

## Susceptibilidade genética compartilhada entre o Transtorno de Déficit de Atenção/Hiperatividade (TDAH) e obesidade

RAFAELA GONÇALVES RIBEIRO LUCAS<sup>1</sup>;  
LUCIANA TOVO RODRIGUES<sup>2</sup>; THAIS MARTINS SILVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Nutrição – UFPel – [rafaelaglribeiro@gmail.com](mailto:rafaelaglribeiro@gmail.com)

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Epidemiologia – UFPel – [luciana.tovo@gmail.com](mailto:luciana.tovo@gmail.com)

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Epidemiologia – UFPel – [thaismartins88@hotmail.com](mailto:thaismartins88@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) é um distúrbio neurobiológico, sendo o mais diagnosticado entre crianças (APA, 2000). O qual é caracterizado por uma desordem comportamental, influenciada por complexas interações entre fatores ambientais e genéticos (ROHDE e HALPERN, 2004). O TDAH tem início na infância, mas pode perdurar ao longo da vida. De 40% a 60% dos portadores permanecem com o transtorno na vida adulta (MCGOUCH e BARKLEY, 2004). Em geral, pacientes com TDAH têm um aumento considerável na prevalência de diversas comorbidades (BIEDERMAN et al., 2004), entre elas a obesidade. Esta é definida como excesso de armazenamento de energia em forma de gordura corporal, de magnitude suficiente para produzir consequências adversas à saúde (WHO, 2000). Assim, é classificada como uma doença crônica não transmissível (DCNT), sendo caracterizada por distúrbio neuroendócrino, de etiologia multifatorial, resultante de interações entre o genoma e o ambiente, podendo ter início e desenvolvimento em qualquer fase da vida (HERRERA; LINDGREN, 2010).

Nesse sentido, uma pesquisa foi recentemente (MARTINS-SILVA et al., 2019) desenvolvida com o intuito de avaliar essas duas condições, mas principalmente para avaliar se o TDAH tem um efeito causal no IMC em crianças e adultos. Este estudo é pioneiro na investigação da relação bidirecional entre o IMC e o TDAH. Os resultados encontraram associações positivas e consistentes para efeito de causalidade reversa de IMC no risco de TDAH (IC95%=0,98-0,449,  $p<0,001$ ).

Haja vista que há escassez de estudos genéticos que associam as duas condições, especialmente a linha de pesquisa deste trabalho objetiva analisar o papel dos marcadores genéticos (Polimorfismos de nucleotídeo simples, ou SNPs) associados ao índice de massa corporal (IMC) na susceptibilidade genética do TDAH, utilizando amostra de crianças e seus pais diagnosticados com TDAH, atendidos na Divisão de Psiquiatria da Criança e do Adolescente do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os objetivos específicos são, estimar a frequência alélica dos polimorfismos associados ao IMC na amostra de TDAH, averiguar o equilíbrio de Hardy-Weinberg para os polimorfismos, e testar associação entre polimorfismos relacionados ao IMC e TDAH.

### 2. METODOLOGIA

O estudo é observacional analítico e emprega um delineamento de análise de associação genética baseada em famílias, composta por 259 crianças e seus pais, ambos os grupos diagnosticados com TDAH, recrutados na Divisão de Psiquiatria da Criança e do Adolescente do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Como o TDAH é um transtorno que afeta predominantemente o comportamento, o diagnóstico é clínico comportamental. Sendo assim, após amplas revisões, o *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder IV – DSM IV-* continua sendo um dos principais e determinantes sistemas de classificação para transtornos mentais, e principalmente,

para o TDAH (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994). Dessa forma, o TDAH foi diagnosticado de acordo com os critérios do DSM-IV, em que o processo de avaliação seguiu protocolo de três estágios; primeiramente foi feita uma entrevista semiestruturada (Cronograma de Transtornos Afetivos e Esquizofrenia para Crianças em Idade Escolar, Versão Epidemiológica; K - SADS - E) (ORVASCHEL, 1985), o qual foi modificado para avaliar os critérios do DSM-IV. Secundariamente, foi realizada uma discussão de cada diagnóstico derivado do K-SADS-E por um comitê clínico e por um dos autores. Terceiramente, fizeram uma avaliação clínica do TDAH e comorbidades usando os critérios do DSM-IV que foi designada a um psiquiatra infantil que já havia recebido os resultados do K-SADS- (SALATINO-OLIVEIRA et al., 2012). Em casos de desacordo em relação ao diagnóstico durante o processo de três estágios, decidiu-se que a prioridade seria dada aos diagnósticos derivados de entrevistas clínicas. O resultado do diagnóstico mostrou que a maioria dos pacientes apresentou o tipo combinado (65,3%), seguido pelo subtipo desatento (25,4%).

