of the study

The results reported in this study must be analyzed in the context of some methodological limitations. Since we performed a retrospective assessment of the

exposure to nicotine during pregnancy, findings are subjected to recall bias (e.g., subjects' mothers might have provided information with a different pattern from the controls' mothers). However, it is not possible to define the direction of this bias. Mothers of patients with ADHD can be motivated to find a cause for their child's problem and, therefore, they could have tried harder to recall more detailed information on the study factor. On the other hand, the same mothers might feel guilty for the use of cigarettes during pregnancy and try to minimize the fact. In fact, there is data in the literature suggesting that mothers are likely to minimize the report of complications occurred during pregnancy and the neonatal period ⁷⁵. However, it is important to note that previous studies have suggested that the validity of the past information on smoking is approximately 90% ^{76;77}. Other potential source of bias is the fact that the interviewers who assessed the amount of cigarettes smoked during pregnancy were not blind to the clinical outcome. Although, it is important to highlight that the interviewers did not know the objectives and hypotheses of the study. It is important to reinforce that there was no difference between cases and controls in other variables (alcohol use during pregnancy and infant birth weight) that could also be associated with ADHD. Thus, it seems unlikely that interviewers have been biased only regarding the smoking during pregnancy.

Clinical implications

In short, our results suggest that there is an association between ADHD-I and smoking during pregnancy. Our results reinforce findings from previous studies with clinical samples including all types of ADHD (mainly combined subtype). As far as we are aware, this study is the first focused on extensively assessed subjects with ADHD inattentive subtype from a non-referred sample. Considering that smoking during pregnancy can be prevented, if future prospective studies are able to determine that this relationship is causal, strategies in terms of public health must be taken focusing in counseling pregnant women on the long term cognitive risks of smoking during

pregnancy for their children. In addition, studies assessing the impact of gene-environment interactions should be performed to estimate the effects of intra-uterine nicotine exposure according to different genetic vulnerability.

Reference List

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed). Washington DC American Psychiatric Press. 1994.
2. Faraone SV, Sergeant JA, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003;2(2):104-13.
3. 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* 1999;38:716-22.
4. Birnbaum HG, Kessler RC, Lowe SW, Secnik K, Greenberg PE, Leong SA *et al.* Costs of attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD) in the US: excess costs of persons with ADHD and their family members in 2000. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(2):195-206.
5. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA *et al.* Molecular Genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder • REVIEW ARTICLE. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1313-23.
6. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Guite J, Tsuang MT. Pregnancy, delivery and infancy complications and attention deficit hyperactivity disorder: issues of gene-environment interaction. *Biol.Psychiatry* 1997;41:65-75.
7. Kvale K, Glysch RL, Gothard M, Aakko E, Remington P. Trends in smoking during pregnancy, Wisconsin 1990 to 1996. *WMJ.* 2000;99:63-7.
8. Cornelius MD, Ryan CM, Day NL, Goldschmidt L, Willford JA. Prenatal tobacco effects on neuropsychological outcomes among preadolescents. *J.Dev.Behav.Pediatr.* 2001;22:217-25.
9. Eskenazi B, Castorina R. Association of prenatal maternal or postnatal child environmental tobacco smoke exposure and neurodevelopmental and behavioral problems in children. *Environ.Health Perspect.* 1999;107:991-1000.
10. Weissman MM, Warner V, Wickramaratne PJ, Kandel DB. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:892-9.
11. Gaub M, Carlson CL. Behavioral characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1997;25:103-11.
12. Marshall RM, Hynd GW, Handwerk MJ, Hall J. Academic underachievement in ADHD subtypes. *J.Learn.Disabil.* 1997;30:635-42.
13. Parternite CE, Loney J, Roberts MA. A preliminary validation of subtypes of DSM-V attention deficit hyperactivity disorder. *J.Attention Disorders* 1996;1:70-86.
14. Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J. Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:319-24.

15. Eiraldi RB, Power TJ, Nezu CM. Patterns of comorbidity associated with subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder among 6- to 12-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:503-14.
16. Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL. Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:185-93.
17. Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW *et al.* DSM-IV field trials for attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Am.J.Psychiatry* 1994;151:1673-85.
18. Lahey BB, Pelham WE, Stein MA, Loney J, Trapani C, Nugent K *et al.* Validity of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder for younger children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:695-702.
19. McBurnett K, Pfiffner LJ, Willcutt E, Tamm L, Lerner M, Ottolini YL *et al.* Experimental cross-validation of DSM-IV types of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:17-24.
20. McBurnett K, Lahey BB, Rathouz PJ, Loeber R. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Arch.Gen.Psychiatry* 2000;57:38-43.
21. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:4-16.
22. Brito GN, Pereira CC, Santos-Morales TR. Behavioral and neuropsychological correlates of hyperactivity and inattention in Brazilian school children. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:732-9.
23. Gansler DA, Fucetola R, Krengel M, Stetson S, Zimering R, Makary C. Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1998;186:776-81.
24. Disney ER, Elkins IJ, McGue M, Iacono WG. Effects of ADHD, conduct disorder, and gender on substance use and abuse in adolescence. *Am.J.Psychiatry* 1999;156:1515-21.
25. Lynskey MT, Fergusson DM. Childhood conduct problems, attention deficit behaviors, and adolescent alcohol, tobacco, and illicit drug use. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1995;23:281-302.
26. Flory K, Milich R, Lynam DR, Leukefeld C, Clayton R. Relation between childhood disruptive behavior disorders and substance use and dependence symptoms in young adulthood: individuals with symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder are uniquely at risk. *Psychol.Addict.Behav.* 2003;17:151-8.
27. Woo BS, Rey JM. The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 2005;39:344-53.
28. Hill SY, Lowers L, Locke-Wellman J, Shen SA. Maternal smoking and drinking during pregnancy and the risk for child and adolescent psychiatric disorders. *J.Stud.Alcohol* 2000;61:661-8.

29. McGee R, Stanton WR. Smoking in pregnancy and child development to age 9 years. *J.Paediatr.Child Health* 1994;30:263-8.
30. Wakschlag LS, Lahey BB, Loeber R, Green SM, Gordon RA, Leventhal BL. Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorder in boys. *Arch.Gen.Psychiatry* 1997;54:670-6.
31. Maughan B, Taylor C, Taylor A, Butler N, Bynner J. Pregnancy smoking and childhood conduct problems: a causal association? *J.Child Psychol.Psychiatry* 2001;42:1021-8.
32. Knopik VS, Sparrow EP, Madden PA, Bucholz KK, Hudziak JJ, Reich W *et al.* Contributins of paternal alcoholism, prenatal substance expouse, and genetic transmission to child ADHD risk: a female twin study. *Psychological Medicine* 35:5, 625-635. 2005.
33. 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* 1996;153:1138-42.
34. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Jones J. Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings. *J.Clin.Child Psychol.* 1998;27:352-8.
35. Mick E, Biederman J, Faraone SV, Sayer J, Kleinman S. Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:378-85.
36. Thapar A, Fowler T, Rice F, Scourfield J, van den BM, Thomas H *et al.* Maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. *Am.J.Psychiatry* 2003;160:1985-9.
37. Kristjansson EA, Fried PA, Watkinson B. Maternal smoking during pregnancy affects children's vigilance performance. *Drug Alcohol Depend.* 1989;24:11-9.
38. Bor W, Najman JM, Andersen MJ, O'Callaghan M, Williams GM, Behrens BC. The relationship between low family income and psychological disturbance in young children: an Australian longitudinal study. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1997;31:664-75.
39. Fried PA, Watkinson B, Gray R. A follow-up study of attentional behavior in 6-year-old children exposed prenatally to marihuana, cigarettes, and alcohol. *Neurotoxicol.Teratol.* 1992;14:299-311.
40. O'Callaghan MJ, Harvey JM. Biological predictors and co-morbidity of attention deficit and hyperactivity disorder in extremely low birthweight infants at school. *J.Paediatr.Child Health* 1997;33:491-6.
41. Williams GM, O'Callaghan M, Najman JM, Bor W, Andersen MJ, Richards D *et al.* Maternal cigarette smoking and child psychiatric morbidity: a longitudinal study. *Pediatrics* 1998;102:e11.

42. Landgren M, Kjellman B, Gillberg C. Attention deficit disorder with developmental coordination disorders. *Arch.Dis.Child* 1998;79:207-12.
43. Batstra L, Hadders-Algra M, Neeleman J. Effect of antenatal exposure to maternal smoking on behavioural problems and academic achievement in childhood: prospective evidence from a Dutch birth cohort. *Early Hum.Dev.* 2003;75:21-33.
44. Fergusson DM, Lynskey MT, Horwood LJ. Conduct problems and attention deficit behaviour in middle childhood and cannabis use by age 15. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1993;27:673-82.
45. Leech SL, Richardson GA, Goldschmidt L, Day NL. Prenatal substance exposure: effects on attention and impulsivity of 6-year-olds. *Neurotoxicol.Teratol.* 1999;21:109-18.
46. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB *et al.* Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:168-79.
47. Orvaschel H. Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents. *Psychopharmacol.Bull.* 1985;21:737-45.
48. Polanczyk GV, Eizirik M, Aranovich V, Denardin D, da Silva TL, da Conceicao TV *et al.* Interrater agreement for the schedule for affective disorders and schizophrenia epidemiological version for school-age children (K-SADS-E). *Rev.Bras.Psiquiatr.* 2003;25:87-90.
49. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H *et al.* A children's global assessment scale (CGAS). *Arch.Gen.Psychiatry* 1983;40:1228-31.
50. Green B, Shirk S, Hanze D, Wanstrath J. The Children's Global Assessment Scale in clinical practice: an empirical evaluation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1994;33:1158-64.
51. Stevens J, Quittner AL, Abikoff H. Factors influencing elementary school teachers' ratings of ADHD and ODD behaviors. *J.Clin.Child Psychol.* 1998;27:406-14.
52. Correia-Filho A, Bodanese R, Silva T, Alvares J, Aman M, Rohde LA. Comparison of risperidone and methylphenidate for reducing ADHD symptoms in children and adolescents with moderate mental retardation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2005;44(8), in press.
53. Wechsler D. WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation, 1991.
54. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
55. Galduróz JCF, Noto AR, Carlini EA, IV. Levantamento sobre o uso de drogas entre estudantes de primeiro e segundo grau em dez capitais brasileiras. São Paulo: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 1997.

56. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;120:116-20.
57. Biederman J, Faraone SV, Monuteaux MC, Bober M, Cadogen E. Gender effects on attention-deficit/hyperactivity disorder in adults, revisited. *Biol.Psychiatry* 2004;55:692-700.
58. Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2000.
59. Aronson M, Hagberg B, Gillberg C. Attention deficits and autistic spectrum problems in children exposed to alcohol during gestation: a follow-up study. *Dev.Med Child Neurol.* 1997;39:583-7.
60. Fergusson DM, Woodward LJ, Horwood LJ. Maternal smoking during pregnancy and psychiatric adjustment in late adolescence. *Arch.Gen.Psychiatry* 1998;55:721-7.
61. Walker A, Rosenberg M, Balaban-Gil K. Neurodevelopmental and neurobehavioral sequelae of selected substances of abuse and psychiatric medications in utero. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 1999;8:845-67.
62. Källen K. Maternal smoking during pregnancy and infant head circumference at birth. *Early Hum.Dev.* 2000;58:204.
63. Roy TS, Seidler FJ, Slotkin TA. Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2002;300:124-33.
64. Eriksson P, Ankarberg E, Fredriksson A. Exposure to nicotine during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain nicotinic receptors and in behaviour of adult mice. *Brain Res.* 2000;853:41-8.
65. Ajarem JS, Ahmad M. Prenatal nicotine exposure modifies behavior of mice through early development. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 1998;59:313-8.
66. Marks MJ, Farnham DA, Grady SR, Collins AC. Nicotinic receptor function determined by stimulation of rubidium efflux from mouse brain synaptosomes. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 1993;264:542-52.
67. Slotkin TA, Lappi SE, Seidler FJ. Impact of fetal nicotine exposure on development of rat brain regions: critical sensitive periods or effects of withdrawal? *Brain Res.Bull.* 1993;31:319-28.
68. Salafia C, Shiverick K. Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects. *Placenta* 1999;20:273-9.
69. Oliff HS, Gallardo KA. The effect of nicotine on developing brain catecholamine systems. *Front Biosci.* 1999;4:D883-D897.
70. Ernst M, Moolchan ET, Robinson ML. Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:630-41.

71. Slotkin TA, Cho H, Whitmore WL. Effects of prenatal nicotine exposure on neuronal development: selective actions on central and peripheral catecholaminergic pathways. *Brain Res Bull.* 1987;18:601-11.
72. Schweitzer J, Anderson C, Ernst M. Attention deficit hyperactivity disorder: neuroimaging and behavioral/cognitive probes. In Ernst M, Rumsey JM, eds. *Functional Neuroimaging in Child Psychiatry*, pp 278-97. Cambridge, England: Cambridge University Press, 2000.
73. Castellanos FX, Tannock R. Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes. *Nat.Rev.Neurosci.* 2002;3:617-28.
74. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1215-20.
75. Buka SL, Goldstein JM, Seidman LJ, Tsuang MT. Maternal recall of pregnancy history: accuracy and bias in schizophrenia research. *Schizophr.Bull.* 2000;26:335-50.
76. Krall EA, Valadian I, Dwyer JT, Gardner J. Accuracy of recalled smoking data. *Am.J.Public Health* 1989;79:200-2.
77. Persson PG, Norell SE. Retrospective versus original information on cigarette smoking. Implications for epidemiologic studies. *Am.J.Epidemiol.* 1989;130:705-12.

Figure 1. Flow chart of the patients' participation.

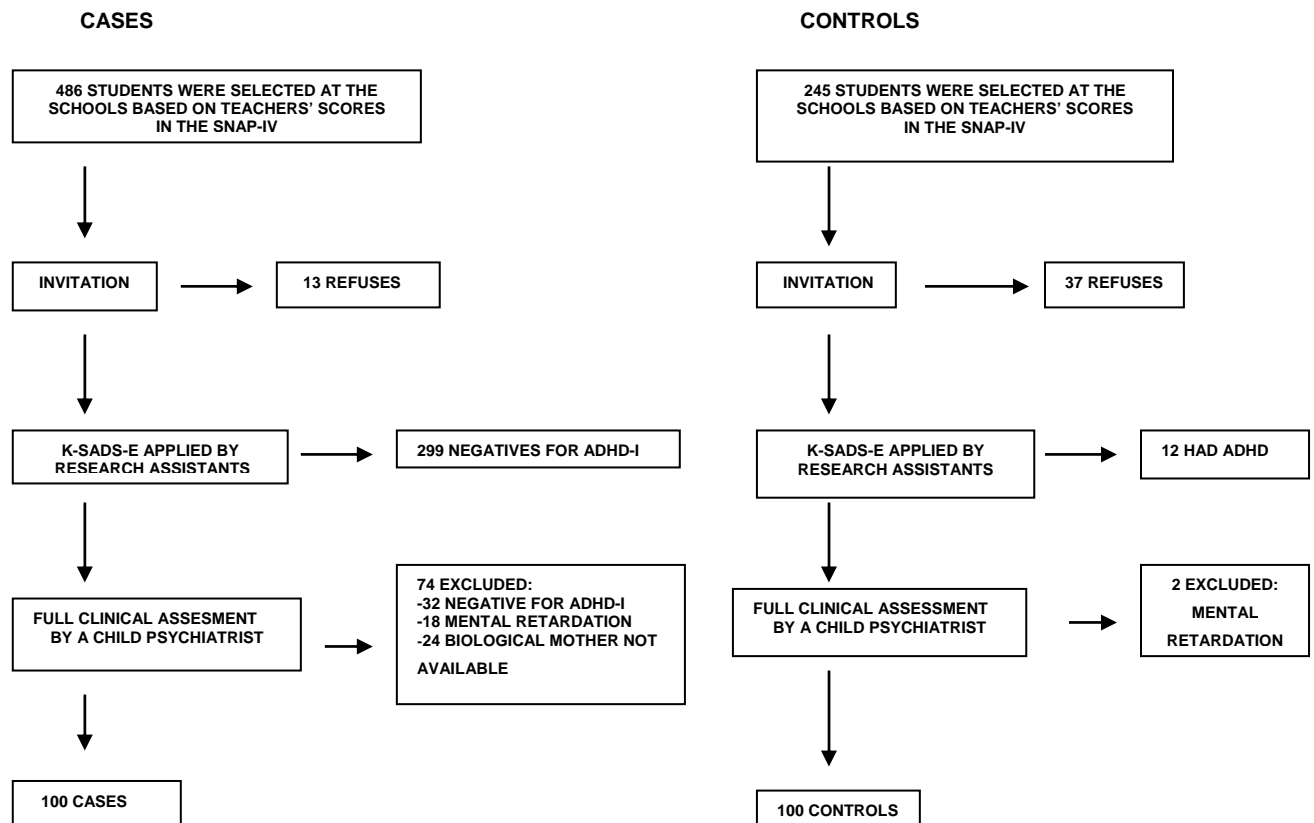


Table 1. Demographic and clinical characteristics of cases with ADHD-I (n = 100) and controls (n = 100)

Characteristic	ADHD-I	Controls	<i>p</i> value
Average age (SD), months	142 (39.5)	140 (38.5)	0.72
Gender (male), %	68	68	1
Ethnicity (Caucasian), %	62	73	0.13
Average schooling (SD), years	4.4 (2.7)	4.7 (3)	0.12
SES (middle class), %	49	56	0.13
Maternal ADHD, %	28	3	< 0.001
Average estimate IQ (SD)	94 (11)	99.3 (11.4)	0.001
Alcohol use in pregnancy, %	9	4	0.2
Average birth weight (SD), kg	3.32 (0.6)	3.29 (0.6)	0.74
Average maternal age			
at delivery (SD), years	27 (6.5)	27.6 (6.7)	0.53
Co-morbidities, %			
Mood disorders			
Major depression	4	1	0.25
Dysthymia	4	1	0.22
Anxiety disorders			
Simple phobia	21	19	0.69
GAD	14	5	0.05
SAD	8	3	0.18
Social phobia	21	5	0.004
Agoraphobia	11	5	0.1
Disruptive behavior disorders			
ODD	38	14	0.001
CD	2	1	0.57

ADHD-I: attention deficit/hyperactivity disorder - inattentive type; SD: standard deviation; NS: non-significant; SES: socioeconomic status; GAD: generalized anxiety disorder; SAD: separation anxiety disorder; ODD: oppositional defiant disorder; CD: conduct disorder.

Figure 2. Level of smoking during pregnancy

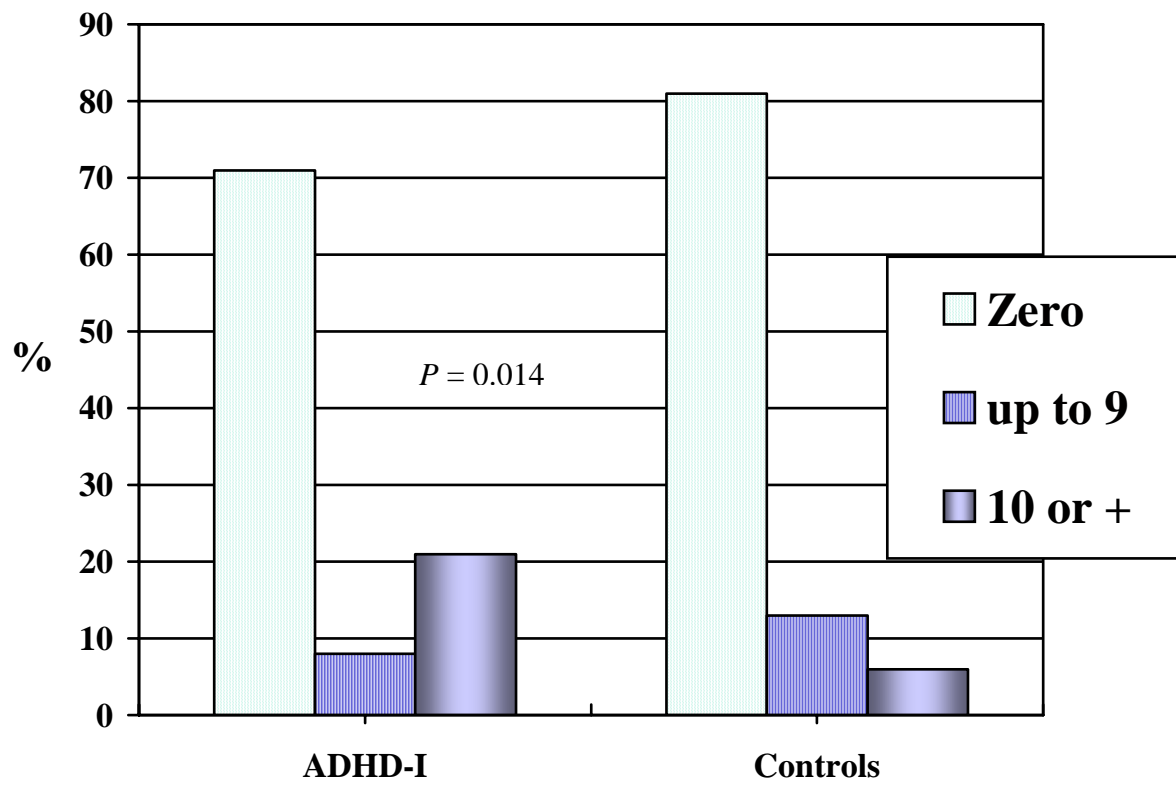


Table 2. Odds ratio (OR) for ADHD-I according to smoking during pregnancy, adjusted for potential confounders

	Wald χ^2	<i>p</i> value	OR	95%CI
Alcohol use during pregnancy	0.85	0.36	2.05	0.45-9.4
ODD	10.84	0.001	3.66	1.69-7.93
Smoking during pregnancy				
0 cigarettes per day	7.02	0.03	-----	-----
Up to 9 cigarettes a day	1.24	0.27	0.55	0.19-1.58
≥ 10 cigarettes a day	4.95	0.026	3.13	1.15-8.55

ADHD-I: attention deficit/hyperactivity disorder – predominantly inattentive subtype; CI: confidence interval; ODD: oppositional defiant disorder.

