

**ANALISIS DEL GEN *ADRA2A* RECEPTOR ALFA 2A ADRENERGICO EN
PACIENTES CON TRASTORNO DE HIPERACTIVIDAD Y DEFICIT DE
ATENCIÓN**

TARYN ARIADNA CASTRO CUESTA

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO

ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

MAESTRÍA EN GENÉTICA HUMANA

BOGOTA, D.C. 2014

**ANALISIS DEL GEN *ADRA2A* RECEPTOR ALFA 2A ADRENERGICO EN
PACIENTES CON TRASTORNO DE HIPERACTIVIDAD Y DEFICIT DE
ATENCIÓN**

TARYN ARIADNA CASTRO CUESTA

Tesis de Grado presentada como requisito parcial para optar al título de

MAESTRÍA EN GENÉTICA HUMANA

Directores

Heidi Eliana Mateus Arbelaez, MD, MSc

Dora Fonseca Mendoza, Biol, MSc, Phd(c)

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO

ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

MAESTRÍA EN GENÉTICA HUMANA

BOGOTA, D.C. 2014.

NOTA DE ACEPTACION

4.0

JURADO

Diego A. Forero, MD, PhD

JURADO

Jubby Marcela Galvis, MD, MSc.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION

2. DESCRIPCION DEL PROBLEMA

3. JUSTIFICACION

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

5. MARCO TEORICO

5.1 HISTORIA

5.2 EPIDEMIOLOGIA

5.3 FISIOPATOLOGIA

5.4 ETIOLOGIA

5.4.1 GENES DE SUSCEPTIBILIDAD AL DESARROLLO DE THDA

5.4.2 CARACTERIZACION DEL FENOTIPO

5.5 MANIFESTACIONES CLINICAS

5.6 TRATAMIENTO

5.7 EL GEN DEL RECEPTOR ADRENERGICO ALFA 2A (*ADRA2A*)

5.8 LA PROTEINA *ADRA2A* - RECEPTOR ADRENERGICO ALFA 2A

5.9 ESTUDIOS MOLECULARES, LIGAMIENTO Y ASOCIACION

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 TIPO DE ESTUDIO

6.2 POBLACION Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

6.3.1 CASOS

6.3.2 CONTROLES

6.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

6.5 ESTUDIO MOLECULAR

6.5.1 ANALISIS DE SECUENCIAS

6.6 ANALISIS ESTADISTICO

6.7 ANALISIS BIOINFORMATICO

7. RESULTADOS

7.1 CARACTERISTICAS DE LA POBLACION

7.2 RESULTADOS ESTUDIO MOLECULAR

7.3 CORRELACION CON SUBTIPOS

7.4 ANALISIS *IN SILICO* DE LOS EFECTOS A NIVEL DE LA PROTEÍNA

7.5 COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS DE LA VARIANTE rs1800038 CON OTRAS POBLACIONES

8. DISCUSION

9. CONCLUSIONES

10. RECOMENDACIONES

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Secuencia de los primers usados para la amplificación del gen por PCR.
- Tabla 2.** Condiciones para la PCR de cada uno de los segmentos en que se amplificó el gen *ADRA2A*.
- Tabla 3.** Secuencia de los primers usados para la secuenciación.
- Tabla 4.** Análisis de variables demográficas presentadas en los casos para el estudio.
- Tabla 5.** Análisis de variables demográficas en los controles del estudio.
- Tabla 6.** Cantidad de casos en el estudio subdivididos en los subtipos del diagnóstico y porcentajes.
- Tabla 7.** Análisis de los resultados de secuenciación para casos y controles.
- Tabla 8.** Estudio caso-control de las frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1800038 a través de un análisis de χ^2 , para la población total de THDA y sus subtipos.
- Tabla 9.** Resultados de análisis bioinformático de las nuevas variantes encontradas.
- Tabla 10.** Análisis comparativo (a través de prueba de χ^2) de las frecuencias genotípicas (FG) del polimorfismo rs1800038 encontradas en nuestra población versus otras poblaciones.
- Tabla 11.** Análisis comparativo (a través de prueba de χ^2) de las frecuencias alélicas (FA) del polimorfismo rs1800038 encontradas en nuestra población versus otras poblaciones.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Costos e ingresos hospitalarios de los niños con diagnóstico de THDA.

