

## EFEITO DE POLIMORFISMOS NO GENE *SERPINA 6* NA SUSCETIBILIDADE GENÉTICA DO TRANSTORNO DE DÉFICIT DE ATENÇÃO E HIPERATIVIDADE (TDAH): POSSÍVEL RELAÇÃO COM DESREGULAÇÃO DA RESPOSTA AO ESTRESSE

Karen Sánchez-Luquez<sup>1</sup>; Marina Xavier Carpena <sup>2</sup>; Thiago Melo Santos<sup>3</sup>; Mara Hutz <sup>4</sup>; Luis Augusto Rohde <sup>5</sup>; Luciana Tovo-Rodrigues <sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ksanchezluquez@gmail.com](mailto:ksanchezluquez@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [marinacarpna@hotmail.com](mailto:marinacarpna@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [thiagomelosts@gmail.com](mailto:thiagomelosts@gmail.com)

<sup>4</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul– [mara.hutz@ufrgs.br](mailto:mara.hutz@ufrgs.br).

<sup>5</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul– [lrohde@terra.com.br](mailto:lrohde@terra.com.br)

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pelotas – [luciana.tovo@gmail.com](mailto:luciana.tovo@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O transtorno de déficit de atenção / hiperatividade (TDAH) é um transtorno do neurodesenvolvimento comum caracterizado por sintomas prejudiciais e persistentes de desatenção e / ou hiperatividade / impulsividade com uma prevalência que varia de 2% a 7% no mundo (POLANCZYK et al., 2014; SAYAL et al., 2018). Vários estudos sugeriram que o TDAH está associado à desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Ambos os níveis de cortisol plasmático e a atividade do eixo HPA foram considerados fatores preditivos de TDAH (FAIRCHILD, 2012; KAMRADT; MOMANY; NIKOLAS, 2018; MALDONADO et al., 2009; PINTO et al., 2016). Indivíduos com TDAH têm um cortisol plasmático diurno mais baixo quando comparado com controles (MA et al., 2011; RANDAZZO; DOCKRAY; SUSMAN, 2008; VAN WEST; CLAES; DEBOUTTE, 2009).

Ambos os fenótipos (TDAH e níveis de cortisol plasmático) têm etiologia complexa e fundamentos genéticos importantes, com herdabilidade estimada de ~ 74% (FARAONE et al., 2005) e cerca de 30-60% (BARTELS et al., 2003; INGLIS et al., 1999; VAN DER MEER et al., 2016), respectivamente. Poucos estudos tentaram explorar os potenciais mecanismos genéticos moleculares subjacentes à relação entre ambos os desfechos.

O consórcio CORTisol NETwork (CORNET)(BOLTON et al., 2014), por meio de uma meta-análise de associação ampla do genoma, identificou um único locus no cromossomo 14, englobando 11 genes da família das SERPINAs, associado ao nível de cortisol plasmático matinal. Identificaram que variantes no gene *SERPINA6*, que codifica a principal globulina de ligação ao corticosteroide no plasma (CBG), e no gene da *SERPINA1*, que codifica a  $\alpha$ 1-antitripsina (que inibe a clivagem da alça central reativa que libera cortisol do CBG), explicam parcialmente a variação dos níveis de cortisol e fornece novos princípios sobre a biologia do cortisol com poder estatístico para testar o papel do cortisol em outras doenças, como no TDAH.

Sob a hipótese de compartilhamento genético entre níveis de cortisol e sintomas de TDAH, pretendemos explorar a associação entre polimorfismos na região dos genes *SERPINA6/1*, como um proxy dos níveis de cortisol plasmático matinal em pacientes com TDAH em probandos brasileiros.

## 2. METODOLOGIA

Os dados genômicos de 259 probandos brasileiros com TDAH e seus pais foram convertidos em um estudo de desenho caso-pseudocontrole. De 466 polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) localizados na região de 10kb anteriores ao gene *SERPINA6* e 10kb posteriores do gene *SERPINA1*, selecionamos 95 polimorfismos potencialmente funcionais, usando os critérios: (i) Frequência do Alelo Menor (MAF) > 5%, (ii) valores de p para o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) > 10e-6, e; (iii) taxa de genótipo válido em mais de 95% da amostra. Os efeitos individuais dos marcadores foram avaliados por meio de regressão logística binária e modelo genético aditivo. Usamos a calculadora de erro tipo 1 GEC para corrigir o valor de p para testes múltiplos ( $p < 1,62e10^{-3}$  e para associação sugestiva  $p < 3,24e10^{-2}$ ) levando em consideração desequilíbrio de ligação. Uma árvore de decisão da árvore de classificação e regressão (CART) foi criada para avaliar as potenciais interações entre os diferentes genótipos. As análises estatísticas foram realizadas usando o software RStudio 4.0.2 e PLINK 1.9. Finalmente, coletamos informações regulatórias e funcionais das ferramentas RegulomeDBv.2, VEPPv.104 e GTExv.8 para avaliar o potencial regulatório de cada marcador genético individual.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os probandos tinham em média 10,42 ( $\pm 3,2$ ) anos; Destes, 76,4% eram do sexo masculino e 83,4% da cor da pele branca. Os subtipos combinado (47,1%) e desatento (44,0%) foram os subtipos de TDAH mais prevalentes.

Observamos associações sugestivas de 9 SNPs que indicam um efeito alélico de risco para TDAH. A associação mais forte diz respeito ao rs111217048, localizado na região intergênica entre *SERPINA6* / 1 (alelo C; OR = 1,72, IC95%: 1,08; 2,75). A associação mais fraca ocorreu com o rs1950659 (alelo C, OR = 1,35, IC95%: 1,01; 1,81).