Para a genotipagem do genoma dos portadores, as amostras de sangue foram coletadas das crianças e seus pais. O DNA foi extraído de linfócitos por procedimentos padrão (LAHIRI; NURNBERGER, 1991) e o DNA de todas as amostras foi quantificado por espectrofotometria utilizando NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). O chip *Infinium PsychArray-24 BeadChip*, um microarranjo desenvolvido para estudos focados em predisposição e risco psiquiátrico, foi usado para obter o genótipo de crianças e pais em 593.260 marcadores. O controle de qualidade basal e a imputação de demais polimorfismos foram feitos usando o Pipeline Consortium Imputation Rapid (RicoPili) (disponível em <https://github.com/Nealelab/ricopili>), que abrange o controle de qualidade de indivíduos e de marcadores. Os filtros utilizados antes da imputação foram o equilíbrio de Hardy - Weinberg (HWE) valor-  $p < 1 \times 10^{-6}$  calculado a partir dos fundadores e exclusão de variantes invariantes. Marcadores adicionais foram imputados usando 1000 Genomes Project European phase 3, como um painel de referência. Após a imputação, foram obtidos um total de 11.799.192 variantes.

Os polimorfismos de susceptibilidade ao IMC identificados em indivíduos de ancestralidade europeia do consórcio GIANT (LOCKE et al., 2015) foram incluídos neste trabalho. A amostra do consórcio é composta por 322,154 adultos de ascendência Europeia. Para este trabalho, consideramos as 77 variantes genéticas independentes (500 kilobases de intervalo e não em desequilíbrio de ligação  $r^2 > 0,2$ ) que atingiram significância genômica ( $5 \times 10^{-8}$ ) na análise, incluindo homens e mulheres.

A análise estatística englobou regressão logística envolvendo delineamento casos-pseudocontroles (259 casos e 259 controles). Assim, os pais dos probandos foram convertidos em pseudo-controles, sendo definidos como os alelos não transmitidos para a prole. Além disso, com o objetivo de reduzir o número de associações com falsos positivos, é importante realizar uma avaliação da qualidade dos dados e, a metodologia utilizada para atribuir qualidade aos dados, consistiu em primeiramente realizar uma avaliação da qualidade das amostras e, posteriormente, a remoção das amostras de baixa qualidade (Taxa de missing).

A frequência alélica foi estimada por contagem direta entre os probandos com TDAH, e o desvio de desequilíbrio de ligação foi testado por teste de qui-quadrado no mesmo grupo. A associação entre SNPs e TDAH foi feita de forma individual. Para obter as frequências alélicas foi realizada contagem direta dos alelos observados. Os valores de P foram corrigidos pelo cálculo de Bonferroni para diminuir a chance de falsos positivos; a análise de correções múltiplas foi considerando resultados significantes de  $p < 0.007$  (valor de alfa 0.05 foi dividido pelo número dos 71 SNPs investigados)

Considerou-se o valor de P quando inferior a 0.05 como significativo. Para avaliar os alelos de risco para um indivíduo foram calculados a razão de Odds Ratio (OR), valores de razão de odds menor que 1 ( $OR < 1$ ) indicam associação negativa, sendo

efeito proteção para o alelo, e valores maiores que 1 ( $OR > 1$ ) indicam associação positiva para um alelo de risco, através de regressão logística e os seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%). As análises foram conduzidas no programa PLINK 2.0 (CHANG et al, 2015) construído para análises de associação genética.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro SNP encontrado foi o rs13078960, é uma das variantes do gene *CADM2*. Ele codifica a molécula de adesão celular 2, e é predominantemente expresso no cérebro, e têm encontrado diversas associações à variação do IMC. Anteriormente já havia sido relatado que ratos com deficiência de *CADM2* exibiram atividade locomotora aumentada, taxa de gasto de energia e temperatura corporal, identificando *CADM2* como um potente regulador da homeostase de energia, assim sugerindo um papel importante na homeostase da energética. Em suma, com os resultados de nossa amostra pode-se concluir que os indivíduos que possuem o Alelo G, possuem um risco de proteção ( $OR = 0.709$ ,  $IC95\% = 0.474$  (0.985-0.511),  $p = 0.040$ ).

O segundo SNP que encontramos associação foi o rs10968576, este é um íntron que está localizado próximo ao receptor neuronal 6C de repetição rico em leucina (*LINGO2*). As proteínas LINGO são conhecidas por interagir com o receptor *NOGO*, que estão envolvidas na regulação de crescimento de inflamações no sistema nervoso central. Assim, de acordo com a literatura, e com nossos achados, pode-se concluir que com esse polimorfismo causa uma medida de proteção para os portadores do Alelo G ( $OR = 0.742$ ,  $IC95\% = 0.433$  (0.990-0.556),  $p = 0.042$ ).