Figura 2. Prevalencia del THDA en el mundo, datos de algunos países.

Figura 3. Diagrama de flujo: Proceso de selección de pacientes y muestreo.

Figura 4. Amplificación del segmento uno del gen *ADRA2A*.

Figura 5. Amplificación del segmento dos del gen *ADRA2A*.

Figura 6. Esquema del gen *ADRA2A*, y la localización de los primers.

Figura 7. Electroforetograma que muestra la variante encontrada en el segmento dos de uno de los casos, el polimorfismo c.1146C>T.

Figura 8. Electroforetograma que muestra el polimorfismo c.824G>C *ADRA2A*.

Figura 9. Electroforetograma que muestra la variante c.1118A>C.

Figura 10. Electroforetograma que muestra el polimorfismo rs1800038 *ADRA2A*.

Figura 11. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T a través de PolyPhen2.

Figura 12. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T a través de MutPred.

Figura 13. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T a través de SIFT.

Figura 14. Resultados del análisis bioinformático para c.824G>C a través de SIFT.

Figura 15. Resultados del análisis bioinformático para c.824G>C a través de PolyPhen2.

Figura 16. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.1118A>C a través de SIFT.

Figura 17. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.1118A>C a través de PolyPhen2.

Figura 18. Alineamiento de múltiples secuencias de la proteína ADRA2A en diferentes especies; se resalta el aminoácido afectado por la mutación tipo missense c.1146C>T.

1. INTRODUCCION

El trastorno de hiperactividad y déficit de atención (THDA), es definido clínicamente como una alteración en el comportamiento, caracterizada por inatención, hiperactividad e impulsividad. Estos aspectos son clasificados en tres subtipos, que son: Inatento, hiperactivo impulsivo y mixto. Clínicamente se describe un espectro amplio que incluye desordenes académicos, trastornos de aprendizaje, déficit cognitivo, trastornos de conducta, personalidad antisocial, pobres relaciones interpersonales y aumento de la ansiedad, que pueden continuar hasta la adultez.

A nivel global se ha estimado una prevalencia entre el 1% y el 22%, con amplias variaciones, dadas por la edad, procedencia y características sociales. En Colombia, se han realizado estudios en Bogotá y Antioquia, que han permitido establecer una prevalencia del 5% y 15%, respectivamente.

La causa específica no ha sido totalmente esclarecida, sin embargo se ha calculado una heredabilidad cercana al 80% en algunas poblaciones, demostrando el papel fundamental de la genética en la etiología de la enfermedad. Los factores genéticos involucrados se relacionan con cambios neuroquímicos de los sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos y noradrenérgicos, particularmente en los sistemas frontales subcorticales, corteza cerebral prefrontal, en las regiones ventral, medial, dorsolateral y la porción anterior del cíngulo.

Basados en los datos de estudios previos que sugieren una herencia poligénica multifactorial, se han realizado esfuerzos continuos en la búsqueda de genes candidatos, a través de diferentes estrategias. Esta se ha enfocado en aquellos

genes relacionados con los sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos y noradrenérgicos. Particularmente los receptores Alfa 2 adrenérgicos, se encuentran en la corteza cerebral, cumpliendo funciones de asociación y memoria.

El subtipo Alfa 2A se expresa además en otras porciones cerebrales y es el sitio de acción de fármacos utilizados comúnmente en el tratamiento de este trastorno, siendo esta la principal evidencia de la asociación de este receptor con el desarrollo del THDA.

Hasta la fecha se han descrito más de 80 polimorfismos en el gen del receptor adrenérgico Alfa 2A (*ADRA2A*), algunos de los cuales se han asociado con la entidad. Sin embargo, los resultados son controversiales y varían según la metodología diagnóstica empleada y la población estudiada, antecedentes y comorbilidades.

En la literatura no se encuentran reportes sobre el análisis de la región codificante del gen *ADRA2A*, en pacientes con diagnóstico de THDA. Teniendo en cuenta, su función, es posible que variantes en la secuencia de este gen, puedan explicar el trastorno y contribuyan, no solo a determinar si este es parte causal de la misma, sino a complementar el conocimiento científico a cerca de su compleja etiología.