Os genótipos homozigotos GG em rs2144833 e CC em rs10129500 foram associados como aumento do risco de TDAH de acordo com a análise da árvore de decisão. Esses SNPs estão localizados em dois blocos de desequilíbrio de ligação (LD) diferentes, o que podem representar diferentes mecanismos regulatórios interagindo sinergicamente, possivelmente favorecendo a desregulação dos níveis sistêmicos de cortisol, provavelmente mediados por influir na quantidade do complexo formado pelo cortisol total e a globulina de ligação ao corticosteroide (CBG).

Um dos mecanismos plausíveis que podem ligar os polimorfismos avaliados em *SERPINA6* e TDAH pode envolver a alteração do equilíbrio dinâmico entre cortisol CBG livre e acoplado. Aproximadamente 95% do cortisol secretado está ligado a proteínas carreadoras (LEWIS et al., 2005) e de acordo com a tradicional “hipótese do hormônio livre” (MENDEL, 1989), que afirma que os hormônios esteróides ligados a proteínas carreadoras são considerados biologicamente inativos e fornecer um reservatório de hormônio circulante inativo, a quantidade de

cortisol livre no plasma é parcialmente determinada pela sua interação com a proteína CBG (HAMMOND et al., 1990). Então, polimorfismos como rs2144833 e rs10129500 que aumentam o nível de expressão do gene *SERPINA6* (proteína CBG), contribuem com a diminuição parcial da quantidade de cortisol livre no plasma destes pacientes.

#### 4. CONCLUSÕES

Este estudo é o primeiro a fornecer evidências da associação entre polimorfismos na região dos genes *SERPINA6* / 1 e TDAH. Encontramos um padrão de interação emergente dos polimorfismos rs10129500 e rs2144833, que indica um efeito aditivo cumulativo de risco para o TDAH. Trazemos à tona um potencial mecanismo envolvido na regulação do eixo HPA e na fisiologia do TDAH.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARTELS, M. et al. Heritability of daytime cortisol levels in children. **Behavior Genetics**, v. 33, n. 4, p. 421–433, jul. 2003.

BOLTON, J. L. et al. Genome wide association identifies common variants at the *SERPINA6/SERPINA1* locus influencing plasma cortisol and corticosteroid binding globulin. **PLoS genetics**, v. 10, n. 7, p. e1004474, jul. 2014.

FAIRCHILD, G. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis function in attention-deficit hyperactivity disorder. **Current Topics in Behavioral Neurosciences**, v. 9, p. 93–111, 2012.

FARAONE, S. V. et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1313–1323, 1 jun. 2005.

HAMMOND, G. L. et al. A role for corticosteroid-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 71, n. 1, p. 34–39, jul. 1990.

INGLIS, G. C. et al. Familial pattern of corticosteroids and their metabolism in adult human subjects--the Scottish Adult Twin Study. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 84, n. 11, p. 4132–4137, nov. 1999.

KAMRADT, J. M.; MOMANY, A. M.; NIKOLAS, M. A. A meta-analytic review of the association between cortisol reactivity in response to a stressor and attention-deficit hyperactivity disorder. **Attention Deficit and Hyperactivity Disorders**, v. 10, n. 2, p. 99–111, jun. 2018.

LEWIS, J. G. et al. Plasma free cortisol fraction reflects levels of functioning corticosteroid-binding globulin. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 359, n. 1–2, p. 189–194, set. 2005.

MA, L. et al. The function of hypothalamus-pituitary-adrenal axis in children with ADHD. **Brain Research**, v. 1368, p. 159–162, 12 jan. 2011.

MALDONADO, E. F. et al. Salivary cortisol response to a psychosocial stressor on children diagnosed with attention-deficit/hyperactivity disorder: differences between diagnostic subtypes. **The Spanish Journal of Psychology**, v. 12, n. 2, p. 707–714, nov. 2009.

MENDEL, C. M. The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. **Endocrine Reviews**, v. 10, n. 3, p. 232–274, ago. 1989.

PINTO, R. et al. The aetiological association between the dynamics of cortisol productivity and ADHD. **Journal of Neural Transmission**, v. 123, n. 8, p. 991–1000, 1 ago. 2016.

POLANCZYK, G. V. et al. ADHD prevalence estimates across three decades: an updated systematic review and meta-regression analysis. **International Journal of Epidemiology**, v. 43, n. 2, p. 434–442, abr. 2014.

RANDAZZO, W. T.; DOCKRAY, S.; SUSMAN, E. J. The stress response in adolescents with inattentive type ADHD symptoms. **Child Psychiatry and Human Development**, v. 39, n. 1, p. 27–38, mar. 2008.

SAYAL, K. et al. ADHD in children and young people: prevalence, care pathways, and service provision. **The Lancet. Psychiatry**, v. 5, n. 2, p. 175–186, fev. 2018.

VAN DER MEER, D. et al. Interplay between stress response genes associated with attention-deficit hyperactivity disorder and brain volume. **Genes, Brain, and Behavior**, v. 15, n. 7, p. 627–636, set. 2016.

VAN WEST, D.; CLAES, S.; DEBOUTTE, D. Differences in hypothalamic-pituitary-adrenal axis functioning among children with ADHD predominantly inattentive and combined types. **European Child & Adolescent Psychiatry**, v. 18, n. 9, p. 543–553, set. 2009.