O terceiro SNP encontrado foi o rs3817334, um íntron localizado próximo ao gene *CELF1*, proteína de ligação ao RNA implicada na regulação de vários eventos pós-transcricionais. Envolvido em splicing alternativo pré-mRNA, tradução e estabilidade de mRNA. Assim, a hipótese é que mutações em locus que modulam padrões de expressão gênica, podem implicar desenvolvimento dos padrões de conexão neural, e assim podendo se relacionar com ocorrências de patologias relacionadas ao neurodesenvolvimento, e uma pode ser o TDAH. Nossos resultados mostraram que os indivíduos com Alelo T tinham medida de proteção para essa mutação ( $OR = 0.752$ ,  $IC95\% = 0.377$  (0.964-0.587),  $p = 0.024$ ).

O quarto SNP encontrado associação foi o rs1558902, um íntron localizado perto do gene *FTO*. Este é amplamente conhecido na literatura pela relação direta com a obesidade, atuando como um regulador da massa gorda, adipogênese e homeostase energética. Em nosso estudo, encontramos que os casos que portavam o Alelo A tinham uma medida de proteção para esse polimorfismo. E o último SNP que foi encontrado associação foi o rs2287019, ele é um intron que está localizado próximo ao gene *GIPR*. Este, é o receptor de um hormônio ligado ao apetite (*GIP*) produzido pelo trato alimentar. A sinalização mediada por *GIPR* desempenha um papel importante na deposição de excesso de gordura da dieta no tecido adiposo. Nossos dados mostraram que os indivíduos com TDAH que portavam o Alelo T para essa mutação tinham risco maior para desenvolver complicações envolvidas na sinalização do apetite, e depósito de gordura corporal ( $OR = 1.522$ ,  $IC95\% = 1.048$  (2.134-1.086),  $p = 0.01482$ ).

Tabela 1. Resumo dos resultados encontrados na regressão logística para associação genética positiva entre TDAH e aumento de IMC

SNP	CHR	A1	OR	IC (95%)	P (<0,05)
rs13078960	3	G	0.709	0.474 (0.985-0.511)	0.040
rs10968576	9	G	0.742	0.433 (0.990-0.556)	0.042
rs3817334	11	T	0.752	0.377	0.024

				(0.964-0.587)	
rs1558902	16	A	0.762	0.394	0.037
				(0.984-0.590)	
rs2287019	19	T	1.522	1.048	0.01482
				(2.134-1.086)	

#### 4. CONCLUSÕES

Nossos achados apoiam descobertas prévias que implicam vias correlacionadas com adipogênese, regulação da gordura corporal, regulação e transcrição gênica, declínio cognitivo, inflamação crônica e aumento de IMC. Todos são fatores importantes para a predisposição tanto do TDAH e quanto da obesidade. Entretanto, apesar do grande avanço da ciência, ainda são necessários mais estudos para uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares adjacentes aos dois distúrbios, assim como para comprovar ou refutar os resultados deste estudo. Sendo assim, ressalta-se a importância de estimular novas pesquisas para aumentar o conhecimento científico sobre as bases de associação poligênica entre TDAH e obesidade.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition (DSM-IV). Washington, American Psychiatric Association, 1994.

BIEDERMAN, Joseph et al. Gender effects on attention-deficit/hyperactivity disorder in adults, revisited. **Biological psychiatry**, v. 55, n. 7, p. 692-700, 2004.

CHANG, C. C. et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. **GigaScience**, v. 4, n. 1, 2015.

HERRERA, Blanca M.; LINDGREN, Cecilia M. The genetics of obesity. **Current diabetes reports**, v. 10, n. 6, p. 498-505, 2010.

LAHIRI, D. K.; NUMBERGER, J. I. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 19, p. 5444-5444, 1991.

LOCKE, A. E. et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. **Nature**, v. 518, n. 7538, p. 197, 2015.

MCGOUGH, J. J.; BARKLEY, R. A. Diagnostic controversies in adult attention deficit hyperactivity disorder. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 11, p. 1948-1956, 2004.

SCHWIMMER, J. B., Burwinkle, T. M., & Varni, J. W. (2003). Health-related quality of life of severely obese children and adolescents. **Jama**, v. 289(14), p. 1813-1819. 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. World Health Organization, 2000.

ORVARSHIEL, H. "Psychiatric interviews suitable for use in research with children and adolescents." **Psychopharmacol Bull** 21 p.737-745. 1985.

SALATINO-OLIVEIRA, A. et al. Association study of GIT1 gene with attention-deficit hyperactivity disorder in Brazilian children and adolescents. **Genes, Brain and Behavior**, v. 11, n. 7, p. 864-868, 2012.

MARTINS-SILVA, T. et al. Assessing causality in the association between attention-deficit/hyperactivity disorder and obesity: a Mendelian randomization study. **International Journal of Obesity**, 2019.