Este trabajo pretende establecer si las variaciones en la secuencia codificante del gen *ADRA2A*, podrían relacionarse con el fenotipo del Trastorno de Hiperactividad y el Déficit de Atención.

2. DESCRIPCION DEL PROBLEMA

En el ámbito de la educación escolar básica, el THDA se sitúa como uno de los problemas de mayor interés, por su frecuencia, morbilidad e importancia clínica, que afecta el desempeño académico, cognoscitivo y social del niño.

Este comportamiento hiperactivo-impulsivo y el déficit de atención, involucran cambios neuroquímicos de la corteza cerebral y la porción anterior del cíngulo, la actividad de los sistemas dopaminérgicos, serotoninérgicos y noradrenérgicos en la función cerebral en general y muestra alteración en la sinapsis y la recaptación de los neurotransmisores, que aumenta y se hace de manera prolongada.

Este fenómeno fisiopatológico favorece la aparición de trastornos del sueño, reactividad excesiva, inmadurez en el lenguaje, problemas de adaptación social y dificultad en seguir normas; pero a nivel orgánico la situación es aún más compleja.

Se han hallado a través de estudios con neuroimagen regiones con hiperconectividad que siguen un patrón fluctuante, alternadas con disminución del volumen cerebral e hipoactivación generalizada. Esto genera una red de conexiones hipofuncional y disminuye la capacidad de modulación de la atención.

Los estudios, hasta la fecha, han establecido que el THDA es el resultado de una compleja interacción entre la susceptibilidad genética y factores de riesgo ambientales, por tanto es una entidad de herencia multifactorial. La fisiopatología se caracteriza por el compromiso de las vías noradrenérgicas, lo cual se reafirma por la efectividad de medicamentos agonistas de receptores adrenérgicos en el tratamiento, la primera evidencia de asociación de este receptor con el desarrollo del THDA.

Los receptores adrenérgicos se encuentran en corteza cerebral, cumpliendo funciones de asociación y memoria. El subtipo Alfa 2A se expresa además en otras porciones cerebrales y es el blanco de acción de fármacos que se han utilizado como tratamiento para el THDA.

Este receptor actúa acoplado a proteínas G, suprime canales dependientes de Ca^{2+} y activa canales de K^{+} , con la actividad por MAP Kinasas, para finalmente regular la liberación de neurotransmisores, entre estos la noradrenalina de nervios simpáticos producida en periodos de alta estimulación.

Diferentes autores han buscado la relación entre algunos polimorfismos de este gen y la susceptibilidad al THDA, sin embargo los resultados son controversiales, estas diferencias han sido explicadas por características de la población o por la estrategia utilizada para el diagnóstico en los pacientes. Este trabajo pretende identificar si variantes en la secuencia codificante del gen *ADRA2A* se asocian con el fenotipo del trastorno de hiperactividad y déficit de atención.

3. JUSTIFICACION

El THDA se caracteriza por inatención, hiperactividad e impulsividad; hallazgos que permiten así la sub-clasificación en los tipos inatento, hiperactivo-impulsivo y mixto. Es la causa del 20 al 40% de las consultas en los servicios de Psicología y Psiquiatría, y se calcula una prevalencia mundial de 3% a 7% (Schmitz et al. 2006), en promedio 5,3% (Martijn Arns et al. 2013), siendo esta población escolar entre los 6 y 17 años, con mayor compromiso en varones que en las niñas en proporción 3:1 (dato que oscila entre 2:1 y 9:1 según la población).

En Colombia se ha descrito una alta prevalencia, las cifras tienen un comportamiento variable debido a las diferentes poblaciones analizadas, el riesgo psicosocial de las mismas y un subregistro de los casos (Velez C. 2012); la discrepancia es tal que en la población de Manizales la prevalencia hallada es de 17.1% (Pineda et al. 2001), en Sabaneta Antioquia se encontró una prevalencia del 15.8% (Cornejo et al. 2005) y para Bogotá la prevalencia encontrada para el año 2008 fue de 5.7% del trastorno en general (Vélez et al. 2008).