**FUMO NA GESTAÇÃO E TRANSTORNO DE DÉFICIT DE
ATENÇÃO/HIPERATIVIDADE–SUBTIPOCOM PREDOMÍNIO DE
DESATENÇÃO: ESTUDO DE CASO-CONTROLE**

Schmitz M¹, Denardin D¹, Silva TL¹, Pianca TG¹, Hutz MH², Faraone S³, Rohde LA¹

¹Programa de Déficit de Atenção/Hiperatividade – PRODAH, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. ²Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. ³Departamento de Psiquiatria, Upstate Medical University, Nova Iorque, EUA. Correspondência: Dr Luis Augusto Rohde Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Brasil, CEP 90035-003.

Este projeto teve o apoio financeiro através de verbas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (307780/2004-0), do Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da companhia farmacêutica Eli Lilly do Brasil Ltda.

Conflitos de Interesse: O PRODAH recebe apoio financeiro para projetos de pesquisa das seguintes companhias farmacêuticas: Bristol-Myers Squibb, Eli Lilly, Janssen-Cilag e Novartis. O Dr. Rohde é palestrante ou consultor para as mesmas companhias. O Dr. Schmitz é palestrante para Novartis e Janssen-Cilag. O Dr. Faraone recebe apoio financeiro para projetos de pesquisa das seguintes fontes: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Shire Laboratories, Eli Lilly & Company, NIMIH, NICHD e National Institute of Neurological Diseases and Stroke. O Dr. Faraone é palestrante para Eli Lilly & Company, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals e Shire Laboratories. O Dr. Faraone também mantém relação como consultor ou assessor das seguintes companhias farmacêuticas: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Noven Pharmaceuticals, Shire Laboratories e Eli Lilly & Company.

RESUMO

Objetivo: Verificar a associação entre o transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção (TDAH-D) e a exposição à nicotina no período intra-útero.

Metodologia: Neste estudo de caso-controle, foram avaliadas 100 crianças e adolescentes com TDAH-D e 100 controles sem TDAH, pareados por sexo e idade, triados através de escala de sintomas (SNAP-IV) em 12 escolas da rede pública estadual de Porto Alegre. Casos e controles foram avaliados sistematicamente com entrevistas diagnósticas estruturadas. Exposição à nicotina no período intra-útero foi avaliada como variável dicotômica, categórica e discreta (número de cigarros fumados durante a gestação). As variáveis potenciais de confusão foram avaliadas por entrevista direta com a mãe.

Resultados: Nas análises univariadas, observou-se uma associação significativa entre fumo na gestação (definido tanto de forma categórica como dimensional) e TDAH-D. Após ajuste para os confundidores (transtorno oposicional desafiante e uso de álcool na gestação), as crianças cujas mães fumaram 10 ou mais cigarros durante a gestação apresentaram uma razão de chance significativamente maior de TDAH-D do que as crianças não expostas à nicotina na gravidez (RC = 3,13; IC_{95%} = 1,15-8,55). Na análise dimensional, os níveis de desatenção foram significativamente maiores nos indivíduos expostos à nicotina intra-útero do que nos controles após ajuste para as variáveis de confusão independentemente da forma de avaliação do fator em estudo ($p < 0,05$).

Conclusões: O TDAH-D parece ser um desfecho associado à exposição à nicotina durante a gravidez. Estes dados, em uma amostra não clínica, reforçam achados prévios de outros estudos com sujeitos com TDAH em geral.

Palavras-chave: transtorno de déficit de atenção / hiperatividade com predomínio de desatenção, desatenção, gravidez, nicotina, fumo, cigarro.

INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) está entre os transtornos mentais mais comuns em crianças e adolescentes, com prevalência estimada entre 3 e 10%¹⁻³. Estimativas indicam que, nos Estados Unidos, o impacto financeiro deste transtorno gira em torno de US\$ 30 bilhões ao ano⁴. As causas do TDAH ainda não estão esclarecidas, mas tanto fatores genéticos como ambientais têm sido implicados^{5;6}.

O fumo na gravidez é um destes fatores ambientais que tem sido associado ao transtorno. O hábito de fumar entre gestantes tem diminuído significativamente nas últimas décadas, mas estima-se que por volta de 20% delas ainda fumem diariamente⁷. A exposição pré-natal à nicotina pode causar problemas neurodesenvolvimentais e neurocomportamentais⁸. Por exemplo, atraso do desenvolvimento intelectual⁹ e comportamento impulsivo¹⁰ têm sido relatados em bebês e crianças mais velhas que foram expostos à nicotina durante o período intra-útero.

Diversos estudos têm sido publicados apontando diferenças no funcionamento social, acadêmico e comportamental entre os subtipos de TDAH¹¹⁻¹⁴, sendo que a maioria destes tem envolvido basicamente amostras clínicas¹⁵⁻¹⁹. Estes estudos têm encontrado de forma consistente que os subtipos exibem diferentes padrões de prejuízo de acordo com as dimensões de sintomas apresentadas²⁰ e muitos autores concordam que as maiores diferenças são encontradas entre o tipo desatento e os demais²¹⁻²³. Por exemplo, a maioria dos estudos conclui que o TDAH na ausência de transtorno de conduta (TC) não aumenta o risco para o uso de drogas^{24;25}, mas isto parece não ser verdade para o subtipo desatento. Flory et al²⁶ avaliaram 481 adultos jovens e encontraram que a presença de sintomas de desatenção interagindo com sintomas de TC prediziam desfechos de uso e dependência de drogas. Também em recente publicação, Woo & Rey²⁷ afirmam que os estudos apontam que o tipo desatento é o mais comum, com aproximadamente metade dos casos.

Os estudos sobre fumo na gravidez e TDAH têm encontrado resultados discordantes. Dois estudos de seguimento, que utilizaram os critérios do DSM III e com coleta retrospectiva sobre fumo na gestação, tiveram resultados negativos^{28 29}. Outros dois estudos de coorte usaram os critérios do DSM III R para o desfecho e também não encontraram associação positiva^{10;30}. Num estudo de base populacional prospectivo foi relatado que fumo na gestação estava associado a transtorno de conduta, mas não ao TDAH³¹. Também, recentemente, numa avaliação de 1936 pares de gêmeos não foi encontrada a referida associação³². Na direção oposta, Milberger et al^{33;34} num estudo de caso-controle encontraram um risco 2,7 vezes maior para TDAH associado com fumo materno. Os resultados do estudo de Mick et al³⁵, baseado na re-análise dos dados de Milberger et al^{33;34} e acrescidos de dados de uma amostra de meninas, mostraram uma menor razão de chances de 2,1. Em um estudo de base populacional com mais de 1.400 pares de gêmeos, Thapar et al³⁶ encontraram que fumo na gestação parece apresentar associação com sintomas de TDAH na prole. Assim, permanece incerto se fumo na gravidez está associado com o diagnóstico clínico de TDAH, principalmente considerando-se amostras não referidas, não há relato na literatura da associação entre exposição a fumo materno durante a gravidez e TDAH com predomínio de desatenção.

Estudos com análises da dimensão de escores atencionais (por escalas de sintomas ou testes neuropsicológicos) e sua associação com exposição à fumo materno na gravidez também têm encontrado resultados contraditórios. Kristjansson et al³⁷, avaliando o desfecho por desempenho no Teste de Performance Contínua, não encontraram resultados positivos para esta associação. Outros estudos com diferentes metodologias também não encontraram resultados positivos^{8;38-41}. Também um estudo de caso-controle, avaliando sintomas de desatenção encontrados na DAMP (definição nosográfica nórdica com alta sobreposição com TDAH) não mostrou associação entre fumo na gravidez e problemas atencionais⁴². Contudo, um impacto negativo do fumo na gravidez sobre a atenção foi encontrado em alguns estudos⁴³⁻⁴⁵.

Assim, o presente estudo tem com objetivo avaliar, numa amostra não clínica, a associação entre a exposição à nicotina durante a gravidez e o desfecho de TDAH, especificamente do subtipo com predomínio de desatenção, e também a análise dimensional de desatenção em uma amostra de crianças e adolescentes brasileiros. Assim, com base na literatura, nossa hipótese é de que na avaliação específica deste subtipo evidenciaremos uma maior ocorrência de fumo na gestação nas mães de indivíduos com este diagnóstico.

MÉTODOS

Sujeitos

A amostra não clínica do presente estudo de delineamento do tipo caso-controle foi obtida em 12 escolas da rede pública estadual de Porto Alegre. Estas escolas foram selecionadas exclusivamente por estarem localizadas próximas ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os critérios de inclusão foram: a) idade entre 6 e 18 anos; b) contato com a mãe biológica; c) presença de pelo menos 4 sintomas de desatenção e no máximo 3 de hiperatividade / impulsividade detectados pelo professor que melhor conhecia o aluno na escola através do preenchimento de escala de triagem (SNAP-IV) ⁴⁶. Para cada caso positivo selecionado foi pareado um controle por sexo e idade que pontuasse no máximo 3 sintomas de desatenção e/ou 3 de hiperatividade/impulsividade na escala SNAP-IV preenchida pelo professor. Foram considerados critérios de exclusão para casos e controles QI estimado inferior a 70 e presença de psicose.

Procedimentos de triagem

Num primeiro momento, foi feito contato com as escolas para receber a autorização para realizar o estudo, um psiquiatra de crianças e adolescentes realizou uma palestra para os professores de cada escola com informações sobre o projeto de

pesquisa e sobre o TDAH. Os assistentes de pesquisa foram treinados com relação à abordagem dos professores e orientação destes quanto ao preenchimento do instrumento de triagem. Depois disso, os assistentes de pesquisa fizeram contato com os professores das 12 escolas, solicitando-lhes que identificassem todos os estudantes com problemas de desatenção. Para aqueles identificados, os professores preencheram um instrumento de triagem para o TDAH (SNAP-IV). Todos os estudantes positivos na triagem e os controles foram convidados, juntamente com suas famílias, a participar da fase diagnóstica do estudo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de nosso Hospital Universitário (IRB 00000921). Os pais ou responsáveis assinaram um termo de consentimento pós-informação para a avaliação das crianças. Os pacientes também consentiram com a realização da avaliação.

Processo Diagnóstico

O diagnóstico de TDAH-D com ou sem comorbidade foi realizado em nossa unidade ambulatorial através de um processo de três estágios: a) avaliação com uma entrevista semi-estruturada (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version – K-SADS-E)⁴⁷, modificada para avaliar os critérios do DSM-IV e aplicada aos pais por assistentes de pesquisa treinados. Esta entrevista já encontrando-se traduzida para o português e em uso clínico em centros de referência nacionais de Psiquiatria da Infância e Adolescência. A confiabilidade inter-avaliador para o diagnóstico de TDAH foi avaliada previamente (coeficiente Kappa = 0.94; $p < 0.001$)⁴⁸; b) revisão de cada diagnóstico derivado do K-SADS-E em comitê clínico coordenado por um experiente psiquiatra de crianças e adolescentes (LAR); c) avaliação clínica do TDAH-D e comorbidades usando os critérios do DSM-IV realizada por um psiquiatra de crianças e adolescentes que previamente recebia os resultados do K-SADS-E, entrevistando os pais e o paciente. Além disso, o psiquiatra de crianças e adolescentes avaliou prejuízo através do uso da CGAS (Clinical Global Assessment Scale)⁴⁹. A CGAS é uma medida de

funcionamento global de crianças e adolescentes amplamente usada com adequadas propriedades psicométricas (confiabilidade teste-reteste e inter-avaliador / validade concorrente e discriminativa)⁴⁹. A escala permite escores de 0 a 100. Quanto maiores os escores, melhor o funcionamento global⁵⁰.

Os casos com diagnóstico de TDAH-D com e sem comorbidade com outros transtornos e os controles (sem diagnóstico de TDAH-D), configurados nestas etapas, foram incluídos no estudo. Com o objetivo de assegurar que estávamos lidando com casos verdadeiros de TDAH-D, somente incluímos os casos que preenchessem todos os critérios diagnósticos para o subtipo desatento, mas com no máximo 3 sintomas de hiperatividade-impulsividade.

O escore de desatenção da escala SNAP-IV foi utilizado para as análises dimensionais de desatenção. A escala SNAP-IV é uma revisão do Questionário Swanson, Nolan and Pelham (SNAP)⁴⁶. O instrumento tem 4 subescalas (Escore Total – 26 itens, de Desatenção – 9 itens, de Hiperatividade/Impulsividade – 9 itens, e Oposicional – 8 itens). A SNAP-IV é baseada numa escala de 0 a 3 e tem sido freqüentemente usada em investigações de TDAH, incluindo aquelas desenhadas para avaliar intervenções clínicas. A consistência interna da SNAP-IV parece ser de boa a excelente⁵¹. Em estudo prévio, nós determinamos um alfa de Cronbach satisfatório (0.74) para a escala completa (26 itens) numa amostra diferente⁵². A escala foi preenchida pelos pais dos sujeitos.

A estimativa de QI foi realizada pela aplicação dos subtestes cubos e vocabulário da Escala de Inteligência Wechsler – Terceira Edição (WISC III)⁵³ por psicólogas treinadas.

O fluxograma de entrada de pacientes no estudo encontra-se na figura 1.

INSIRA FIGURA 1 AQUI

Fator em estudo, variáveis demográficas e de confusão

Fator em estudo. O fator em estudo (fumo na gestação) foi avaliado com a mãe biológica através de questionário específico desenvolvido para este estudo. O fator em estudo foi avaliado de três formas: dicotômica, categórica (não fumante, 1 a 9 cigarros/dia, 10 ou mais cigarros/dia) e dimensional (número de cigarros fumados/dia). A definição categórica foi baseada naquelas utilizadas em estudos prévios de associação de fumo ao TDAH^{10;45} e a outras doenças médicas como doenças cardiovasculares⁵⁴.

Variáveis demográficas e fatores de confusão. As variáveis demográficas (idade, sexo, etnia, escolaridade e nível sócio-econômico, e possíveis confundidores (uso de álcool na gestação, idade materna e peso do bebê ao nascimento) foram avaliados com os cuidadores e com a mãe biológica através de questionário específico desenvolvido para este estudo. O nível sócio-econômico (NSE) foi determinado pela Escala Sócio-Econômica da Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado⁵⁵. As comorbidades foram avaliadas por extensa avaliação clínica (ver acima). O diagnóstico parental de TDAH foi avaliado por um psiquiatra de crianças e adolescentes usando o módulo de TDAH do K-SADS-E, modificado para avaliar os critérios do DSM IV. Esta estratégia foi usada em diversos estudos prévios^{56;57}.

Análise dos Dados

Os pacientes com TDAH-D foram comparados com seus controles sem o transtorno em relação às variáveis demográficas, clínicas e em relação a exposição a fumo na gravidez através de análise de regressão logística condicional⁵⁸. Os potenciais confundidores foram definidos por análise conceitual na literatura e/ou através de uma ampla definição estatística (associação tanto com o fator em estudo como com o desfecho para um $p \leq 0,20$). Esta abordagem garante análises bastante conservadoras.

A seguir, foi realizada a análise estatística entre casos e controles, com ajuste para potenciais confundidores, quanto à variável ordinal de fumo na gravidez por Análise de Regressão Logística Condicional.

Na análise da variável categórica de fumo na gestação com os escores atencionais da sub-escala do SNAP-IV (análise dimensional) foi utilizada Análise de Variância com ajuste para potenciais confundidores. Para localização das diferenças entre os grupos foi utilizado um teste post-hoc (Teste de Tukey). O nível de significância foi estabelecido em 5%.

RESULTADOS

A amostra foi composta de 100 sujeitos com TDAH-D e 100 controles sem TDAH. As características demográficas e clínicas estão apresentadas na tabela 1. Na comparação entre os dois grupos foram encontradas diferenças significativas quanto a diagnóstico materno de TDAH ($p < 0,001$), QI estimado ($p = 0,002$), presença de TOD (transtorno oposicional desafiador) ($p = 0,001$), TAG (transtorno de ansiedade generalizada) ($p = 0,05$) e FS (fobia social) ($p = 0,004$) (vide Tabela 1).

INSERIR TABELA 1 AQUI

Nas análises univariadas, observou-se um número significativamente maior de cigarros fumados por dia durante a gestação para as mães dos indivíduos com TDAH-D ($p = 0,017$; RC= 1,07; IC= 1,01-1,14). A análise da proporção de mães fumantes/não fumantes durante a gestação (dicotômica) não mostrou diferença significativa entre casos (29% de mães fumantes) e controles (19% de mães fumantes). Quando se estratificou a quantidade de cigarros fumados durante a gestação, surgiu um resultado estatisticamente significativo entre casos e controles. A proporção de fumo de 10 ou mais cigarros na gestação nas mães dos sujeitos com TDAH-D foi maior do que nas mães dos controles ($p = 0,014$; RC= 3,19; IC= 1,27-8,04) (figura 2).

INSERIR FIGURA 2 AQUI

As variáveis TOD e álcool na gestação foram consideradas como potenciais confundidoras. As outras variáveis não estavam associadas com o desfecho e com o fator em estudo para um $p \leq 0,20$. A Regressão Logística Condicional indicou que os casos com TDAH-D estiveram significativamente mais expostos à nicotina no período intra-útero do que os controles (tabela 2), mesmo após ajuste para os confundidores (RC = 3,13; IC = 1,15-8,55).

INSERIR TABELA 2 AQUI

Na análise dimensional também encontramos resultados significativos. Nesta análise foram considerados potenciais confundidores o TOD, o uso de álcool na gestação e o transtorno de conduta, por estarem associados tanto ao desfecho (escores dimensionais de desatenção) e ao fator em estudo ($p < 0,20$). Estratificando-se a quantidade de cigarros fumados por dia durante a gravidez e controlando-se para os potenciais confundidores, verificamos uma diferença estatisticamente significativa nos escores atencionais entre estes estratos ($F = 4,34$; $p = 0,014$). A principal diferença estava entre os indivíduos cujas mães fumaram 10 ou mais cigarros por dia e aqueles cujas mães não fumaram (Tukey, $p = 0,001$). Também foi significativa a diferença entre os dois estratos de fumo na gestação (≥ 10 cigarros versus 0 a 9 cigarros) (Tukey, $p = 0,04$).

DISCUSSÃO

Nós examinamos a associação entre exposição pré-natal à nicotina e o diagnóstico de TDAH-D numa amostra não referida de crianças e adolescentes de ambos os sexos. Encontramos diferenças significativas na quantidade de cigarros fumados por dia na gravidez entre os casos e os controles. Os resultados também foram significativos na análise dimensional. Na análise multivariada com controle para

confundidores, verificou-se uma razão de chances 3,13 vezes maior para TDAH-D naquelas crianças em que as mães fumaram 10 ou mais cigarros por dia na gestação.