Dentro de los subtipos, el menos frecuente es el hiperactivo-impulsivo con un 5%, el subtipo inatento con 10-15% y el tipo mixto o combinado en un 80% de los niños (Neale et al. 2008). Los estudios realizados en población bogotana muestran una prevalencia de 43.5% para inatentos, hiperactividad 14.8% y mixto 41.7% (Vélez et al. 2008).

La importancia del diagnóstico radica en que los signos y síntomas pueden persistir en la adolescencia en un 4.4% de los niños diagnosticados (Kessler et al. 2006; Adler et al. 2006; Lara et al. 2009) y se ha reportado que del 15 al 20% de

los niños con THDA persisten sintomáticos hasta la edad adulta, progresando hasta desordenes antisociales y adicción a sustancias psicoactivas en el 16% de los casos (Biederman et al. 1995; O'Donnell et al. 2001; Ribasés et al. 2010; Vélez C. 2012). Por tanto, en un tercio de los individuos con diagnóstico de THDA en la infancia el pronóstico es fracaso escolar, comportamientos antisociales, delincuencia y adicciones (Vélez-Álvarez et al. 2012).

La entidad tiene herencia multifactorial, con una heredabilidad estimada entre el 75% al 98% (Goodman-Stevenson 1989. Waldman-Rhee 2006. Franke et al. 2009. Cortese-Faraone 2011). Diversos abordajes han buscado la caracterización molecular del trastorno proponiendo varios genes candidatos que aparentemente se relacionan con su etiología. El gen *ADRA2A* surge como uno de los candidatos luego de estudios sinérgicos realizados en cada una de las partes de las vías Noradrenérgicas que incluyen vías Serotoninérgicas y Dopaminérgicas, las cuales se encuentran comprometidas en el trastorno.

El receptor *ADRA2A* se encuentra en mayor proporción a nivel cerebral, en corteza prefrontal, locus ceruleus, amígdala, hipocampo y septum, y funciona coordinando presión sanguínea de forma global, funciones del afecto, e incluso sedación.

De manera importante en la corteza prefrontal se controlan funciones como la memoria de trabajo, la atención a determinado ejercicio, el control en las respuestas, vigilia y alerta, aspectos comprometidos en los niños con THDA, en quienes hay un desbalance entre la atención y la excitación, las operaciones cognitivas y el control de la respuesta.

Adicionalmente, en la terapia farmacológica usada para el THDA, dos agonistas del receptor ADRA2A, la Clonidina y la Guanfacina han demostrado que disminuyen la sintomatología y mejoran las funciones ejecutivas (Wang et al. 2006). Teniendo en cuenta estos hallazgos se propone este gen como un candidato en la fisiopatología de la entidad. Recientemente la respuesta terapéutica a Metilfenidato y a la Atomoxetina en el sistema de neurotransmisión adrenérgica también apoya esta teoría (Li Yang et al. 2013; JT McCracken et al. 2014).

Park en el año 2005, por medio de enzimas de restricción, encontró que el alelo G de *MspI* rs1800544 y el alelo T de *DraI* rs553668, constituían un haplotipo de riesgo para el THDA, confirmando que ciertas variantes del gen *ADRA2A* pueden contribuir al desarrollo de esta patología (Park et al. 2005).

A pesar de esta evidencia son pocos los estudios realizados para analizar la asociación del gen *ADRA2A* y el THDA de forma específica, los resultados continúan controversiales.

En 1998 Feng describió 6 variantes polimórficas en la secuencia completa del gen en pacientes con una amplia variedad de trastornos psiquiátricos (Feng et al. 1998), en el 2003 Román y en el año 2005 Stevenson (Román et al. 2003; Stevenson et al. 2005), encuentran asociación de la variante c.1291C>G con el fenotipo del THDA y otras formas clínicas asociadas; luego Park en el 2005 confirmo estos hallazgos. Pero para el año 2001 Xu y sus colaboradores no encontraron asociación para las variantes descritas y el THDA (Xu et al. 2001), sin embargo posteriormente los resultados no han reafirmado los anteriores; Wang en el 2006 y Schmitz en el 2006 refieren probable efecto escaso del gen *ADRA2A* en la fisiopatología del THDA (Wang et al. 2006, Schmitz et al. 2006).

Hasta la fecha no se ha secuenciado la región codificante del gen en pacientes con este diagnóstico. Este trabajo pretende identificar si variantes en esta región pueden explicar la etiología del fenotipo; esto contribuiría no solo al conocimiento de las bases biológicas de la enfermedad, sino también permitiría identificar personas en riesgo para poder iniciar una terapéutica temprana que disminuya los efectos a largo plazo y la persistencia de los síntomas en etapa adulta.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si variaciones en la secuencia codificante del gen *ADRA2A* se relacionan con el fenotipo del Trastorno de hiperactividad, déficit de atención y sus subtipos.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Identificar variantes en la región codificante del gen *ADRA2A* en una muestra de pacientes diagnosticados con THDA.

Establecer la distribución de las variantes de secuencia encontradas con cada uno de los subtipos de THDA.

Determinar por medio de herramientas bioinformáticas el efecto de los cambios en la secuencia a nivel de la proteína.

Analizar las variantes encontradas en la secuencia del gen *ADRA2A* en controles sanos.

Comparar la distribución de las variantes halladas con los resultados de estudios previos en otras poblaciones.

5. MARCO TEORICO

5.1 HISTORIA

En 1845 el psiquiatra Dr. Heinrich Hoffmann publicó un libro de poemas infantiles en el que describían dos casos de TDAH, uno de ellos titulado “The Story of Fidgety Phil”, el caso de un niño que presentaba todas las características de un TDAH de predominio hiperactivo-impulsivo; y otro poema de ese mismo libro, titulado “The Story of Johnny Head-in-Air”, que relataba el caso de un niño que tenía el comportamiento propio de un paciente con TDAH de predominio inatento.

Sir George F. Still publicó en la revista *Lancet* en 1902 una serie de casos de niños impulsivos con trastornos de conducta genéticamente determinados así lo refirió también el “Padre británico de la pediatría” el Doctor Still en 1902, siendo el primero en describir lo que actualmente conocemos como TDAH y lo relacionaba con el déficit cognitivo y la dificultad en el control de impulsos (Still 2006).

Posterior a la Primera Guerra Mundial aumentó el interés por los síntomas de hiperactividad e impulsividad que presentaban los niños que habían sufrido la “encefalitis letárgica”, inicialmente llamada “Lesión Cerebral Mínima” que consistía en dificultades en el lenguaje, dominio unilateral del cuerpo pobremente definido y trastorno de la integración, con probables problemas de aprendizaje; asociándose incoordinación oculomotora y defectos visuales; para 1934 Kahn y Cohen (Kahn-Cohen, 1934) describieron este cuadro como “impulsividad orgánica” en niños con lesión cerebral.

Laufer y Denhoff en 1957, en su estudio de la hiperquinesia atribuyen el síndrome a disfunciones en el diencéfalo, caracterizadas por “una sensibilidad inadecuada del sistema nervioso central a los estímulos que constantemente se emiten desde los receptores periféricos y vísceras”, con las manifestaciones de hiperactividad, impulsividad y problemas de aprendizaje, períodos cortos de atención, dificultades en concentración y una baja tolerancia ante la espera de gratificaciones; posteriormente en 1962 en la reunión internacional de neuropediatras de Oxford se propuso cambiar la denominación de “Lesión o daño cerebral mínimo” por “Disfunción cerebral mínima”.

Durante las décadas de los 40 y 50, Alfred Strauss hizo aún más énfasis en la existencia de una lesión que explicaba la existencia de los síntomas relacionándola con noxas perinatales y describió niños hiperactivos e inatentos, lo que denominó el Síndrome Strauss. Esta consideración llevó a una sobrevaloración de la presencia de una patología cerebral relacionada con la aparición del trastorno, generando una gran heterogeneidad en la definición y descripción del síndrome en diferentes países (Strauss et al. 1964; Risueño. 2001).

En los últimos 30 años se ha ampliado y especificado la definición del TDAH con la identificación de los síntomas básicos de la entidad, el uso de criterios diagnósticos que evalúan funciones ejecutivas, análisis y de la respuesta a estímulos, la búsqueda de la etiología, el componente genético como base de la misma y la existencia de tratamientos farmacológicos eficaces para los síntomas del trastorno.