Não há consenso na literatura sobre este tema. Muitos estudos descrevem resultados negativos para esta associação. Quatro estudos de seguimento que classificaram TDAH de acordo com os critérios do DSM e coletaram a informação sobre fumo materno na gestação retrospectivamente não encontraram tal associação^{10;28-30}. Maughan et al³¹, num estudo prospectivo e de base populacional, encontraram que fumo na gravidez estava associado a TC, mas não a sintomas de TDAH. Mais recentemente, Knopik et al³² em um estudo avaliando 1936 pares de gêmeos encontraram que o risco para TDAH não estava significativamente aumentado nos indivíduos cujas mães fumaram durante a gestação. Pesquisas clínicas voltadas mais especificamente a estudar a associação entre aspectos atencionais (e não somente o desfecho TDAH) e fumo na gravidez também têm encontrado resultados negativos. Fried et al³⁹, numa coorte acompanhando 126 crianças e avaliando desatenção por teste neuropsicológico e pela escala de Conners, não evidenciaram tal associação. Landgren et al⁴² em um estudo de caso-controle de base populacional não encontraram associação entre fumo na gravidez e problemas atencionais. Mais recentemente, Cornelius et al⁸ num estudo prospectivo bem desenhado com uma amostra de 593 crianças também não encontraram esta associação. Entretanto, alguns estudos prévios têm apresentado resultados na mesma direção dos que encontramos em nosso estudo, tanto em relação ao desfecho de TDAH de forma geral³³⁻³⁵, como em relação à análise dimensional de escores atencionais (em escalas de sintomas ou testes neuropsicológicos)⁴³⁻⁴⁵. Portanto, nossos resultados vem corroborar os achados positivos anteriores e, baseado no que revisamos da literatura, são os primeiros indicando a associação entre fumo no gravidez e TDAH numa amostra não referida e específica de indivíduos diagnosticados com TDAH com predomínio de desatenção.

Fatores peri-natais, idade materna, história materna de TDAH e presença de

comorbidades também tem sido associadas ao TDAH. Assim, exposição pré-natal ao álcool e TDAH tem sido verificada em alguns estudos. Aronson et al ⁵⁹ encontraram uma alta prevalência de TDAH num pequeno grupo de filhos de mães alcoolistas. Mais recentemente, Mick et al ³⁵, num estudo controlado, acharam um risco aumentado para TDAH na prole de mães com uso abusivo de álcool na gravidez. Também para o transtorno de conduta há referência na literatura de associação deste com fumo materno na gravidez ^{10;60}. Dessa forma, os resultados contraditórios na literatura sobre a associação entre fumo e TDAH podem estar relacionados a problemas no controle desses potenciais confundidores. No presente estudo, não identificamos que algum destes potenciais confundidores estivesse explicando a associação que encontramos entre fumo na gestação e TDAH.

Estudos com animais têm demonstrado alterações cerebrais e comportamentais que são consistentes com estudos em humanos com TDAH. Diminuição do fluxo sangüíneo cerebral e diminuição do peso total do cérebro em fetos expostos à nicotina ⁶¹, menor circunferência craniana em filhotes de “mães fumantes” ⁶² e alterações estruturais e comprometimento da maturação neuronal ⁶³ em ratos são alguns exemplos. Também estudos com animais indicam que a exposição pré-natal à nicotina pode resultar em características de hiperatividade na prole ⁶⁴ e que estes efeitos são duradouros ⁶⁵, estando os mecanismos possivelmente relacionados à modulação do sistema dopaminérgico e a um aumento do número de receptores nicotínicos ^{66;67}. A nicotina, principal substância psicoativa do tabaco, possivelmente traz prejuízos no desenvolvimento dos sistemas de neurotransmissores cerebrais de diferentes maneiras. Inicialmente, sendo um potente vasoconstritor aumenta a pressão arterial sangüínea e a freqüência cardíaca materna, resultando em menor fluxo placentário e menor oxigenação fetal ⁶⁸. Sabe-se que em ratos, a hipóxia provoca alteração no desenvolvimento destes sistemas ⁶⁹. A nicotina também interfere na replicação celular que é um dos estágios mais críticos do desenvolvimento fetal e termina quando a diferenciação celular inicia ⁷⁰. De acordo com a hipótese de Slotkin

⁷¹ o fumo na gestação resulta numa troca prematura da replicação para a diferenciação das células alvo de estimulação colinérgica, tendo conseqüências muito danosas para as futuras conexões sinápticas em termos qualitativos e quantitativos. Há ainda evidências de um sítio pré sináptico para receptores nicotínicos no sistema nervoso central, o que é consistente com o papel modulatório na liberação de neurotransmissores. Estudos indicam que os receptores nicotínicos potencializam a liberação pré-sináptica da dopamina, da noradrenalina e da serotonina ⁷⁰. Portanto, exposição pré natal à nicotina provavelmente também produza efeitos por sua ação direta nestes sistemas. Por tudo isso, alterações no desenvolvimento dos sistemas colinérgicos podem explicar a incidência aumentada de TDAH em indivíduos expostos à nicotina durante o período intra-útero, dado o papel das catecolaminas neste transtorno ⁷².

Interessantemente, diversos estudos têm descrito reduções do tamanho de estruturas cerebrais em humanos associadas ao diagnóstico de TDAH ^{73;74}. Assim, a associação entre fumo na gravidez e TDAH-D verificada neste estudo traz subsídios para a busca de mecanismos fisiopatológicos que possam explicar as bases neurobiológicas do transtorno.

Forças do Estudo

Alguns aspectos deste estudo falam a favor da relevância de seus achados. Primeiro, o fato de ser uma amostra não referida, o que lhe confere uma característica de mais representatividade da população. Segundo, se trata de uma amostra exclusivamente de indivíduos com TDAH com predomínio de desatenção, o que significa um passo adiante na pesquisa em TDAH, em função da escassez de estudos especificamente com este subtipo do transtorno. Além disso, é importante salientar que o diagnóstico foi obtido por avaliação clínica por psiquiatra de crianças e adolescentes e não por escores de escalas auto-relatadas de sintomas, o que é uma limitação em alguns estudos. Isto, somado ao fato de que foram incluídos somente

indivíduos com no máximo 3 sintomas de hiperatividade, indica que a amostra diz respeito a indivíduos que representam especificamente o subtipo em questão (p.ex., amostras que incluem sujeitos com 6 ou mais sintomas de desatenção e 4 ou 5 de hiperatividade-impulsividade podem ter maiores chances de incluir casos de TDAH combinado subliminares e não casos verdadeiramente de TDAH-D). Outro ponto positivo deste estudo é o moderado tamanho amostral, o que diminui a chance de erro tipo II. Por último, os resultados deste estudo foram apresentados no contexto de análises estatísticas mais conservadoras, visto que foi considerado um critério mais elástico na inclusão das variáveis como potenciais confundidoras, e foram incluídos nas análises os principais confundidores descritos na literatura.

Limitações do Estudo

Os resultados relatados neste estudo devem ser analisados no contexto de algumas limitações metodológicas. Por ser um estudo com avaliação retrospectiva da exposição, os resultados estão sujeitos ao viés de “recall”, situação na qual mãe de casos podem ter fornecido informações com um padrão diferente das mães dos controles. Contudo, não há como afirmar a direção deste viés. Mães de pacientes com TDAH podem estar motivadas a encontrar uma causa para o problema do filho e assim tentar lembrar com mais detalhes as informações sobre o fator em estudo. Por outro lado, estas mesmas mães podem sentir-se culpadas pelo uso de cigarros na gestação e tentar minimizar o fato. De fato, há um relato na literatura indicando que as mães tendem a subrelatar complicações nos períodos da gravidez e neonatal ⁷⁵. Contudo, estudos apontam que a validade de informações sobre fumo no passado giram em torno de 90% ^{76;77}. Outra potencial fonte de viés é o fato de que os entrevistadores que avaliaram a quantidade de cigarros fumados na gestação não estavam cegos em relação ao desfecho clínico. Apesar disso, é importante salientar que eles não estavam a par de detalhes dos objetivos e das hipóteses do estudo.

Cabe salientar que não houve diferença entre casos e controles em outras variáveis (uso de álcool na gestação e peso do bebê ao nascimento) que também poderiam estar associadas ao TDAH. Ou seja, parece pouco provável que os entrevistadores tenham sido tendenciosos só para a variável fumo e não para as demais .

Implicações Clínicas

Em resumo, nossos resultados apontam para uma associação entre TDAH-D e fumo de cigarros na gravidez. Nossos resultados reforçam achados de estudos prévios com amostras incluindo todos os subtipos do TDAH (principalmente o combinado). Pelo que sabemos, este é o primeiro estudo em uma amostra não referida com foco em sujeitos com TDAH-D extensivamente avaliados. Se no futuro estudos prospectivos puderem determinar que essa é uma relação causal, e levando em conta que fumo na gravidez é prevenível, novas estratégias em termos de saúde pública podem ser adotadas, com ênfase no aconselhamento das gestantes sobre os riscos de danos cognitivos de longo prazo a suas proles. Além disso, devem ser realizados estudos que avaliem o impacto das interações gene-ambiente para estimar os efeitos da exposição á nicotina intra-útero de acordo com diferentes vulnerabilidades genéticas.

Lista de Referências

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed). Washington DC American Psychiatric Press. 1994.
2. Faraone SV, Sergeant JA, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003;2(2):104-13.
3. 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* 1999;38:716-22.
4. Birnbaum HG, Kessler RC, Lowe SW, Secnik K, Greenberg PE, Leong SA *et al.* Costs of attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD) in the US: excess costs of persons with ADHD and their family members in 2000. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(2):195-206.
5. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA *et al.* Molecular Genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder • REVIEW ARTICLE. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1313-23.
6. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Guite J, Tsuang MT. Pregnancy, delivery and infancy complications and attention deficit hyperactivity disorder: issues of gene-environment interaction. *Biol.Psychiatry* 1997;41:65-75.
7. Kvale K, Glysch RL, Gothard M, Aakko E, Remington P. Trends in smoking during pregnancy, Wisconsin 1990 to 1996. *WMJ.* 2000;99:63-7.
8. Cornelius MD, Ryan CM, Day NL, Goldschmidt L, Willford JA. Prenatal tobacco effects on neuropsychological outcomes among preadolescents. *J.Dev.Behav.Pediatr.* 2001;22:217-25.
9. Eskenazi B, Castorina R. Association of prenatal maternal or postnatal child environmental tobacco smoke exposure and neurodevelopmental and behavioral problems in children. *Environ.Health Perspect.* 1999;107:991-1000.
10. Weissman MM, Warner V, Wickramaratne PJ, Kandel DB. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:892-9.
11. Gaub M, Carlson CL. Behavioral characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1997;25:103-11.
12. Marshall RM, Hynd GW, Handwerk MJ, Hall J. Academic underachievement in ADHD subtypes. *J.Learn.Disabil.* 1997;30:635-42.
13. Parternite CE, Loney J, Roberts MA. A preliminary validation of subtypes of DSM-V attention deficit hyperactivity disorder. *J.Attention Disorders* 1996;1:70-86.
14. Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J. Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:319-24.

15. Eiraldi RB, Power TJ, Nezu CM. Patterns of comorbidity associated with subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder among 6- to 12-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:503-14.
16. Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL. Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:185-93.
17. Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW *et al.* DSM-IV field trials for attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Am.J.Psychiatry* 1994;151:1673-85.
18. Lahey BB, Pelham WE, Stein MA, Loney J, Trapani C, Nugent K *et al.* Validity of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder for younger children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:695-702.
19. McBurnett K, Pfiffner LJ, Willcutt E, Tamm L, Lerner M, Ottolini YL *et al.* Experimental cross-validation of DSM-IV types of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:17-24.
20. McBurnett K, Lahey BB, Rathouz PJ, Loeber R. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Arch.Gen.Psychiatry* 2000;57:38-43.
21. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:4-16.
22. Brito GN, Pereira CC, Santos-Morales TR. Behavioral and neuropsychological correlates of hyperactivity and inattention in Brazilian school children. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:732-9.
23. Gansler DA, Fucetola R, Krengel M, Stetson S, Zimering R, Makary C. Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1998;186:776-81.
24. Disney ER, Elkins IJ, McGue M, Iacono WG. Effects of ADHD, conduct disorder, and gender on substance use and abuse in adolescence. *Am.J.Psychiatry* 1999;156:1515-21.
25. Lynskey MT, Fergusson DM. Childhood conduct problems, attention deficit behaviors, and adolescent alcohol, tobacco, and illicit drug use. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1995;23:281-302.
26. Flory K, Milich R, Lynam DR, Leukefeld C, Clayton R. Relation between childhood disruptive behavior disorders and substance use and dependence symptoms in young adulthood: individuals with symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder are uniquely at risk. *Psychol.Addict.Behav.* 2003;17:151-8.
27. Woo BS, Rey JM. The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 2005;39:344-53.
28. Hill SY, Lowers L, Locke-Wellman J, Shen SA. Maternal smoking and drinking during pregnancy and the risk for child and adolescent psychiatric disorders. *J.Stud.Alcohol* 2000;61:661-8.

29. McGee R, Stanton WR. Smoking in pregnancy and child development to age 9 years. *J.Paediatr.Child Health* 1994;30:263-8.
30. Wakschlag LS, Lahey BB, Loeber R, Green SM, Gordon RA, Leventhal BL. Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorder in boys. *Arch.Gen.Psychiatry* 1997;54:670-6.
31. Maughan B, Taylor C, Taylor A, Butler N, Bynner J. Pregnancy smoking and childhood conduct problems: a causal association? *J.Child Psychol.Psychiatry* 2001;42:1021-8.
3. Knopid VS, Sparrow EP, Madden PA, Bucholz KK, Hudziak JJ, Reich W *et al.* Contributins of paternal alcoholism, prenatal substance expouse, and genetic transmission to child ADHD risk: a female twin study. *Psychological Medicine* 35:5, 625-635. 2005.
4. 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* 1996;153:1138-42.
34. Milberger S, Biederman J, Faraone SV, Jones J. Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings. *J.Clin.Child Psychol.* 1998;27:352-8.
35. Mick E, Biederman J, Faraone SV, Sayer J, Kleinman S. Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2002;41:378-85.
36. Thapar A, Fowler T, Rice F, Scourfield J, van den BM, Thomas H *et al.* Maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. *Am.J.Psychiatry* 2003;160:1985-9.
37. Kristjansson EA, Fried PA, Watkinson B. Maternal smoking during pregnancy affects children's vigilance performance. *Drug Alcohol Depend.* 1989;24:11-9.
38. Bor W, Najman JM, Andersen MJ, O'Callaghan M, Williams GM, Behrens BC. The relationship between low family income and psychological disturbance in young children: an Australian longitudinal study. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1997;31:664-75.
39. Fried PA, Watkinson B, Gray R. A follow-up study of attentional behavior in 6-year-old children exposed prenatally to marihuana, cigarettes, and alcohol. *Neurotoxicol.Teratol.* 1992;14:299-311.
40. O'Callaghan MJ, Harvey JM. Biological predictors and co-morbidity of attention deficit and hyperactivity disorder in extremely low birthweight infants at school. *J.Paediatr.Child Health* 1997;33:491-6.
41. Williams GM, O'Callaghan M, Najman JM, Bor W, Andersen MJ, Richards D *et al.* Maternal cigarette smoking and child psychiatric morbidity: a longitudinal study. *Pediatrics* 1998;102:e11.

42. Landgren M, Kjellman B, Gillberg C. Attention deficit disorder with developmental coordination disorders. *Arch.Dis.Child* 1998;79:207-12.
43. Batstra L, Hadders-Algra M, Neeleman J. Effect of antenatal exposure to maternal smoking on behavioural problems and academic achievement in childhood: prospective evidence from a Dutch birth cohort. *Early Hum.Dev.* 2003;75:21-33.
44. Fergusson DM, Lynskey MT, Horwood LJ. Conduct problems and attention deficit behaviour in middle childhood and cannabis use by age 15. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 1993;27:673-82.
45. Leech SL, Richardson GA, Goldschmidt L, Day NL. Prenatal substance exposure: effects on attention and impulsivity of 6-year-olds. *Neurotoxicol.Teratol.* 1999;21:109-18.
46. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB *et al.* Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:168-79.
47. Orvaschel H. Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents. *Psychopharmacol.Bull.* 1985;21:737-45.
48. Polanczyk GV, Eizirik M, Aranovich V, Denardin D, da Silva TL, da Conceicao TV *et al.* Interrater agreement for the schedule for affective disorders and schizophrenia epidemiological version for school-age children (K-SADS-E). *Rev.Bras.Psiquiatr.* 2003;25:87-90.
49. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H *et al.* A children's global assessment scale (CGAS). *Arch.Gen.Psychiatry* 1983;40:1228-31.
50. Green B, Shirk S, Hanze D, Wanstrath J. The Children's Global Assessment Scale in clinical practice: an empirical evaluation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1994;33:1158-64.
51. Stevens J, Quittner AL, Abikoff H. Factors influencing elementary school teachers' ratings of ADHD and ODD behaviors. *J.Clin.Child Psychol.* 1998;27:406-14.
52. Correia-Filho A, Bodanese R, Silva T, Alvares J, Aman M, Rohde LA. Comparison of risperidone and methylphenidate for reducing ADHD symptoms in children and adolescents with moderate mental retardation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2005;44(8), no prelo.
53. Wechsler D. WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation, 1991.
54. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F *et al.* Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
55. Galduróz JCF, Noto AR, Carlini EA, IV. Levantamento sobre o uso de drogas entre estudantes de primeiro e segundo grau em dez capitais brasileiras. São Paulo: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 1997.

56. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;120:116-20.
57. Biederman J, Faraone SV, Monuteaux MC, Bober M, Cadogen E. Gender effects on attention-deficit/hyperactivity disorder in adults, revisited. *Biol.Psychiatry* 2004;55:692-700.
58. Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2000.
59. Aronson M, Hagberg B, Gillberg C. Attention deficits and autistic spectrum problems in children exposed to alcohol during gestation: a follow-up study. *Dev.Med Child Neurol.* 1997;39:583-7.
60. Fergusson DM, Woodward LJ, Horwood LJ. Maternal smoking during pregnancy and psychiatric adjustment in late adolescence. *Arch.Gen.Psychiatry* 1998;55:721-7.
61. Walker A, Rosenberg M, Balaban-Gil K. Neurodevelopmental and neurobehavioral sequelae of selected substances of abuse and psychiatric medications in utero. *Child Adolesc.Psychiatr.Clin.N.Am.* 1999;8:845-67.
62. Källen K. Maternal smoking during pregnancy and infant head circumference at birth. *Early Hum.Dev.* 2000;58:204.
63. Roy TS, Seidler FJ, Slotkin TA. Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2002;300:124-33.
64. Eriksson P, Ankarberg E, Fredriksson A. Exposure to nicotine during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain nicotinic receptors and in behaviour of adult mice. *Brain Res.* 2000;853:41-8.
65. Ajarem JS, Ahmad M. Prenatal nicotine exposure modifies behavior of mice through early development. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 1998;59:313-8.
66. Marks MJ, Farnham DA, Grady SR, Collins AC. Nicotinic receptor function determined by stimulation of rubidium efflux from mouse brain synaptosomes. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 1993;264:542-52.
67. Slotkin TA, Lappi SE, Seidler FJ. Impact of fetal nicotine exposure on development of rat brain regions: critical sensitive periods or effects of withdrawal? *Brain Res.Bull.* 1993;31:319-28.
68. Salafia C, Shiverick K. Cigarette smoking and pregnancy II: vascular effects. *Placenta* 1999;20:273-9.
69. Oliff HS, Gallardo KA. The effect of nicotine on developing brain catecholamine systems. *Front Biosci.* 1999;4:D883-D897.
70. Ernst M, Moolchan ET, Robinson ML. Behavioral and neural consequences of prenatal exposure to nicotine. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:630-41.

71. Slotkin TA, Cho H, Whitmore WL. Effects of prenatal nicotine exposure on neuronal development: selective actions on central and peripheral catecholaminergic pathways. *Brain Res Bull.* 1987;18:601-11.
72. Schweitzer J, Anderson C, Ernst M. Attention deficit hyperactivity disorder: neuroimaging and behavioral/cognitive probes. In Ernst M, Rumsey JM, eds. *Functional Neuroimaging in Child Psychiatry*, pp 278-97. Cambridge, England: Cambridge University Press, 2000.
73. Castellanos FX, Tannock R. Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes. *Nat.Rev.Neurosci.* 2002;3:617-28.
74. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1215-20.
75. Buka SL, Goldstein JM, Seidman LJ, Tsuang MT. Maternal recall of pregnancy history: accuracy and bias in schizophrenia research. *Schizophr.Bull.* 2000;26:335-50.
76. Krall EA, Valadian I, Dwyer JT, Gardner J. Accuracy of recalled smoking data. *Am.J.Public Health* 1989;79:200-2.
77. Persson PG, Norell SE. Retrospective versus original information on cigarette smoking. Implications for epidemiologic studies. *Am.J.Epidemiol.* 1989;130:705-12.

Figura 1. Fluxograma da participação dos pacientes.

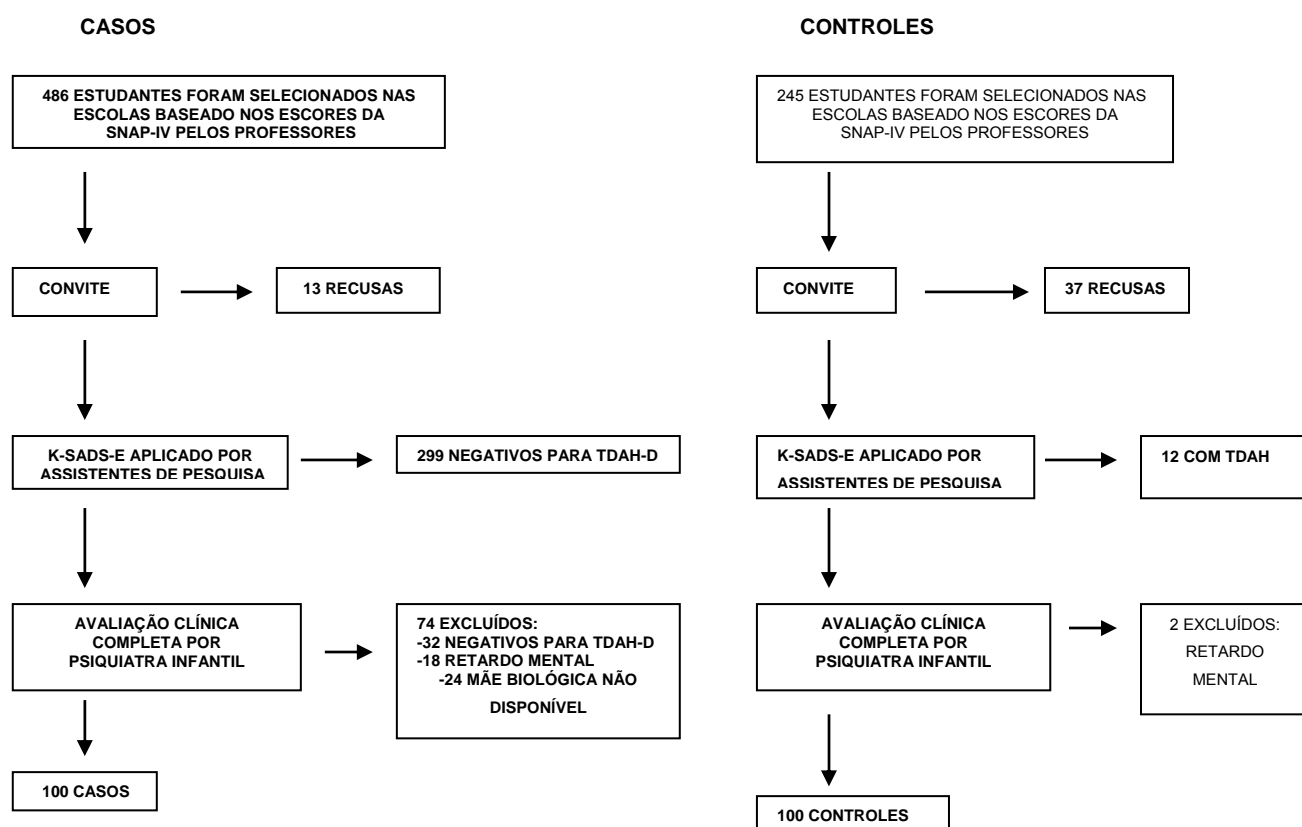


Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos casos com TDAH-D (n=100) e controles (n=100)

Característica	TDAH-D	Controles	valor de <i>p</i>
Média de idade (DP), meses	142 (39,5)	140 (38,5)	0,72
Sexo (masculino), %	68	68	1
Etnia (caucasóide), %	62	73	0,13
Média de escolar. (DP), anos	4,4 (2,7)	4,7 (3)	0,12
NSE (classe B), %	49	56	0,13
TDAH materno, %	28	3	<0,001
Média de QI estimado (DP)	94 (11)	99,3 (11,4)	0,001
Uso de álcool na gestação, %	9	4	0,2
Média de peso ao nascer (DP), Kg	3,32 (0,6)	3,29 (0,6)	0,74
Média de idade materna			
no parto (DP), anos	27 (6,5)	27,6 (6,7)	0,53
Comorbidades, %			
Transtornos de humor			
Depressão Maior	4	1	0,25
Distímia	4	1	0,22
Transtornos de ansiedade			
Fobia simples	21	19	0,69
TAG	14	5	0,05
TAS	8	3	0,18
Fobia social	21	5	0,004
Agorafobia	11	5	0,1
Transtornos disruptivos			
TOD	38	14	0,001
TC	2	1	0,57

TDAH-D: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção; DP: desvio padrão; NS: não significativo; NSE: nível sócio-econômico; TAG: transtorno de ansiedade generalizada; TAS: transtorno de ansiedade de separação; TOD: transtorno oposicional desafiador; TC: transtorno de conduta.

Figura 2. Nível de fumo durante a gravidez

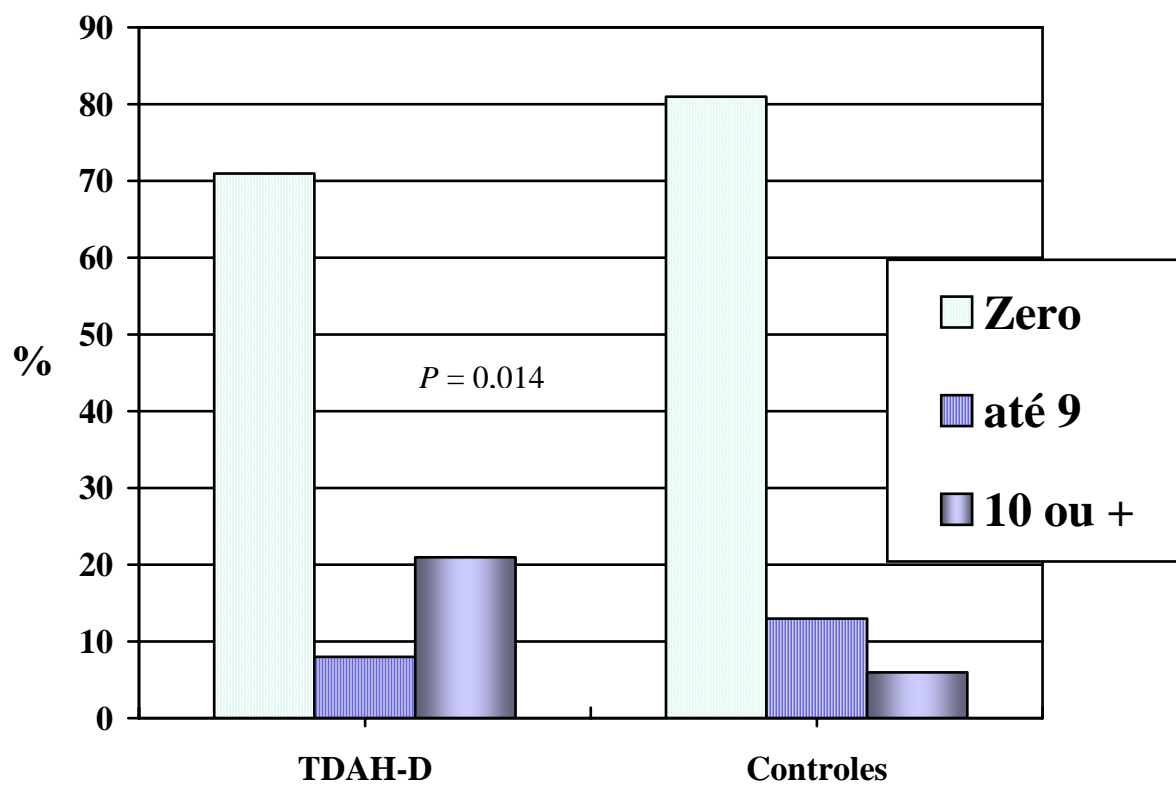


Tabela 2. Razão de chances (RC) para TDAH-D de acordo com fumo na gestação, ajustado para o potenciais confundidores.

	Wald χ^2	valor de p	RC	IC - 95%
Álcool na gestação	0,85	0,36	2,05	0,45-9,4
TOD	10,84	0,001	3,66	1,69-7,93
Fumo na gravidez				
Nenhum cigarro	7,02	0,03	—	—
Até 9 cigarros por dia	1,24	0,27	0,55	0,19-1,58
10 ou mais cigarros por dia	4,95	0,026	3,13	1,15-8,55

TDAH-D: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção;
 IC: intervalo de confiança; TOD: transtorno oposicional desafiador.

ASSOCIATION OF THE α -2A ADRENERGIC RECEPTOR GENE WITH ADHD INATTENTIVE TYPE

Schmitz M¹, Denardin D¹, Silva TL¹, Pianca TG¹, Roman T², Hutz MH³, Faraone S⁴, Rohde LA¹

¹ADHD outpatient clinic, Child and Adolescent Psychiatric Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil. ²Department of Morphological Sciences, Federal School of Medical Sciences of Porto Alegre, Brazil. ³Department of Genetics, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil. ⁴Department of Psychiatry, Upstate Medical University, New York, USA. Correspondence to: Dr. Luis Augusto Rohde, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. Zip code: 90035-003.

This work was partially supported by research grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) (Grant 307780/2004-0) and from Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX, Brazil), Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Also, this study was supported by Eli Lilly Brazil.

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

ABSTRACT

Objective: To investigate the association between four candidate genes (α -2A adrenergic receptor gene [*ADRA2A*], dopamine D4 receptor gene [*DRD4*], dopamine transporter gene [*DAT1*], and dopamine beta-hydroxylase gene [*DBH*]) and attention deficit/hyperactivity disorder - inattentive type (ADHD-I).

Method: In family-based and case-control association studies, we evaluated a sample of 100 ADHD-I children and adolescents (and their parents) and 100 non-ADHD controls. Diagnosis of ADHD-I and co-morbidities were performed according to DSM-IV criteria using semi-structured (K-SADS-E) + clinical interviews with both the subjects and their parents.

Results: The haplotype relative risk (HRR) analysis and the transmission disequilibrium tests (TDTs) showed no significant associations between these candidate genes and ADHD-I. In the case-control approach, we verified that the homozygosis of the G allele for the *ADRA2A* was significantly more frequent in the ADHD-I probands (20%) than in controls (8%), even after adjusting for potential confounders ($p = 0.017$; OR = 4.01; $CI_{95} = 1.29-12.51$).

Conclusion: In a non-referred sample, our results suggest that the *ADRA2A* is associated with ADHD-I, replicating findings from other studies in the literature on the importance of the noradrenergic system in the pathophysiology of ADHD, especially for the dimension of inattention.

Key Words: attention deficit/hyperactivity disorder inattentive type; adrenergic receptors; *ADRA2A* gene.

INTRODUCTION

Attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most common mental disorders affecting children and adolescents, with an estimate prevalence ranging from 3 to 10%¹⁻⁴. The causes of ADHD remain unclear, but family-based studies, and investigations involving twin siblings and adopted children have described ADHD as highly inherited, suggesting a strong genetic influence⁵.

The candidate genes related to the dopaminergic neurotransmitter system are the most studied genes. The most robust finding in ADHD is the association of a variable number tandem repeat (VNTR) polymorphism in exon 3 of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene⁶. The majority of studies examining the DRD4 as a candidate gene have focused on a 48 base pair VNTR polymorphism (7-repeat allele). Two meta-analyses were performed investigating subjects with ADHD and DRD4 demonstrating a positive association^{7,8}.

The dopamine transporter (DAT1) seems to be related to ADHD since this transporter is inhibited by methylphenidate (MPH), which is the main pharmacological therapy for ADHD⁹. Studies of 10 polymorphisms of the DAT1 gene have been conducted, with special focus on the 40bp allele in the exon 15. Although the finding suggesting that the 10R allele represents a risk factor for ADHD is the second most often replicated result, studies have shown divergent results¹⁰.

Initial studies on the genes of the noradrenergic system are focused on the gene encoding dopamine beta-hydroxylase (DBH) enzyme, which converts dopamine to noradrenaline. Daly et al.¹¹ performed the first study that tested the association between the DBH TaqI polymorphism and ADHD. Afterwards, other three studies have demonstrated the association for the same polymorphism¹²⁻¹⁴. However, the results have been negative for other six DBH polymorphisms¹⁰.

Genes encoding adrenergic receptors have also been studied. Animal-based studies suggest that noradrenergic projections to the prefrontal cortex improve prefrontal cortical functions, such as working memory, basically through postsynaptic

alpha-2 receptors. Of the several types of alpha-2 receptors in the brain, alpha-2-A (ADRA2A) is the one with the most promising perspectives for research. This receptor is present in many cerebral regions, being the most prevalent noradrenergic receptor in the prefrontal cortex. Pharmacological evidence in animals and humans supports the importance of the noradrenergic system, especially of ADRA2A, for the cognitive activities of the prefrontal cortex probably related to ADHD¹⁵⁻¹⁷. ADRA2A gene is located in chromosome 10q23-25. The -1291 C>G single nucleotide polymorphism (SNP) was identified at the promoter of the ADRA2A gene¹⁸. Only four studies evaluated the association of this ADRA2A polymorphism and ADHD and their results are contradictory¹⁹⁻²². Park et al.²⁰ found an association between ADRA2A gene and ADHD by TDT and dimensional assessment by QTDT for the inattention and hyperactivity-impulsivity scores. None of these studies investigated the association of ADRA2A gene and ADHD - inattentive type.

Different cases are likely to present particular characteristics (clinical heterogeneity) and, as a consequence, etiological heterogeneity. According to the suggestions of studies on other psychiatric diseases, this heterogeneity may obscure a positive finding. Therefore, the reduction of clinical heterogeneity of ADHD through the definition of ADHD subtypes seems to be a very important resource for this kind of study, since types with active specific biological and environmental components may be identified²³⁻²⁵.

Several studies have indicated differences in social, academic and behavioral functioning among the subtypes of ADHD²⁶⁻²⁹. Most of these studies included basically clinical samples³⁰⁻³⁴. These studies consistently found that the subtypes of ADHD have different impairment patterns according to the dimensions of the symptoms presented³⁵ and many authors agree that the greatest differences can be found between the inattentive type and the other types^{23;36;37}. In addition, in a recent study, Woo & Rey³⁸ stated that studies demonstrate that the inattentive type is the most common subtype of ADHD, accounting for about half of the cases.

In accordance with this framework, some studies have investigated the association between candidate genes and attentional problems, both in dimensional and categorical assessments.

Rowe et al.^{39;40} verified the particular influence of the 7-repeat allele of DRD4 on the dimension of inattention. Several other polymorphisms of this gene have already been studied. McCracken et al.⁴¹ verified the significant preferential transmission of the 240-bp allele. The preferential transmission was more significant only when cases of inattention were considered. Swanson et al.⁴² published the first study about the influence of risk alleles for ADHD on the cognitive endophenotype, using neuropsychological tests to assess specific attentional capacity in patients with ADHD. In opposition to the primary prediction of the study, the authors found a deficient attentional performance in the group with absence of the 7-repeat allele of the DRD4 gene.

Qian et al.⁴³ evaluated a sample of Chinese subjects with a polymorphism of the COMT gene, and found a significant association in the subsample of boys with ADHD. The results were particularly significant in the inattentive subtype. Roman et al.²¹, in a sample of Brazilian children and adolescents with ADHD, detected an association of ADRA2A in dimensional analyses in the groups of symptoms that included inattention (inattentive and combined symptoms). This data was replicated in an independent sample by the same group⁴⁴.

As we can see, there are no studies on the association of candidate genes with non-referred specific samples of ADHD inattentive type in the literature, which is an important step towards a deeper understanding of the pathophysiology of ADHD subtypes. Therefore, the objective of this study is to investigate the association of ADHD predominantly inattentive type and those candidate genes mentioned above in a non-clinical sample including only subjects with this type of disorder. Our hypothesis is that noradrenergic genes are more likely to be associated with ADHD-I.

METHODS

Sample

A non-clinical sample of 200 students was ascertained from 12 public schools located in Porto Alegre, Brazil. Female and male children and adolescents aged from 6 to 18 years who were in contact with their biological mothers were included in this study. Those students with at least four symptoms of inattention and at most three symptoms of hyperactivity/impulsivity detected by the screening instrument (SNAP IV)⁴⁵ completed by the teachers were considered positive screening. A control with at most three symptoms of inattention and three symptoms of hyperactivity/impulsivity determined by the SNAP IV completed by the teachers was matched according to gender and age for each positive case selected in the schools.

Screening procedures

First, we contacted the schools to obtain the authorization to start the investigation. A child and adolescent psychiatrist visited the schools to inform teachers about the research project and ADHD. Research assistants were extensively trained to help teachers to complete the SNAP IV. They visited the schools and asked the teachers to complete the SNAP IV for each student considered as having attentional problems. Selected subjects, controls, and their families were invited to participate in the diagnostic phase of the study.

The project was approved by the Ethical Committee of our University Hospital (approved as an IRB by the Office for Human Research Protections, United States of America - IRB 00000921). Written informed consent was obtained from parents for the assessment of children. These children or adolescents provided verbal assent to participate in the study.

Diagnostic procedures

The diagnosis of ADHD-I and its co-morbidities were performed by a three-stage process: a) evaluation with a semi-structured interview (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version – K-SADS-E)⁴⁶, modified to assess DSM IV criteria and administered to the parents by trained research assistants. The interrater reliability for the ADHD diagnosis was previously assessed (Kappa coefficient = 0.94; $p < 0.001$)⁴⁷; b) discussion of each diagnoses derived from the K-SADS-E in a clinical committee chaired by an experienced child and adolescent psychiatrist (LAR); c) clinical evaluation of ADHD-IT and comorbid conditions using DSM IV criteria by a child and adolescent psychiatrist who previously received the results of the K-SADS-E and conducted interviews with parents and the child or adolescent. When a diagnostic disagreement occurred in the three-stage process, priority was given to diagnosis derived from clinical interviews. In addition to this diagnostic procedure, the clinician used the Children's Global Assessment Scale (CGAS) to estimate subject's overall functioning. The CGAS is a widely used measure of child and adolescent global functioning with adequate psychometric properties (test-retest and interrater reliability/concurrent and discriminative validity)⁴⁸. The scale allows scores from 0 to 100. The higher the scores, the better the global functioning⁴⁹.

Cognitive evaluation relied on the Vocabulary and Block Design subtests of the WISC III administered by trained psychologists to estimate the subjects' overall IQ⁵⁰.

After this evaluation process, the exclusion criteria were defined as an estimated IQ < 70 and the diagnosis of psychosis. To assure that we are dealing with real ADHD – inattentive type, we only included cases fulfilling DSM-IV criteria for ADHD inattentive type but presenting at most three symptoms of hyperactivity-impulsivity after this extensive evaluation.

Parents were also evaluated for past (childhood) and present diagnosis of ADHD by a child and adolescent psychiatrist, using the ADHD module of the K-SADS-E, modified to assess DSM IV criteria, a strategy used in several previous studies^{21 51}.

Information about demographic data, pre- and perinatal factors was systematically collected from the parents. Socioeconomic status was defined according to the socioeconomic scale of the *Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado*⁵².

The flow chart of the patients' participation in the study is shown in figure 1.

INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE

Genotyping

High-molecular-weight genomic DNA was extracted from whole blood by a salting-out procedure⁵³. Protocols for polymerase chain reaction amplifications of genomic DNA samples, and genotyping were conducted as previously described^{11;18 54}.

Data analysis

Allele frequencies were estimated by counting. For family-based association analysis we used the original TDT (i.e., a McNemar's χ^2 test of biased transmission alleles from heterozygous parents to their affected offspring)⁵⁵ and the haplotype relative risk (HRR) statistics⁵⁶. For the HRR analysis, both trios composed of father, mother, and affected child and parent/proband pairs were included, and heterozygotes parent/proband pairs with the same genotype were excluded since the transmission status of parental alleles could not be determined⁵⁷.

In the case-control association approach we used conditional logistic regression analysis⁵⁸ to compare demographic, perinatal, clinical variables, and the genotype

frequencies between probands and controls. All variables showing some level of association ($P < 0.20$) with both dependent and independent variables were considered potential confounders. Since case-control approach has the potential for population stratification, we also tested whether ethnicity would change the results of the conditional logistic regression. A significance level of 5% was accepted in all other analyses.

RESULTS

We genotyped 100 ADHD-I probands and 100 non-ADHD controls. We also genotyped 173 parents (fathers and mothers) assessed from 73 mother, father, and affected child or adolescent trios, and 27 mother/child or adolescent pairs. Demographic and clinical variables for probands and controls are shown in table 1. We found significant differences between the groups in relation to maternal ADHD ($p < 0.001$), estimated IQ ($p = 0.002$), co-morbidity with oppositional defiant disorder (ODD) ($p = 0.001$), generalized anxiety disorder (GAD) ($p = 0.05$), and social phobia ($p = 0.004$).

INSERT TABLE 1 ABOUT HERE

ADRA2A

The allele frequencies calculated from unrelated European-derived patients were 0.64 for the -1291C allele and 0.36 for the -1291G allele. The genotype frequencies in the investigated subjects were 0.45 for CC homozygotes, 0.37 for CG heterozygotes, and 0.18 for GG homozygotes. These frequencies were under Hardy-Weinberg equilibrium.

We obtained data on allele transmission for HRR analysis from 97 families. The analysis revealed a non-significant association of the *ADRA2A* -1291 C>G variant and ADHD-I, since no allele was preferentially transmitted (see Table 2). Similar findings were obtained through TDT analyses (available upon request).

INSERT TABLE 2 ABOUT HERE

In the case-control analysis, we verified that homozygous GG children at the *ADRA2A* -1291 C>G polymorphisms were significantly more frequent in the ADHD-I probands (20%) than in controls (8%) ($p = 0.017$; OR = 4.01; $CI_{95} = 1.29-12.51$), even after adjusting for potential confounders (maternal ADHD, co-morbidity with social phobia, and maternal use of alcohol during pregnancy) (see Table 3).

INSERT TABLE 3 ABOUT HERE

DBH

The allele frequencies in the unrelated Caucasian patients were 0.37 for the A1 allele and 0.63 for the A2 allele. The genotype frequencies in these individuals were 0.18, 0.39, and 0.43 for A1A1, A1A2, and A2A2 individuals, respectively. These frequencies were under Hardy-Weinberg equilibrium.

We obtained information on allele transmission for HRR analysis from 92 families. The analysis revealed a non-significant association of the DBH *TaqI* alleles and ADHD-I. No significant association was evidenced at both the case-control ($p = 0.54$; OR = 0.82; $CI_{95} = 0.43 - 1.56$) and the TDT approaches as well.

DRD4

The 4-repeat (60%), the 7-repeat (25%), and the 2-repeat (7%) alleles were the most prevalent variants at the DRD4 locus. The most common genotypes were 4/4 (0.37), 4/7 (0.27), 2/4 (0.10) and 7/7 (0.10), being under Hardy-Weinberg equilibrium.

HRR analysis in 98 families showed no overall evidence of association between DRD4 and ADHD-I. There was no evidence of case-control differences in the frequency of the 7-repeat allele ($p = 0.97$; OR = 1.01; CI₉₅ = 0.53 – 1.94). Similar findings were obtained through TDT analyses.

DAT1

The most common alleles at the DAT1 gene were the 10-repeat allele (79%) and the 9-repeat allele (20%). The genotype frequencies were 0.597 and 0.387 for 10/10 and 9/10 individuals, respectively. These frequencies were under Hardy-Weinberg equilibrium.

We failed to observe preferential transmission of any allele in the HRR analysis for DAT1 in 93 families. There was no evidence of case-control differences in the frequency of the 10-repeat allele ($p = 0.6$; OR = 1.19; CI₉₅ = 0.62 – 2.30), as well as a preferential transmission in the TDT analyses.

Gene to gene interaction

In secondary analyses, we investigated the effects of gene to gene interaction using conditional logistic regression analyses. Due to sample size restrictions, only two way interactions were assessed. Thus, six possible interactions were tested (for DRD4: presence of the 7R allele; for DAT1: homozygosity of the 10R; for DBH: presence of the allele 2; for ADRA2A: homozygosity for the G allele). Interactions were tested in the context of the main effect of individual risk alleles or genotypes. In addition, potential confounders identified for the two individual genes that were entered in each model

were kept in these analyses. No significant effect of any of the six interactions tested was found (available upon request).

DISCUSSION

In a sample of Brazilian ADHD-I probands and their families, no association between *ADRA2A*, *DBH*, *DRD4*, and *DAT1* and the disorder was observed through family-based association methods. In the case-control approach, we found that homozygosity for G allele at the $-1291C>G$ *ADRA2A* gene was significantly more frequent in the ADHD-I probands than in controls, even after adjusting for potential confounders.

Using family-based approach, we failed to demonstrate association between the adrenergic receptor alpha-2-A gene and ADHD inattentive type. No preferential transmission of the $-1291C>G$ G allele was detected in the HRR or TDT analysis. However, when we compared the probands and non-ADHD controls, we found an evidence of association for the $-1291C>G$ G allele and ADHD-I. To the best of our knowledge, this is the first study showing such an association. In addition, these results concur with other studies using dimensional analysis that suggest a more significant role for the noradrenergic system in the symptoms of inattention. Two of these studies included independent samples from our population and assessed *ADRA2A*. The most recent of them assessed 128 children and adolescent with DSM IV ADHD. The subjects were grouped according to $-1291 C>G$ genotypes (CC, CG, or GG) and compared on parental SNAP IV scores. The association between inattention symptoms and *ADRA2A* (GG genotype) was again verified⁴⁴. At least in our population, this gene seems to be related to inattention aspects of ADHD^{21;44}. The observation of a similar result in a completely different sample obtained from a previously investigated population is the strongest evidence of replication available for a complex disease such as ADHD⁵⁹. Our findings corroborate to studies showing that inattention and

hyperactivity-impulsivity are related, but separated, symptom domains^{60;61}. Therefore, it is possible to speculate that different genetic components might be related to each of these symptomatic dimensions.

It is important to stress that inconsistencies between findings from family-based and case-control approaches were detected in the analysis of the association of ADRA2A and ADHD-I. The absence of preferential transmission of either –1291C>G allele in our ADHD families could suggest that this ADRA2A variant does not confer susceptibility to the disorder. This would be consistent with previous findings from our group that suggested that this variant may be a modifier gene and not a susceptibility gene²¹. However, the negative family-based results could be explained by the probable small effect of this gene in the disorder, an effect that would be difficult to detect in association studies with small samples⁶². Therefore, the use of different approaches, such as the case-control study, would be more effective in detecting small genetic effects. Besides, Bobb et al.¹⁰, in a review on molecular genetic studies, observed that 46% of the 26 studies using family-based and case-control approaches on the same population and polymorphism found divergent results, indicating that both methods should be used to prevent the possibility of type II error.

In both approaches used in this study (family-based and case-control), no association of the DBH gene with ADHD-I was found. Our results concur with most studies about this gene. In two of them, the association was with the presence of the *TaqI* restriction site^{11;12}, but in other two studies the risk allele was the absence of this restriction site^{13;63}.

Also, we were not able to identify association among the dopaminergic genes and ADHD inattentive type. No preferential transmission of the 7-repeat allele at DRD4 and the 10-repeat allele at DAT1 were detected in the TDT and HRR analysis. When we compared the probands to non-ADHD controls, no evidence of association was found, as well. These findings are in agreement with other studies. Despite there are already two meta-analyses for DRD4 pointing to the association of this gene with

ADHD in general, the studies that assessed the inattention symptoms dimension have divergent results. Swanson et al.⁴², assessing the influence of risk alleles in ADHD subjects using specific neuropsychological tests for attentional capacity, showed a worse attentional performance in the group without the DRD4 7R risk allele. Recently, a study investigated the relationship between dopamine D4 receptor gene alleles and subtypes of the disorder did not find a significant association for the inattentive type⁶⁴. However, there are studies with positive results for this association^{39;40}. The studies are even less conclusive for the DAT1. Maher et al.⁸, in a meta-analysis including 11 studies with a total of 824 informative meioses yielded a non-significant pooled odds ratio estimate of 1.27 for the 480-bp allele. Later, there were positive⁶⁵⁻⁶⁷ and negative^{13;68;69} findings on this association.

Some of the strengths of this study are: a) we examined a non-referred sample, which is more representative of the population; b) a sample including only ADHD inattentive type cases that were extensively assessed. Besides, the ADHD-I diagnosis was performed by clinical assessment, being considered as subjects only those with at most three symptoms of hyperactivity/impulsivity. These careful diagnostic procedures increased the probability that the sample consists of subjects that represent this specific subtype, avoiding the inclusion of the subthreshold ADHD combined cases (those with at least six symptoms of inattention and four or five symptoms of hyperactivity/impulsivity). Finally, the results were shown in a context of conservative statistical analyses, since a broader statistical definition of potential confounders was accepted including also main confounders described in the literature in the analyses.

However, there are some limitations of this study that should be considered. First, case-control analyses always have the potential for populational stratification. However, we were not able to identify significant differences in the allelic frequencies for the ADRA2A between sub-groups composed by Caucasian and non-Caucasian. Besides, even with the performance of the stratified analysis according to ethnicity, the results for ADRA2A showed the same direction. Finally, even adjusting for ethnicity in

the final conditional logistic regression, the results are still significant. Second, we assessed a relatively small sample size. However, as far as we are aware, this study included the largest sample of clinically assessed non-referred subjects with specific ADHD-I.

In summary, although the family-based methods (HRR and TDT) showed no significant associations between the candidate genes and ADHD-I, we are not able to refute their importance in the etiology of the disorder. Maybe with other polymorphisms of these candidate genes it would be possible to find out positive associations. Also a probable small effect of these genes explains our negative results with these approaches. However, we emphasize that our positive findings with a non-referred sample provide evidence that the ADRA2A is associated with ADHD-I, supporting other studies in the literature on the importance of the noradrenergic system in the pathophysiology of ADHD. Moreover, the strongest evidence of replication one can find in a complex disease such as ADHD is exactly the observation of a similar result in a completely different sample obtained from a previously investigated population. The search for other polymorphisms at the ADRA2A locus is warranted to further clarify the putative effect of this gene on ADHD and its subtypes.

Reference List

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed). Washington DC American Psychiatric Press . 1994.
2. Faraone SV, Sergeant JA, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003;2(2):104-13.
3. Krall EA, Valadian I, Dwyer JT, Gardner J. Accuracy of recalled smoking data. *Am.J.Public Health* 1989;79:200-2.
4. 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* 1999;38:716-22.
5. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA *et al.* Molecular Genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder • REVIEW ARTICLE. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1313-23.
6. Asherson PJ, Curran S. Approaches to gene mapping in complex disorders and their application in child psychiatry and psychology. *Br.J.Psychiatry* 2001;179:122-8.
7. Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Psychiatry* 2001;158:1052-7.
8. Maher BS, Marazita ML, Ferrell RE, Vanyukov MM. Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychiatr.Genet.* 2002;12:207-15.
9. Biederman J, Spencer T, Wilens T. Evidence-based pharmacotherapy for attention-deficit hyperactivity disorder. *Int.J.Neuropsychopharmacol.* 2004;7:77-97.
10. Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK *et al.* Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2005;134:67-72.
11. Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol.Psychiatry* 1999;4:192-6.
12. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence for the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and the dopamine-beta-hydroxylase gene. *Am.J.Med.Genet.* 2002;114:154-8.
13. Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R *et al.* Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;119:77-85.

14. Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M *et al.* Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine Beta-hydroxylase. *Am.J.Psychiatry* 2002;159:1046-8.
15. Biederman J, Spencer T. Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol.Psychiatry* 1999;46:1234-42.
16. Franowicz JS, Arnsten AF. The alpha-2a noradrenergic agonist, guanfacine, improves delayed response performance in young adult rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;136:8-14.
17. Jakala P, Riekkinen M, Sirvio J, Koivisto E, Kejonen K, Vanhanen M *et al.* Guanfacine, but not clonidine, improves planning and working memory performance in humans. *Neuropsychopharmacology* 1999;20:460-70.
18. Lario S, Calls J, Cases A, Oriola J, Torras A, Rivera F. Mspl identifies a biallelic polymorphism in the promoter region of the alpha 2A-adrenergic receptor gene. *Clin.Genet.* 1997;51:129-30.
19. Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Blake H, Wu S, MacMurray JP. Additive effect of three noradrenergic genes (ADRA2a, ADRA2C, DBH) on attention-deficit hyperactivity disorder and learning disabilities in Tourette syndrome subjects. *Clin.Genet.* 1999;55:160-72.
20. Park I, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rappley M, *et al.* Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Mol.Psychiatry* , 1-9. 2004.
21. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;120:116-20.
22. Xu C, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL *et al.* Linkage study of the alpha2A adrenergic receptor in attention-deficit hyperactivity disorder families. *Am.J.Med.Genet.* 2001;105:159-62.
23. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:4-16.
24. Faraone SV, Biederman J. Do attention deficit hyperactivity disorder and major depression share familial risk factors? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1997;185:533-41.
25. Jensen PS, Martin D, Cantwell DP. Comorbidity in ADHD: implications for research, practice, and DSM-V. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:1065-79.
26. Gaub M, Carlson CL. Behavioral characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1997;25:103-11.
27. Marshall RM, Hynd GW, Handwerk MJ, Hall J. Academic underachievement in ADHD subtypes. *J.Learn.Disabil.* 1997;30:635-42.
28. Parternite CE, Loney J, Roberts MA. A preliminary validation of subtypes of DSM-V attention deficit hyperactivity disorder. *J.Attention Disorders* 1996;1:70-86.

29. Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J. Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:319-24.
30. Eiraldi RB, Power TJ, Nezu CM. Patterns of comorbidity associated with subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder among 6- to 12-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:503-14.
31. Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL. Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:185-93.
32. Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW *et al.* DSM-IV field trials for attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Am.J.Psychiatry* 1994;151:1673-85.
33. Lahey BB, Pelham WE, Stein MA, Loney J, Trapani C, Nugent K *et al.* Validity of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder for younger children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:695-702.
34. McBurnett K, Pfiffner LJ, Willcutt E, Tamm L, Lerner M, Ottolini YL *et al.* Experimental cross-validation of DSM-IV types of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:17-24.
35. McBurnett K, Lahey BB, Rathouz PJ, Loeber R. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Arch.Gen.Psychiatry* 2000;57:38-43.
36. Brito GN, Pereira CC, Santos-Morales TR. Behavioral and neuropsychological correlates of hyperactivity and inattention in Brazilian school children. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:732-9.
37. Gansler DA, Fucetola R, Krengel M, Stetson S, Zimering R, Makary C. Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1998;186:776-81.
38. Woo BS, Rey JM. The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 2005;39:344-53.
39. Rowe DC, Stever C, Giedinghagen LN, Gard JM, Cleveland HH, Terris ST *et al.* Dopamine DRD4 receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Mol.Psychiatry* 1998;3:419-26.
40. Rowe DC, Stever C, Chase D, Sherman S, Abramowitz A, Waldman ID. Two dopamine genes related to reports of childhood retrospective inattention and conduct disorder symptoms. *Mol.Psychiatry* 2001;6:429-33.
41. McCracken JT, Smalley SL, McGough JJ, Crawford L, Del'Homme M, Cantor RM *et al.* Evidence for linkage of a tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol.Psychiatry* 2000;5:531-6.
42. Swanson J, Oosterlaan J, Murias M, Schuck S, Flodman P, Spence MA *et al.* Attention deficit/hyperactivity disorder children with a 7-repeat allele of the dopamine receptor D4 gene have extreme behavior but normal performance on

- critical neuropsychological tests of attention. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2000;97:4754-9.
43. Qian Q, Wang Y, Zhou R, Li J, Wang B, Glatt S *et al.* Family-based and case-control association studies of catechol-O-methyltransferase in attention deficit hyperactivity disorder suggest genetic sexual dimorphism. *Am.J.Med Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;118:103-9.
 44. Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence of involvement of alpha 2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional score of ADHD. *Submitted.*
 45. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB *et al.* Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:168-79.
 46. Orvaschel H. Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents. *Psychopharmacol.Bull.* 1985;21:737-45.
 47. Polanczyk GV, Eizirik M, Aranovich V, Denardin D, da Silva TL, da Conceicao TV *et al.* Interrater agreement for the schedule for affective disorders and schizophrenia epidemiological version for school-age children (K-SADS-E). *Rev.Bras.Psiquiatr.* 2003;25:87-90.
 48. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H *et al.* A children's global assessment scale (CGAS). *Arch.Gen.Psychiatry* 1983;40:1228-31.
 49. Green B, Shirk S, Hanze D, Wanstrath J. The Children's Global Assessment Scale in clinical practice: an empirical evaluation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1994;33:1158-64.
 50. Wechsler D. WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation, 1991.
 51. Biederman J, Faraone SV, Monuteaux MC, Bober M, Cadogen E. Gender effects on attention-deficit/hyperactivity disorder in adults, revisited. *Biol.Psychiatry* 2004;55:692-700.
 52. Galduróz JCF, Noto AR, Carlini EA. IV Levantamento sobre o uso de drogas entre estudantes de primeiro e segundo grau em dez capitais brasileiras. São Paulo: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 1997.
 53. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
 54. Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 1993;91:405-6.
 55. Ewens WJ, Spielman RS. The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture. *Am.J.Hum.Genet.* 1995;57:455-64.
 56. Terwilliger JD, Ott J. A haplotype-based 'haplotype relative risk' approach to detecting allelic associations. *Hum.Hered.* 1992;42:337-46.

57. Curtis D, Sham PC. A note on the application of the transmission disequilibrium test when a parent is missing. *Am.J.Hum.Genet.* 1995;56:811-2.
58. Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2000.
59. Talmud PJ, Humphries SE. Genetic polymorphisms, lipoproteins and coronary artery disease risk. *Curr Opin.Lipidol.* 2001;12:405-9.
60. Hudziak JJ, Heath AC, Madden PF, Reich W, Bucholz KK, Slutske W *et al.* Latent class and factor analysis of DSM-IV ADHD: a twin study of female adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:848-57.
61. Rohde LA, Barbosa G, Polanczyk G, Eizirik M, Rasmussen ER, Neuman RJ *et al.* Factor and latent class analysis of DSM-IVADHD symptoms in a school sample of Brazilian adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:711-8.
62. Crowe RR. Candidate genes in psychiatry: an epidemiological perspective. *Am.J.Med Genet* 1993;48:74-7.
63. Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH, Gade R, Ahn C *et al.* Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct, and oppositional defiant disorder: the additive and subtractive effect of the three dopaminergic genes--DRD2, D beta H, and DAT1. *Am.J.Med Genet* 1996;67:264-88.
64. Frank Y, Pergolizzi RG, Perilla MJ. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr.Neurol.* 2004;31:345-8.
65. Chen CK, Chen SL, Mill J, Huang YS, Lin SK, Curran S *et al.* The dopamine transporter gene is associated with attention deficit hyperactivity disorder in a Taiwanese sample. *Mol.Psychiatry* 2003;8:393-6.
66. Hawi Z, Lowe N, Kirley A, Gruenlage F, Nothen M, Greenwood T *et al.* Linkage disequilibrium mapping at DAT1, DRD5 and DBH narrows the search for ADHD susceptibility alleles at these loci. *Mol.Psychiatry* 2003;8:299-308.
67. Kustanovich V, Ishii J, Crawford L, Yang M, McGough JJ, McCracken JT *et al.* Transmission disequilibrium testing of dopamine-related candidate gene polymorphisms in ADHD: confirmation of association of ADHD with DRD4 and DRD5. *Mol.Psychiatry* 2004;9:711-7.
68. Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, Lanphear BP. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors. *J.Pediatr.* 2003;143:104-10.
69. Marino C, Giorda R, Vanzin L, Molteni M, Lorusso ML, Nobile M *et al.* No evidence for association and linkage disequilibrium between dyslexia and markers of four dopamine-related genes. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2003;12:198-202.

Figure 1. Flow chart of the patients' participation.

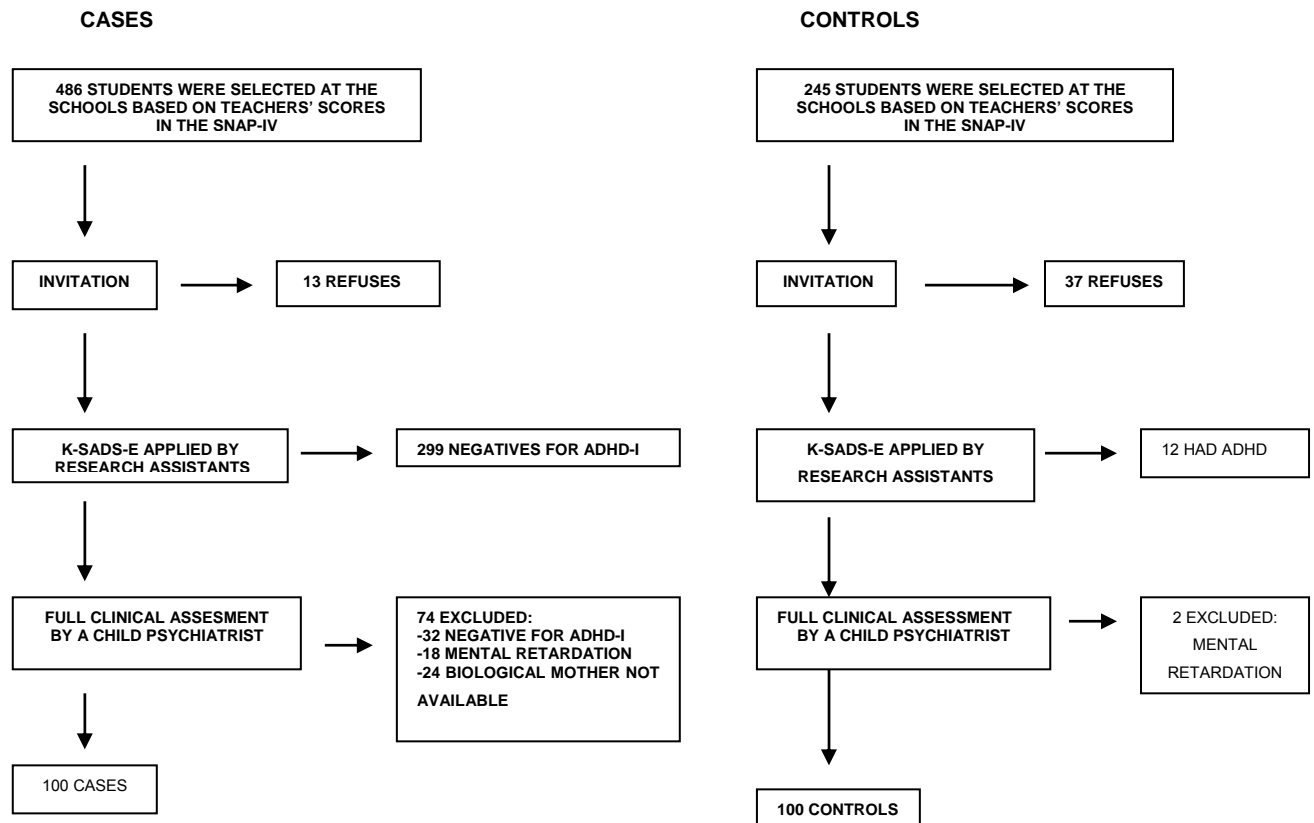


Table 1. Demographic and clinical characteristics of cases with ADHD-I (n = 100) and controls (n = 100)

Characteristic	ADHD-I	Controls	<i>p</i> value
Average age (SD), months	142 (39.5)	140 (38.5)	0.72
Gender (male), %	68	68	1
Ethnicity (Caucasian), %	62	73	0.13
Average schooling (SD), years	4.4 (2.7)	4.7 (3)	0.12
SES (middle class), %	49	56	0.13
Maternal ADHD, %	28	3	< 0.001
Average estimate IQ (SD)	94 (11)	99.3 (11.4)	0.001
Alcohol use in pregnancy, %	9	4	0.2
Average birth weight (SD), kg	3.32 (0.6)	3.29 (0.6)	0.74
Average maternal age			
at delivery (SD), years	27 (6.5)	27.6 (6.7)	0.53
Co-morbidities, %			
Mood disorders			
Major depression	4	1	0.25
Dysthymia	4	1	0.22
Anxiety disorders			
Simple phobia	21	19	0.69
GAD	14	5	0.05
SAD	8	3	0.18
Social phobia	21	5	0.004
Agoraphobia	11	5	0.1
Disruptive behavior disorders			
ODD	38	14	0.001
CD	2	1	0.57

ADHD-I: attention deficit/hyperactivity disorder - inattentive type; SD: standard deviation; NS: non-significant; SES: socioeconomic status; GAD: generalized anxiety disorder; SAD: separation anxiety disorder; ODD: oppositional defiant disorder; CD: conduct disorder.

Table 2. HRR Analyses of ADRA2A, DBH, DRD4, and DAT1 Genes

	ADRA2A		DBH		DRD4		DAT1	
	G+	Total	A2+	Total	7+	Total	10+	Total
Transmitted	71	170	103	165	39	170	116	163
Not transmitted	73	170	98	165	42	170	111	163
Total	144	340	201	330	81	340	227	326

ADRA2A - $\chi^2 = 0.01$; $p = 0.91$; G + : presence of the G allele; 97 patients, 74 trios, and 23 parent/child pairs.
DBH - $\chi^2 = 0.20$; $p = 0.65$; A2 + : presence of the A2 allele; 92 patients, 73 trios, and 19 parent/child pairs.
DRD4 - $\chi^2 = 0.06$; $p = 0.80$; 7 + : presence of the 7 allele; 98 patients, 74 trios, and 24 parent/child pairs.
DAT1 - $\chi^2 = 0.23$; $p = 0.63$; 10 + : presence of the 10 allele; 92 patients, 72 trios, and 20 parent/child pairs.

Table 3. Case-Control Analysis of ADRA2A (GG homozygosis)

	Wald χ^2	<i>p</i> value	OR	CI - 95%
Maternal ADHD	11.42	0.001	17.06	3.29 – 88.40
Alcohol use during pregnancy	0.13	0.72	1.29	0.33 – 5.06
Social phobia	8.44	0.004	9.68	2.09 – 44.78
GG homozygosis	5.74	0.017	4.01	1.29 – 12.51

OR: odds ratio; CI: confidence interval; ADHD: attention-deficit hyperactivity disorder.

ASSOCIAÇÃO DO GENE DO RECEPTOR ADRENERGICO α -2A COM TDAH COM PREDOMÍNIO DE DESATENÇÃO

Schmitz M¹, Denardin D¹, Silva TL¹, Pianca TG¹, Roman T², Hutz MH², Faraone S³, Rohde LA¹

¹Programa de Déficit de Atenção/Hiperatividade – PRODAH, Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. ²Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. ³Departamento de Psiquiatria, Upstate Medical University, Nova Iorque, EUA. Correspondência: Dr Luis Augusto Rohde Serviço de Psiquiatria da Infância e Adolescência, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Porto Alegre, Brasil, CEP 90035-003.

Este projeto teve o apoio financeiro através de verbas de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (307780/2004-0), do Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX), do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e da companhia farmacêutica Eli Lilly do Brasil Ltda.

Conflitos de Interesse: O PRODAH recebe apoio financeiro para projetos de pesquisa das seguintes companhias farmacêuticas: Bristol-Myers Squibb, Eli Lilly, Janssen-Cilag e Novartis. O Dr. Rohde é palestrante ou consultor para as mesmas companhias. O Dr. Schmitz é palestrante para Novartis e Janssen-Cilag. O Dr. Faraone recebe apoio financeiro para projetos de pesquisa das seguintes fontes: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Shire Laboratories, Eli Lilly & Company, NIMIH, NICHD e National Institute of Neurological Diseases and Stroke. O Dr. Faraone é palestrante para Eli Lilly & Company, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals e Shire Laboratories. O Dr. Faraone também mantém relação como consultor ou assessor das seguintes companhias farmacêuticas: McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Noven Pharmaceuticals, Shire Laboratories e Eli Lilly & Company.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a associação de quatro genes candidatos (receptor adrenérgico α -2A [*ADRA2A*], receptor dopaminérgico D4 [*DRD4*], transportador de dopamina [*DAT1*] e dopamina beta-hidroxilase [*DBH*]) e transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção (TDAH-D).

Métodos: Num estudo intra-familiar e de caso-controle, avaliamos uma amostra de 100 crianças e adolescentes (e seus pais) com TDAH-D e 100 controles sem TDAH. O diagnóstico de TDAH-D e comorbidades foi realizado através dos critérios do DSM IV por meio de uma entrevista semi-estruturada (K-SADS-E) + entrevistas clínicas tanto com os sujeitos como com seus pais.

Resultados: As análises intra-familiares (HRR – risco relativo de haplótipos; TDT – teste de desequilíbrio de transmissão) não demonstraram associações significativas entre os genes candidatos e o TDAH-D. Na abordagem de caso-controle, verificamos que a homozigose do alelo G do *ADRA2A* foi significativamente mais freqüente nos probandos (20%) do que nos controles (8%), mesmo após ajuste para potenciais confundidores ($p= 0.017$; OR= 4.01; IC₉₅= 1,29-12,51).

Conclusão: Este estudo com uma amostra não referida fornece uma evidência de que o *ADRA2A* está associado com o TDAH-D, estando de acordo com outros estudos na literatura sobre a importância do sistema noradrenérgico na fisiopatologia do TDAH.

Palavras-chave: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção; receptores adrenérgicos; gene do *ADRA2A*.

INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH) está entre os transtornos mentais mais comuns em crianças e adolescentes, com prevalência estimada entre 3 e 10%¹⁻⁴. As causas do TDAH ainda não estão esclarecidas, mas estudos de família, de gêmeos e com adotados têm descrito uma alta herdabilidade neste transtorno, sugerindo assim uma forte influência genética⁵.

Os genes ligados ao sistema de neurotransmissores dopaminérgicos são os mais estudados. O mais robusto achado em TDAH é a associação de um polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) no exon 3 do gene do receptor D4 de dopamina (DRD4)⁶. A grande maioria dos estudos tem se focado no alelo de 7 repetições (7R) do polimorfismo VNTR de 48 pares de base (48pb). Duas meta-análises foram realizadas investigando sujeitos com TDAH e DRD4, demonstrando associação positiva entre eles^{7;8}.

O transportador de dopamina (DAT1) está fortemente implicado no TDAH visto que ele é inibido pelo metilfenidato (MFD), que é o principal tratamento farmacológico para o TDAH⁹. Estudos de 10 polimorfismos no gene do DAT1 foram relatados, principalmente o alelo de 40pb no exon 15. Embora o achado de que o alelo 10R confere risco para o TDAH seja o segundo mais replicado, os resultados globais dos estudos deixam dúvidas¹⁰.

Os estudos dos genes do sistema noradrenérgico concentram-se no gene que codifica a enzima dopamina beta-hidroxilase (DBH), que converte a dopamina em noradrenalina. Daly et al¹¹ foram os primeiros a testar a associação entre um polimorfismo desse gene e TDAH. Depois disso outros três estudos evidenciaram essa associação¹²⁻¹⁴. Contudo, os resultados foram negativos para outros 6 polimorfismos do DBH¹⁰.

Os genes que codificam os receptores adrenérgicos também têm sido estudados. Estudos em animais sugerem que projeções noradrenérgicas no córtex pré-frontal potencializam a função cortical pré-frontal, como a memória de trabalho,

basicamente através de receptores pós-sinápticos alfa-2. Dos diversos tipos de receptores alfa-2 no cérebro, o mais promissor para estudos é o alfa-2-A (ADRA2A). Este receptor está expresso em muitas áreas cerebrais, mas é o receptor noradrenérgico mais prevalente no córtex pré-frontal. Evidências farmacológicas em animais e humanos dão suporte à importância do sistema noradrenérgico, e em especial o ADRA2A, em operações cognitivas do córtex pré-frontal que estão provavelmente envolvidas no TDAH ¹⁵⁻¹⁷. O ADRA2A está localizado no cromossomo 10q23-25. O polimorfismo -1291 C>G foi identificado na região promotora do ADRA2A ¹⁸. Apenas quatro estudos avaliaram a associação deste polimorfismo do ADRA2A e TDAH, sendo os resultados contraditórios ¹⁹⁻²². Park et al ²⁰ encontraram associação entre este gene e TDAH através de TDT e avaliação dimensional por QTDT para escores de desatenção e hiperatividade-impulsividade. Nenhum destes estudos avaliou a associação do ADRA2A com TDAH com predomínio de desatenção.

Diferentes casos provavelmente apresentem fenomenologias particulares (heterogeneidade clínica) e, conseqüentemente, heterogeneidade etiológica. De fato, como sugerido em estudos com outras doenças psiquiátricas, esta heterogeneidade pode obscurecer um achado positivo. Assim, a redução da heterogeneidade clínica do TDAH, através do delineamento de subtipos, parece ser um recurso realmente importante em pesquisas dessa natureza, uma vez que tipos com componentes biológicos ou ambientais mais ou menos ativos podem ser identificados ²³⁻²⁵.

Diversos estudos têm sido publicados apontando diferenças no funcionamento social, acadêmico e comportamental entre os subtipos de TDAH ²⁶⁻²⁹, sendo que a maioria destes tem envolvido basicamente amostras clínicas ³⁰⁻³⁴. Estes estudos têm encontrado de forma consistente que os subtipos exibem diferentes padrões de prejuízo de acordo com as dimensões de sintomas apresentadas ³⁵ e muitos autores concordam que as maiores diferenças são encontradas entre o tipo desatento e os demais ^{23;36;37}. Também, em recente publicação, Woo & Rey ³⁸ afirmam que os estudos apontam que o tipo desatento é o mais comum, com aproximadamente metade dos

casos.

Dentro desta linha de raciocínio, alguns estudos têm avaliado a associação de genes candidatos e especificamente problemas atencionais, seja em avaliações dimensionais ou categóricas.

Nos estudos de Rowe et al ^{39;40}, foi verificada uma influência particular do alelo de 7R do DRD4 sobre a dimensão desatenção. Vários outros polimorfismos desse gene já foram estudados. McCracken et al ⁴¹ verificaram a transmissão preferencial do alelo de 240pb, mais significativa apenas quando casos com desatenção foram considerados. Swanson et al ⁴² foram responsáveis pela primeira publicação sobre a influência de alelos de risco no TDAH sobre o endofenótipo cognitivo, usando testes neuropsicológicos que avaliavam especificamente capacidade atencional em pacientes com TDAH. Contrário a hipótese do estudo, eles acharam um desempenho atencional prejudicado no grupo sem o alelo de risco de 7R do DRD4.

Qian et al ⁴³, avaliando numa amostra de chineses um polimorfismo do gene da COMT, encontraram uma associação significativa na subamostra de meninos com TDAH. Os resultados foram especialmente pronunciados no subtipo desatento. Roman et al ²¹, numa amostra de crianças e adolescentes brasileiros com TDAH, encontraram associação do gene ADRA2A em análises dimensionais nos grupos de sintomas que incluíam desatenção (desatento e combinado). Este dado foi replicado em amostra independente pelo mesmo grupo ⁴⁴.

Como podemos ver, não há estudos sobre a associação de genes candidatos com TDAH com predomínio de desatenção em amostras não referidas na literatura, o que é um passo adiante no conhecimento mais aprofundado da fisiopatologia dos subtipos de TDAH. Assim, o presente estudo tem com objetivo avaliar a associação entre TDAH com predomínio de desatenção e os genes candidatos acima referidos, numa amostra não clínica e exclusiva de indivíduos com este subtipo. Nossa hipótese é de que mais provavelmente os genes noradrenérgicos estão associados ao TDAH-D.

MÉTODOS

Sujeitos

A amostra do presente estudo foi obtida em 12 escolas da rede pública estadual de Porto Alegre. Estas escolas foram selecionadas por estarem localizadas em 3 bairros próximos ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os critérios de inclusão foram: a) idade entre 6 e 18 anos; b) contato com a mãe biológica; c) presença de pelo menos 4 sintomas de desatenção e no máximo 3 de hiperatividade / impulsividade detectados pelo professor que melhor conhecia o aluno na escola através do preenchimento de escala de triagem (SNAP-IV) ⁴⁵. Para cada caso positivo selecionado foi pareado um controle por sexo e idade que pontuasse no máximo 3 sintomas de desatenção e/ou 3 de hiperatividade/impulsividade na escala SNAP-IV preenchida pelo professor.

Procedimentos de triagem

Num primeiro momento, foi feito contato com as escolas para receber a autorização para realizar o estudo. Um psiquiatra de crianças e adolescentes realizou uma palestra para os professores de cada escola com informações sobre o projeto de pesquisa e sobre o TDAH. Os assistentes de pesquisa foram treinados com relação à abordagem dos professores e orientação destes quanto ao preenchimento do instrumento de triagem. Depois disso, os assistentes de pesquisa fizeram contato com os professores das 12 escolas, solicitando-lhes que identificassem todos os estudantes com problemas de desatenção. Para aqueles identificados, os professores preencheram um instrumento de triagem para o TDAH (SNAP-IV). Todos os estudantes positivos na triagem e os controles (e suas famílias) foram convidados a participar da fase diagnóstica do estudo.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de nosso Hospital Universitário (IRB 00000921). Os pais assinaram um Consentimento Escrito Pós Informado para a

avaliação de seus filhos. As crianças e adolescentes também consentiram quanto às suas participações no estudo.

Processo Diagnóstico

O diagnóstico de TDAH-D com ou sem comorbidade foi realizado em nossa clínica através de um processo de três estágios: a) avaliação com uma entrevista semi-estruturada (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children, Epidemiological Version – K-SADS-E)⁴⁶, modificada para avaliar os critérios do DSM-IV e aplicada aos pais por assistentes de pesquisa treinados. Esta entrevista já se encontrando traduzida para o português e em uso clínico em centros de referência nacionais de Psiquiatria da Infância e Adolescência. A confiabilidade inter-avaliador para o diagnóstico de TDAH foi avaliada previamente (coeficiente Kappa = 0.94; $p < 0.001$)⁴⁷; b) revisão de cada diagnóstico derivado do K-SADS-E em comitê clínico coordenado por um experiente psiquiatra de crianças e adolescentes (LAR); c) avaliação clínica do TDAH-D e comorbidades usando os critérios do DSM-IV realizada por um psiquiatra de crianças e adolescentes que previamente recebia os resultados do K-SADS-E, entrevistando os pais e o paciente. Além disso, o psiquiatra de crianças e adolescentes avaliou prejuízo através do uso da CGAS (Clinical Global Assessment Scale)⁴⁸. A CGAS é uma medida de funcionamento global de crianças e adolescentes amplamente usada com adequadas propriedades psicométricas (confiabilidade teste-reteste e inter-avaliador / validade concurrente e discriminativa)⁴⁸. A escala permite escores de 0 a 100. Quanto maiores os escores, melhor o funcionamento global⁴⁹).

A estimativa de QI foi realizada pela aplicação dos subtestes cubos e vocabulário da Escala de Inteligência Wechsler – Terceira Edição (WISC III)⁵⁰ por psicólogas treinadas.

Após este processo de avaliação, os critérios de avaliação foram definidos como um QI estimado < 70 e o diagnóstico de psicose. Para garantir que estávamos

tratando realmente com casos de TDAH-D, somente incluímos casos que preenchessem os critérios do DSM-IV para TDAH-D, mas com no máximo três sintomas de hiperatividade-impulsividade após esta extensa avaliação.

Os pais também foram avaliados em relação ao diagnóstico de TDAH passado (infância) e atual por um psiquiatra de crianças e adolescentes, usando o módulo de TDAH do K-SADS-E, modificado para avaliar os critérios do DSM IV, uma estratégia usada em diversos estudos prévios ^{21 51}.

Informações sobre dados demográficos, fatores pré e perinatais foram coletados sistematicamente com os pais. Nível sócio-econômico foi definido de acordo com a escala sócio-econômica da Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado ⁵².

O fluxograma de entrada de pacientes no estudo encontra-se na figura 1.

INSERIR FIGURA 1 AQUI

Genotipagem

DNA genômico de alto peso molecular foi extraído do sangue total pelo método de “salting-out” ⁵³. Os protocolos para as amplificações das amostras de DNA genômico e as genotipagens foram conduzidas como previamente descrito, bem como o uso dos “primers” ^{11;18;54}.

Análises Estatísticas

As frequências alélicas foram estimadas por contagem. Para análise de associação intra-familiar foi utilizado o TDT original (teste χ^2 de McNemar para transmissão alélica de pais heterozigotos e suas proles afetadas) ⁵⁵ e o HRR (risco relativo de haplótipos) ⁵⁶. Para o HRR foram incluídos tanto trios de pai, mãe e criança afetada, como pares de mãe e criança afetada, sendo excluídos os pares de mãe e

criança afetada heterozigotos para o mesmo genótipo, visto que não se pode determinar o modo de transmissão dos alelos parentais ⁵⁷.

Na abordagem de caso-controle foi usada a Análise de Regressão Logística Condicional ⁵⁸ para comparar as variáveis demográficas, perinatais e clínicas, assim como a freqüências dos genótipos entre casos e controles. Todas as variáveis que demonstraram algum nível de associação ($p < 0,20$) tanto com as variáveis dependentes como com as independentes foram consideradas potenciais confundidores. Já que a abordagem de caso-controle tem potencial para estratificação populacional, nós também testamos se a etnia poderia mudar os resultados da regressão logística condicional. O nível de significância aceito foi de 5% para todas as outras análises.

RESULTADOS

Genotipamos 100 probandos com TDAH-D e 100 controles sem TDAH. Também genotipamos 173 pais (pais e mães) de 73 trios e 27 pares. As variáveis demográficas e clínicas dos casos e controles estão demonstradas na tabela 1. Encontramos diferenças significativas entre os grupos em relação a diagnóstico materno de TDAH ($p < 0,001$), QI estimado ($p = 0,002$), comorbidade com TOD (transtorno oposicional desafiante) ($p = 0,001$), TAG (transtorno de ansiedade generalizada) ($p = 0,05$) e fobia social ($p = 0,004$).

INSERIR TABELA 1 AQUI

ADRA2A

As freqüências alélicas calculadas dos pacientes caucasóides foram de 0,64 para o alelo -1291 C e 0,36 para o alelo -1291 G. As freqüências genotípicas nos sujeitos investigados foram de 0,45 para homozigotos CC, 0,37 para heterozigotos CG

e 0,18 para homozigotos GG. Estas freqüências estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Obtivemos dados de 97 famílias para análise de transmissão alélica por HRR. As análises revelaram uma associação não significativa da variante -1291 C>G do ADRA2A e TDAH-D, visto que nenhum alelo foi transmitido preferencialmente (ver tabela 2). Achados semelhantes foram obtidos com o TDT (dado disponível conforme solicitação).

INSERIR TABELA 2 AQUI

Na análise de caso-controle, verificamos que crianças com homozigose GG para o polimorfismo -1291 C>G do ADRA2A foram significativamente mais freqüentes nos probandos com TDAH-D (20%) do que nos controles (8%) ($p = 0,017$; $RC = 4,01$; $IC_{95} = 1,29-12,51$), mesmo após ajuste para potenciais confundidores (TDAH materno, comorbidade com fobia social e uso materno de álcool durante a gestação(tabela 3).

INSERIR TABELA 3 AQUI

DBH

As freqüências alélicas nos pacientes caucasóides foram de 0,37 para o alelo A1 e 0,63 para o alelo A2. As freqüências genótípicas nestes indivíduos foram 0,18, 0,39 e 0,43 para A1A1, A1A2 e A2A2, respectivamente. Estas freqüências estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Obtivemos dados de 92 famílias para análise de transmissão alélica por HRR. As análises não revelaram uma associação significativa entre os alelos *TaqI* do DBH e TDAH-D. Nenhuma associação significativa foi verificada tanto no caso-controle ($p = 0,54$; $RC = 0,82$; $IC_{95} = 0,41 - 1,56$) como no TDT.

DRD4

Os alelos de 4-repetições (60%), de 7-repetições (25%) e de 2-repetições (7%) foram as variantes mais prevalentes no DRD4. Os genótipos mais comuns foram 4/4 (0,37), 4/7 (0,27), 2/4 (0,10) e 7/7 (0,10), estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

As análises de HRR em 98 famílias não demonstraram evidência de associação entre DRD4 e TDAH-D. Não houve evidência de diferenças entre casos e controles na frequência do alelo de 7-repetições ($p = 0,97$; $RC = 1,01$; $IC_{95} = 0,53 - 1,94$). Semelhantes achados foram obtidos com o TDT.

DAT1

Os alelos mais frequentes do DAT1 foram o de 10-repetições (79%) e o de 9-repetições (20%). As frequências genótípicas foram de 0,597 e 0,387 para indivíduos 10/10 e 9/10, respectivamente. Estas frequências estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Não houve evidência de diferença entre casos e controles para o alelo de 10-repetições ($p = 0,6$; $RC = 1,19$; $IC_{95} = 0,62 - 2,30$). Também não houve transmissão preferencial pelo TDT.

DISCUSSÃO

Numa amostra de probandos brasileiros com TDAH-D e suas famílias, nenhuma associação entre *ADRA2A*, *DBH*, *DRD4* e *DAT1* e o transtorno foi observada através de métodos de associação intra-familiar. Na abordagem de caso-controle, encontramos que a homozigose para o alelo G do *ADRA2A* foi significativamente mais frequente nos casos com TDAH-D do que nos controles, mesmo após ajuste para potenciais confundidores.

Utilizando a abordagem intra-familiar, não se demonstrou associação entre o receptor adrenérgico alfa-2-A e TDAH com predomínio de desatenção. Nenhuma transmissão preferencial do alelo -1291 C>G G foi detectada pelas análises HRR ou TDT. Contudo, quando comparamos os probandos e controles sem TDAH,

encontramos uma evidência de associação do alelo G com TDAH-D. Dentro do que sabemos, este é o primeiro estudo mostrando esta associação. Além disso, estes resultados concordam com outros estudos com análise dimensional que sugerem um papel significativo das vias noradrenérgicas nos sintomas de desatenção. Dois deles são com amostras independentes na nossa população e com avaliação do ADRA2A, parecendo indicar que, ao menos no nosso meio, este gene está ligado a aspectos de desatenção do TDAH ^{21;44}. O mais recente deles avaliou 128 crianças e adolescentes com TDAH pelos critérios do DSM IV. Os probandos foram agrupados de acordo com o genótipo -1291 C>G (CC, CG ou GG) e comparados com os escores dos pais no SNAP IV. A associação entre sintomas atencionais e ADRA2A (genótipo GG) foi novamente verificado ⁴⁴. A observação de resultados semelhantes em amostras completamente diferentes obtidas de populações previamente investigadas é a evidência de replicação mais forte disponível para um transtorno complexo como o TDAH ⁵⁹. Nossos achados corroboram estudos demonstrando que desatenção e hiperatividade-impulsividade são domínios de sintomas relacionados, mas separados ^{60;61}. Portanto é possível especular que diferentes componentes genéticos podem estar relacionados a cada uma das dimensões sintomáticas.

Cabe ressaltar que houve inconsistência entre os achados das abordagens intra-familiar e de caso-controle na análise da associação do gene do ADRA2A com TDAH com predomínio de desatenção. A ausência de transmissão preferencial do alelo G em nossas famílias com TDAH pode sugerir que essa variante do ADRA2A pode conferir suscetibilidade para o transtorno. Isso seria consistente com achados prévios do nosso grupo que sugeriram que esta variante pode ser um gene modificar e não um gene de suscetibilidade ²¹. Contudo, os resultados negativos na análise intra-familiar poderiam ser explicados pelo provável pequeno efeito deste gene no transtorno, um efeito que seria difícil de detectar em estudos de associação com amostras pequenas ⁶². Portanto, o uso de diferentes abordagens, tal como o estudo de caso-controle, seria mais efetivo em detectar pequenos efeitos genéticos. Além disso,

Bobb et al ¹⁰ numa revisão sobre estudos de genética molecular, identificaram que, dos 26 estudos que usaram family-based and case-control approaches nos mesmos polimorfismos e populações, 46% tiveram resultados divergentes com os dois métodos, indicando que ambos devem ser usados para prevenir a possibilidade de erro tipo II.

Em ambas as abordagens usadas neste estudo (intra-familiar e caso-controle), nenhuma associação do DBH com TDAH-D foi encontrada. Nossos resultados estão de acordo com a maioria dos estudos sobre este gene. Em dois deles, a associação foi com a presença do sítio de restrição *TaqI* ^{11;12}, mas em outros dois estudos o alelo de risco foi a ausência do sítio de restrição ^{13;63}.

Também não fomos capazes de identificar associação entre os genes dopaminérgicos e o TDAH-D. Nenhuma transmissão preferencial do alelo de 7-repetições do DRD4 e do alelo de 10-repetições do DAT1 foi detectada nas análises de TDT e HRR. Quando comparamos os probandos com os controles, também não encontramos evidência de associação. Esses achados estão de acordo com outros estudos.

Para o DRD4, apesar de já haver 2 meta-análises apontando para associação deste com o TDAH em geral, nos estudos que avaliam a dimensão de sintomas de desatenção, os resultados são contraditórios. Swanson et al ⁴² avaliando a influência de alelos de risco em pacientes com TDAH com testes neuropsicológicos específicos para capacidade atencional, evidenciaram um desempenho atencional prejudicado no grupo sem o alelo de risco de 7R do DRD4. Mais recentemente, um estudo investigou a relação entre um polimorfismo do gene do DRD4 e os subtipos do transtorno e não encontrou associação significativa para o subtipo desatento ⁶⁴. Contudo, há estudos que apontam para esta associação ^{39;40}. Para o DAT1, os estudos são menos conclusivos ainda. Uma meta-análise ⁸, incluindo 11 estudos com um total de 824 meioses informativas, resultou numa razão de chances combinada estimada não

significativa de 1,27 para o alelo de 480pb. Posteriormente, houve relatos positivos ⁶⁵⁻
⁶⁷ e negativos ^{13;68;69} desta associação.

Algumas das forças deste estudo são: a) examinamos uma amostra não referida, sendo assim mais representativa da população; b) uma amostra incluindo somente casos do subtipo desatento do TDAH que foram extensivamente avaliados. Além disso, do diagnóstico de TDAH-D foi realizado através de avaliação clínica sendo considerados casos somente aqueles com no máximo três sintomas de hiperatividade-impulsividade. Estes procedimentos diagnósticos cuidadosos aumentaram a probabilidade de que a amostra consistisse de sujeitos que representam este subtipo específico, evitando a inclusão de casos de TDAH combinado subliminar (aqueles com pelo menos 6 sintomas de desatenção e 4 ou 5 sintomas de hiperatividade-impulsividade). Por último, os resultados foram apresentados no contexto de análises estatísticas conservadoras, visto que uma definição estatística mais elástica dos potenciais confundidores foi aceita, incluindo também na análise os principais confundidores descritos na literatura.

Contudo, há limitações neste estudo que devem ser consideradas. Primeiro, as análises de caso-controle sempre têm o potencial para estratificação populacional. Porém, não identificamos diferenças significativas nas frequências alélicas para o ADRA2A entre os subgrupos compostos por caucasóides de não-caucasóides. Além disso, mesmo com a análise estratificada de acordo com a etnia, os resultados para o ADRA2A demonstraram a mesma direção. Ainda, mesmo ajustando para a etnia na regressão logística condicional final os resultados ainda permanecem significativos. Como uma segunda limitação, o fato de que avaliamos uma amostra relativamente pequena. Entretanto, pelo que podemos verificar, este estudo incluiu a maior amostra de indivíduos com o subtipo específico com predomínio de desatenção, não-referidos e clinicamente avaliados.

Em resumo, embora os métodos intra-familiares (HRR e TDT) não tenham mostrado associação positiva entre os genes candidatos e TDAH-D, não podemos

refutar a importância deles na etiologia do transtorno. Talvez com outros polimorfismos destes genes candidatos seja possível encontrar associações positivas. Também é possível que o pequeno efeito desses genes justifiquem os resultados negativos com esta abordagem. Entretanto, salientamos que nosso resultado positivo em uma amostra não referida fornece evidências de que o *ADRA2A* está associado com o TDAH-D, sustentando outros estudos na literatura sobre a importância do sistema noradrenérgico na fisiopatologia do TDAH. Além do mais, a evidência de replicação mais forte que se pode encontrar numa doença complexa tal como TDAH é exatamente a observação de um resultado similar numa amostra completamente diferente obtida de uma população previamente investigada. A busca por outros polimorfismos no locus *ADRA2A* é necessária para esclarecer o efeito presumível desse gene no TDAH e em seus subtipos.

Lista de Referências

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed). Washington DC American Psychiatric Press . 1994.
2. Faraone SV, Sergeant JA, Gillberg C, Biederman J. The worldwide prevalence of ADHD: is it an American condition? *World Psychiatry* 2003;2(2):104-13.
3. Krall EA, Valadian I, Dwyer JT, Gardner J. Accuracy of recalled smoking data. *Am.J.Public Health* 1989;79:200-2.
4. 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* 1999;38:716-22.
5. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA *et al.* Molecular Genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder • REVIEW ARTICLE. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1313-23.
6. Asherson PJ, Curran S. Approaches to gene mapping in complex disorders and their application in child psychiatry and psychology. *Br.J.Psychiatry* 2001;179:122-8.
7. Faraone SV, Doyle AE, Mick E, Biederman J. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am.J.Psychiatry* 2001;158:1052-7.
8. Maher BS, Marazita ML, Ferrell RE, Vanyukov MM. Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychiatr.Genet.* 2002;12:207-15.
9. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a selective overview. *Biol.Psychiatry* 2005;57:1215-20.
10. Bobb AJ, Addington AM, Sidransky E, Gornick MC, Lerch JP, Greenstein DK *et al.* Support for association between ADHD and two candidate genes: NET1 and DRD1. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2005;134:67-72.
11. Daly G, Hawi Z, Fitzgerald M, Gill M. Mapping susceptibility loci in attention deficit hyperactivity disorder: preferential transmission of parental alleles at DAT1, DBH and DRD5 to affected children. *Mol.Psychiatry* 1999;4:192-6.
12. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence for the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and the dopamine-beta-hydroxylase gene. *Am.J.Med.Genet.* 2002;114:154-8.
13. Smith KM, Daly M, Fischer M, Yiannoutsos CT, Bauer L, Barkley R *et al.* Association of the dopamine beta hydroxylase gene with attention deficit hyperactivity disorder: genetic analysis of the Milwaukee longitudinal study. *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;119:77-85.
14. Wigg K, Zai G, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M *et al.* Attention deficit hyperactivity disorder and the gene for dopamine Beta-hydroxylase. *Am.J.Psychiatry* 2002;159:1046-8.

15. Biederman J, Spencer T. Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) as a noradrenergic disorder. *Biol.Psychiatry* 1999;46:1234-42.
16. Franowicz JS, Arnsten AF. The alpha-2a noradrenergic agonist, guanfacine, improves delayed response performance in young adult rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;136:8-14.
17. Jakala P, Riekkinen M, Sirvio J, Koivisto E, Kejonen K, Vanhanen M *et al*. Guanfacine, but not clonidine, improves planning and working memory performance in humans. *Neuropsychopharmacology* 1999;20:460-70.
18. Lario S, Calls J, Cases A, Oriola J, Torras A, Rivera F. Msp1 identifies a biallelic polymorphism in the promoter region of the alpha 2A-adrenergic receptor gene. *Clin.Genet.* 1997;51:129-30.
19. Comings DE, Gade-Andavolu R, Gonzalez N, Blake H, Wu S, MacMurray JP. Additive effect of three noradrenergic genes (ADRA2a, ADRA2C, DBH) on attention-deficit hyperactivity disorder and learning disabilities in Tourette syndrome subjects. *Clin.Genet.* 1999;55:160-72.
20. Park I, Nigg JT, Waldman ID, Nummy KA, Huang-Pollock C, Rappley, M, *et al*. Association and linkage of alpha-2A adrenergic receptor gene polymorphisms with childhood ADHD. *Mol.Psychiatry* , 1-9. 2004.
21. Roman T, Schmitz M, Polanczyk GV, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Is the alpha-2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) associated with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Am.J.Med.Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;120:116-20.
22. Xu C, Schachar R, Tannock R, Roberts W, Malone M, Kennedy JL *et al*. Linkage study of the alpha2A adrenergic receptor in attention-deficit hyperactivity disorder families. *Am.J.Med.Genet.* 2001;105:159-62.
23. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J.Clin.Psychiatry* 1998;59 Suppl 7:4-16.
24. Faraone SV, Biederman J. Do attention deficit hyperactivity disorder and major depression share familial risk factors? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1997;185:533-41.
25. Jensen PS, Martin D, Cantwell DP. Comorbidity in ADHD: implications for research, practice, and DSM-V. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:1065-79.
26. Gaub M, Carlson CL. Behavioral characteristics of DSM-IV ADHD subtypes in a school-based population. *J.Abnorm.Child Psychol.* 1997;25:103-11.
27. Marshall RM, Hynd GW, Handwerk MJ, Hall J. Academic underachievement in ADHD subtypes. *J.Learn.Disabil.* 1997;30:635-42.
28. Parternite CE, Loney J, Roberts MA. A preliminary validation of subtypes of DSM-V attention deficit hyperactivity disorder. *J.Attention Disorders* 1996;1:70-86.
29. Wolraich ML, Hannah JN, Pinnock TY, Baumgaertel A, Brown J. Comparison of diagnostic criteria for attention-deficit hyperactivity disorder in a county-wide sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1996;35:319-24.

30. Eiraldi RB, Power TJ, Nezu CM. Patterns of comorbidity associated with subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder among 6- to 12-year-old children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1997;36:503-14.
31. Faraone SV, Biederman J, Weber W, Russell RL. Psychiatric, neuropsychological, and psychosocial features of DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a clinically referred sample. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:185-93.
32. Lahey BB, Applegate B, McBurnett K, Biederman J, Greenhill L, Hynd GW *et al.* DSM-IV field trials for attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents. *Am.J.Psychiatry* 1994;151:1673-85.
33. Lahey BB, Pelham WE, Stein MA, Loney J, Trapani C, Nugent K *et al.* Validity of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder for younger children. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:695-702.
34. McBurnett K, Pfiffner LJ, Willcutt E, Tamm L, Lerner M, Ottolini YL *et al.* Experimental cross-validation of DSM-IV types of attention-deficit/hyperactivity disorder. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1999;38:17-24.
35. McBurnett K, Lahey BB, Rathouz PJ, Loeber R. Low salivary cortisol and persistent aggression in boys referred for disruptive behavior. *Arch.Gen.Psychiatry* 2000;57:38-43.
36. Brito GN, Pereira CC, Santos-Morales TR. Behavioral and neuropsychological correlates of hyperactivity and inattention in Brazilian school children. *Dev.Med.Child Neurol.* 1999;41:732-9.
37. Gansler DA, Fucetola R, Krengel M, Stetson S, Zimering R, Makary C. Are there cognitive subtypes in adult attention deficit/hyperactivity disorder? *J.Nerv.Ment.Dis.* 1998;186:776-81.
38. Woo BS, Rey JM. The validity of the DSM-IV subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Aust.N.Z.J.Psychiatry* 2005;39:344-53.
39. Rowe DC, Stever C, Giedinghagen LN, Gard JM, Cleveland HH, Terris ST *et al.* Dopamine DRD4 receptor polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Mol.Psychiatry* 1998;3:419-26.
40. Rowe DC, Stever C, Chase D, Sherman S, Abramowitz A, Waldman ID. Two dopamine genes related to reports of childhood retrospective inattention and conduct disorder symptoms. *Mol.Psychiatry* 2001;6:429-33.
41. McCracken JT, Smalley SL, McGough JJ, Crawford L, Del'Homme M, Cantor RM *et al.* Evidence for linkage of a tandem duplication polymorphism upstream of the dopamine D4 receptor gene (DRD4) with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Mol.Psychiatry* 2000;5:531-6.
42. Swanson J, Oosterlaan J, Murias M, Schuck S, Flodman P, Spence MA *et al.* Attention deficit/hyperactivity disorder children with a 7-repeat allele of the dopamine receptor D4 gene have extreme behavior but normal performance on critical neuropsychological tests of attention. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2000;97:4754-9.

43. Qian Q, Wang Y, Zhou R, Li J, Wang B, Glatt S *et al.* Family-based and case-control association studies of catechol-O-methyltransferase in attention deficit hyperactivity disorder suggest genetic sexual dimorphism. *Am.J.Med Genet.B Neuropsychiatr.Genet.* 2003;118:103-9.
44. Roman T, Polanczyk G, Zeni C, Genro J, Rohde LA, Hutz MH. Further evidence of involvement of alpha 2A adrenergic receptor gene (ADRA2A) in inattentive dimensional score of ADHD. *Submetido Molecular Psychiatry* 2005.
45. Swanson JM, Kraemer HC, Hinshaw SP, Arnold LE, Conners CK, Abikoff HB *et al.* Clinical relevance of the primary findings of the MTA: success rates based on severity of ADHD and ODD symptoms at the end of treatment. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:168-79.
46. Orvaschel H. Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents. *Psychopharmacol.Bull.* 1985;21:737-45.
47. Polanczyk GV, Eizirik M, Aranovich V, Denardin D, da Silva TL, da Conceicao TV *et al.* Interrater agreement for the schedule for affective disorders and schizophrenia epidemiological version for school-age children (K-SADS-E). *Rev.Bras.Psiquiatr.* 2003;25:87-90.
48. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H *et al.* A children's global assessment scale (CGAS). *Arch.Gen.Psychiatry* 1983;40:1228-31.
49. Green B, Shirk S, Hanze D, Wanstrath J. The Children's Global Assessment Scale in clinical practice: an empirical evaluation. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1994;33:1158-64.
50. Wechsler D. WISC III/Manual. New York, NY: The Psychological Corporation, 1991.
51. Biederman J, Faraone SV, Monuteaux MC, Bober M, Cadogen E. Gender effects on attention-deficit/hyperactivity disorder in adults, revisited. *Biol.Psychiatry* 2004;55:692-700.
52. Galduróz JCF, Noto AR, Carlini EA. IV Levantamento sobre o uso de drogas entre estudantes de primeiro e segundo graus em dez capitais brasileiras. São Paulo: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, 1997.
53. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
54. Sano A, Kondoh K, Kakimoto Y, Kondo I. A 40-nucleotide repeat polymorphism in the human dopamine transporter gene. *Hum Genet* 1993;91:405-6.
55. Ewens WJ, Spielman RS. The transmission/disequilibrium test: history, subdivision, and admixture. *Am.J.Hum.Genet.* 1995;57:455-64.
56. Terwilliger JD, Ott J. A haplotype-based 'haplotype relative risk' approach to detecting allelic associations. *Hum.Hered.* 1992;42:337-46.
57. Curtis D, Sham PC. A note on the application of the transmission disequilibrium test when a parent is missing. *Am.J.Hum.Genet.* 1995;56:811-2.

58. Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2000.
59. Talmud PJ, Humphries SE. Genetic polymorphisms, lipoproteins and coronary artery disease risk. *Curr Opin.Lipidol.* 2001;12:405-9.
60. Hudziak JJ, Heath AC, Madden PF, Reich W, Bucholz KK, Slutske W *et al.* Latent class and factor analysis of DSM-IV ADHD: a twin study of female adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 1998;37:848-57.
61. Rohde LA, Barbosa G, Polanczyk G, Eizirik M, Rasmussen ER, Neuman RJ *et al.* Factor and latent class analysis of DSM-IVADHD symptoms in a school sample of Brazilian adolescents. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry* 2001;40:711-8.
62. Crowe RR. Candidate genes in psychiatry: an epidemiological perspective. *Am.J.Med Genet* 1993;48:74-7.
63. Comings DE, Wu S, Chiu C, Ring RH, Gade R, Ahn C *et al.* Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct, and oppositional defiant disorder: the additive and subtractive effect of the three dopaminergic genes--DRD2, D beta H, and DAT1. *Am.J.Med Genet* 1996;67:264-88.
64. Frank Y, Pergolizzi RG, Perilla MJ. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr.Neurol.* 2004;31:345-8.
65. Chen CK, Chen SL, Mill J, Huang YS, Lin SK, Curran S *et al.* The dopamine transporter gene is associated with attention deficit hyperactivity disorder in a Taiwanese sample. *Mol.Psychiatry* 2003;8:393-6.
66. Hawi Z, Lowe N, Kirley A, Gruenlage F, Nothen M, Greenwood T *et al.* Linkage disequilibrium mapping at DAT1, DRD5 and DBH narrows the search for ADHD susceptibility alleles at these loci. *Mol.Psychiatry* 2003;8:299-308.
67. Kustanovich V, Ishii J, Crawford L, Yang M, McGough JJ, McCracken JT *et al.* Transmission disequilibrium testing of dopamine-related candidate gene polymorphisms in ADHD: confirmation of association of ADHD with DRD4 and DRD5. *Mol.Psychiatry* 2004;9:711-7.
68. Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, Lanphear BP. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors. *J.Pediatr.* 2003;143:104-10.
69. Marino C, Giorda R, Vanzin L, Molteni M, Lorusso ML, Nobile M *et al.* No evidence for association and linkage disequilibrium between dyslexia and markers of four dopamine-related genes. *Eur.Child Adolesc.Psychiatry* 2003;12:198-202.

Figura 1. Fluxograma da participação dos pacientes.

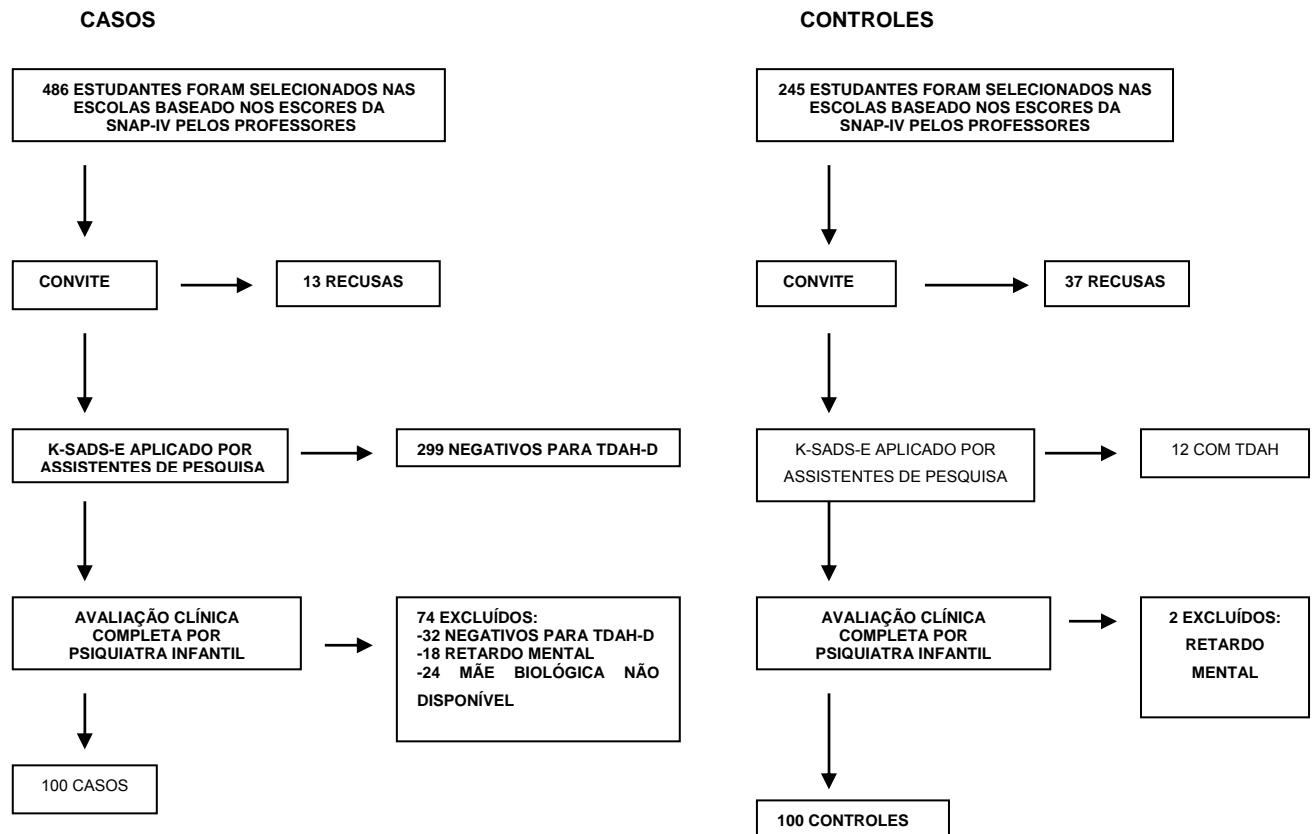


Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos casos com TDAH-D (n=100) e controles (n=100)

Característica	TDAH-D	Controles	valor de <i>p</i>
Média de idade (DP), meses	142 (39,5)	140 (38,5)	0,72
Sexo (masculino), %	68	68	1
Etnia (caucasóide), %	62	73	0,13
Média de escolar. (DP), anos	4,4 (2,7)	4,7 (3)	0,12
NSE (classe B), %	49	56	0,13
TDAH materno, %	28	3	<0,001
Média de QI estimado (DP)	94 (11)	99,3 (11,4)	0,001
Uso de álcool na gestação, %	9	4	0,2
Média de peso ao nascer (DP), Kg	3,32 (0,6)	3,29 (0,6)	0,74
Média de idade materna			
no parto (DP), anos	27 (6,5)	27,6 (6,7)	0,53
Comorbidades, %			
Transtornos de humor			
Depressão Maior	4	1	0,25
Distímia	4	1	0,22
Transtornos de ansiedade			
Fobia simples	21	19	0,69
TAG	14	5	0,05
TAS	8	3	0,18
Fobia social	21	5	0,004
Agorafobia	11	5	0,1
Transtornos disruptivos			
TOD	38	14	0,001
TC	2	1	0,57

TDAH-D: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção;
 DP: desvio padrão; NS: não significativo; NSE: nível sócio-econômico; TAG: transtorno de ansiedade generalizada; TAS: transtorno de ansiedade de separação; TOD: transtorno oposicional desafiador; TC: transtorno de conduta.

Tabela 2. Análises de HRR dos Genes ADRA2A, DBH, DRD4 e DAT1

	ADRA2A		DBH		DRD4		DAT1	
	G+	Total	A2+	Total	7+	Total	10+	Total
Transmitido	71	170	103	165	39	170	116	163
Não transmitido	73	170	98	165	42	170	111	163
Total	144	340	201	330	81	340	227	326

ADRA2A - $\chi^2 = 0.01$; $p = 0.91$; G + : presença do alelo G 97 pacientes, 74 trios e 23 pares mãe/criança.
 DBH - $\chi^2 = 0.20$; $p = 0.65$; A2 + : presença do alelo A2; 92 pacientes, 73 trios e 19 pares mãe/criança.
 DRD4 - $\chi^2 = 0.06$; $p = 0.80$; 7 + : presença do alelo 7; 98 pacientes, 74 trios e 24 pares mãe/criança.
 DAT1 - $\chi^2 = 0.23$; $p = 0.63$; 10 + : presença do alelo 10; 92 pacientes, 72 trios e 20 pares mãe/criança.

Tabela 3. Análise de Caso-Controlle do ADRA2A (homozigose GG)

	Wald χ^2	valor de p	RC	IC - 95%
TDAH materno	11.42	0.001	17.06	3.29 – 88.40
Uso de álcool na gravidez	0.13	0.72	1.29	0.33 – 5.06
Fobia social	8.44	0.004	9.68	2.09 – 44.78
Homozigose GG	5.74	0.017	4.01	1.29 – 12.51

RC: razão de chance; IC: intervalo de confiança; TDAH: transtorno de déficit de atenção/hiperatividade

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este projeto de pesquisa teve como consequência imediata os 2 artigos apresentados anteriormente.

O primeiro deles apresentou como resultado principal que as crianças cujas mães fumaram 10 ou mais cigarros durante a gravidez apresentaram uma razão de chance significativamente maior de TDAH-D do que as crianças não expostas à nicotina na gestação. Isso reforça a importância de medidas preventivas com aconselhamento às gestantes sobre os riscos do fumo na gravidez.

No segundo, verificou-se que a homozigose do alelo G do ADRA2A foi significativamente mais freqüente nos probandos com TDAH-D do que nos controles. Este dado corrobora para a valorização do sistema noradrenérgico na fisiopatologia do TDAH, provavelmente mais ligado ao espectro de desatenção, podendo ter como consequências investigações fisiopatológicas mais específicas e formas de tratamento voltadas para estes sintomas no futuro.

Esse projeto teve alguns aspectos peculiares que merecem ser ressaltados: a) trata-se de uma amostra não referida de TDAH-D; b) Os resultados foram apresentados no contexto de análises estatísticas conservadoras, visto que consideramos um critério mais inclusivo para determinação de variáveis potenciais confundidoras, sendo incluídos nas análises os principais confundidores descritos na literatura; c) os pacientes receberam o diagnóstico após extensa avaliação clínica; d) optamos por incluir somente pacientes que tivessem no máximo 3 sintomas de hiperatividade-impulsividade, evitando o risco de incluir indivíduos com subtipo combinado subliminar; e) pelo que sabemos, este é o primeiro projeto que objetivou avaliar genes candidatos e fatores ambientais em uma amostra exclusiva de transtorno de déficit de atenção/hiperatividade com predomínio de desatenção.

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

A seqüência deste projeto inclui avaliar outras questões de pesquisa como a interação entre genes candidatos e fatores ambientais, assim como determinar qual a resposta a tratamento que este subtipo apresenta. Serão novas oportunidades de contribuir para o avanço do conhecimento científico na área do TDAH.

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

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

Antes da sua participação neste estudo, é preciso esclarecer alguns detalhes importantes, para que possíveis dúvidas sejam resolvidas. Em caso de qualquer outra dúvida quanto à pesquisa ou sobre os seus direitos, vocês poderão contatar Marcelo Schmitz, médico e Mestre em Medicina, responsável pelo estudo, pelo telefone 51.3346.6577.

Qual o objetivo desta pesquisa?

O objetivo do nosso estudo é conhecer um pouco mais sobre algumas das causas do transtorno de déficit de atenção/hiperatividade (TDAH). Pretendemos esclarecer a possível contribuição de algumas importantes dificuldades que ocorrem durante a vida (adversidades psicossociais) e suas relações com determinados genes na manifestação do TDAH. Para este fim, as crianças vão ser avaliadas através de uma análise de DNA e seus pais responderão questionários simplificados.

Como é feita esta análise do DNA?

Será coletada de cada criança ou adolescente uma amostra de 5 ml de sangue, através de punção venosa, usando agulhas e seringas descartáveis. Esta coleta será feita por uma pessoa treinada. De cada amostra de sangue será extraído o DNA, em laboratório. As amostras são identificadas por números, diferentes daqueles utilizados pelo Hospital. A quantidade de sangue coletada será suficiente para se extrair o DNA necessário ao estudo, que será

completamente utilizado durante o mesmo. Após a investigação, o DNA não ficará armazenado, sendo desprezadas possíveis sobras deste material.

Quais os riscos em participar?

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

O que a família ganha com este estudo?

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

Quais são seus direitos?

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

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

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

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

Nome : _____

DN: ___/___/___

Nome do Pai: _____

Nome da Mãe: _____

Médico Supervisor: _____

Assinatura do paciente: _____

Assinatura do responsável legal: _____

Assinatura do médico supervisor: _____

ANEXO II

MTA SNAP - IV Escala de pontuação para professores

Nome do aluno: _____

Avaliado por: _____

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

	Nem um pouco	um pouco	bastante	demais
1. Falha em prestar atenção aos detalhes ou comete erros por falta de cuidado em trabalhos escolares e tarefas	_____	_____	_____	_____
2. Tem dificuldade em manter atenção em tarefas ou em brincadeiras	_____	_____	_____	_____
3. Parece não escutar quando lhe falam diretamente	_____	_____	_____	_____
4. Não segue instruções e falha em terminar temas de casa, tarefas ou obrigações	_____	_____	_____	_____
5. Tem dificuldades para organizar tarefas e atividades	_____	_____	_____	_____
6. Evita, não gosta ou reluta em envolver-se em tarefas que exijam manutenção de esforço mental	_____	_____	_____	_____
7. Perde coisas necessária para suas atividades (brinquedos, livros, lápis, material escolar)	_____	_____	_____	_____
8. É distraído por estímulos alheios	_____	_____	_____	_____
9. É esquecido nas atividades diárias	_____	_____	_____	_____
10. Irrequieto com as mãos ou pés ou se remexe na cadeira	_____	_____	_____	_____
11. Abandona sua cadeira em sala de aula ou em outras situações nas quais se espera que permaneça sentado	_____	_____	_____	_____
12. Corre ou escala em demasia em situações nas quais isto é inapropriado	_____	_____	_____	_____
13. Tem dificuldade para brincar ou se envolver silenciosamente em atividades de lazer	_____	_____	_____	_____
14. Está a mil ou frequentemente age como se estivesse a "a todo vapor"	_____	_____	_____	_____
15. Fala em demasia	_____	_____	_____	_____
16. Dá respostas precipitadas antes das perguntas serem completadas	_____	_____	_____	_____
17. Tem dificuldade para aguardar sua vez	_____	_____	_____	_____
18. Interrompe ou se intromete com os outros (ex: intromete-se em conversas ou brincadeiras)	_____	_____	_____	_____
19. Descontrola-se	_____	_____	_____	_____
20. Discute com adultos	_____	_____	_____	_____
21. Ativamente desafia ou se recusa a seguir os pedidos dos adultos ou as regras	_____	_____	_____	_____
22. Faz coisas que incomodam os outros de propósito	_____	_____	_____	_____
23. Culpa os outros pelos seus erros ou má conduta	_____	_____	_____	_____
24. É sensível ou facilmente incomodado pelos outros	_____	_____	_____	_____
25. É raivoso ou ressentido	_____	_____	_____	_____
26. É malvado ou vingativo	_____	_____	_____	_____

ANEXO III**FICHA DE AVALIAÇÃO DE DADOS DEMOGRÁFICOS**

1.Nome do paciente: _____

2.Registro: _____

3.Data de nascimento: ____/____/____

4.Idade: _____

5. Sexo: Masculino Feminino

6.Cor de Pele: Branca Preta Mista

7.Escolaridade (séries completadas com aprovação): _____

8.Escola: _____

9.Nome dos pais ou responsáveis: Mãe: _____

Pai: _____

10.Escolaridade dos pais: Mãe: _____

Pai: _____

11. Nível sócio-econômico:

a. Quantas TVs a sua família possui ? _____

b. Quantos rádios ? _____

c. Quantos banheiros tem em sua casa ? _____

d. Quantos carros ? _____

e. Quantos empregados ? _____

f. Quantos telefones ? _____

g. Quantas geladeiras ? _____

h. Qual a instrução do chefe da família ? () analfabeto/ primário
incompleto() primário completo / ginásial
incompleto() ginásial completo / colegial
incompleto

() colegial completo / superior

incompleto

() superior completo

12. Quantas pessoas compõem a família ? Descreva. _____

13.Endereço Completo: _____

14.Telefone (mesmo que para recados): _____

ANEXO IV**VARIÁVEIS PRÉ-, PERI- E NEONATAIS****1) Pré-natal**

Idade materna: _____

Paridade: _____

Abortos prévios: _____

Doença crônica: _____

Incompatibilidade Rh: _____

Sangramento vaginal: _____

Uso de medicações: _____

Uso de nicotina (quantos cigarros por dia e por quanto tempo): _____

Uso de bebidas alcoólicas (tipo, quantidade e por quanto tempo): _____

Usou drogas durante a gestação? Descreva tipo, quantidade e por quanto tempo. _____

Algum outro problema que gostaria de nos contar? _____

2) Peri-natal

Parto: _____ induzido cesárea normal

Eclâmpsia: _____

Atraso na ruptura de membranas: _____

Presença de mecônio: _____

Apresentação: _____

Analgesia: _____

3) Neonatal

Peso: _____

Apgar 1 min: _____

Apgar 5 min: _____

Tempo até o primeiro choro: _____

Ressuscitação: _____

Idade gestacional: _____

Síndrome de estresse respiratório: _____

Hiperbilirrubinemia: _____

Septicemia ou meningite: _____

Anemia: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)