Algunos autores como Werry en 1968 dan mayor importancia a la hiperactividad considerándola como un nivel excesivo de actividad motora diaria comparada con la actividad de niños de igual edad, género, estrato socio-económico, nivel educativo y cultural que no solo hace parte de la infancia pues se puede prolongar a otras edades. La primera evidencia del TDAH más allá de la adolescencia se dio en una publicación en 1976 en que Woody y colaboradores mostraron que el Metilfenidato era eficaz en los adultos que sufrían síntomas del trastorno desde la infancia, a partir de entonces se publicaron diferentes trabajos con los que se aportó evidencia de que el TDAH estaba presente también en adultos.

Diversos estudios prospectivos de hasta 15 y 17 años de duración han confirmado la persistencia del trastorno después de la adolescencia hasta en un 4.4% de los pacientes, según esto hay también un amplio porcentaje de niños que al sufrir este problema van a continuar presentando síntomas durante la vida adulta (O'Donnell et al. 2001; Ribasés et al. 2010; Biederman et al. 1995). En su evolución el trastorno va modificando características con el paso de los años, los individuos encuentran formas de compensar sus déficits y la severa comorbilidad que se asocia a este trastorno camufla su presencia (Herpertz et al. 2001). Es por esto que el reconocimiento de este diagnóstico se ha ido afianzando progresivamente en las últimas dos décadas; lo vemos actualmente con el *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales IV (DSM-IV y DSM-IV-TR)*, publicado en los años 2000 y 2002, que incluyen hiperactividad, déficit de atención y evaluación general para el niño hiperquinético, además de reconocer la existencia del TDAH del adulto.

La Asociación de Psiquiatría Americana en el DSM II incluye el diagnóstico de reacción hiperquinética en la infancia y adolescencia caracterizado por el exceso de actividad, inquietud, distracción y escasa atención sostenida. El DSM III (1980) denomina a esta entidad como desorden de atención sus siglas en inglés: ADD,

siendo el elemento más significativo de este el déficit de atención y la diferencia de tres grupos de pacientes: a) Déficit de atención sin hiperactividad (ADD) y con presencia de impulsividad, b) Déficit de atención con hiperactividad (ADHD), cuyas características son la falta de atención la hiperactividad y la impulsividad y c) Déficit de atención residual, para designar a los adolescentes con AD, que fueron hiperactivos cuando niños. En tanto el DSM III-R (1987) requiere la presencia de más criterios que incluyen verborrea, frecuencia de respuestas precipitadas, práctica de actividades peligrosas y dificultad para la espera de un turno.

El CIE10 (1992) hace énfasis en la desinhibición y describe en sus criterios la presencia de actividades excesivas, desordenadas e impulsivas, mientras que el DSM-IV (de los años 1994 y la versión revisada del año 2000) conserva la desatención como signo central, sin embargo la amplitud de los criterios permiten un conocimiento más amplio del problema a evaluar y la distinción de tres subtipos Inatento, Hiperactivo-Impulsivo y Mixto, de los cuales ya se había hecho una introducción pero que tomaron un claro significado hasta este momento. Dadas estas características este es el sistema diagnóstico utilizado actualmente en la investigación además porque separa los trastornos de la niñez y la adolescencia, el comportamiento perturbador, el trastorno disocial y trastorno desafiante, mientras que el CIE10 es más generalizado en la clínica. Sin embargo coinciden en la existencia de la deficiencia clínicamente significativa en el mantenimiento de determinada conducta a través del tiempo y en por lo menos dos ambientes: casa, trabajo, colegio u otros.

Es claro que hoy día caben pocas dudas acerca de la existencia del THDA como trastorno, sin embargo es necesaria una definición clínica precisa para poder evaluar las asociaciones sindromáticas que pueda tener el afectado y aproximarse a la etiología del mismo.

5.2 EPIDEMIOLOGIA

El THDA denominado también Desorden Hiperkinético (DH) por la OMS (Organización Mundial de la salud), tiene una prevalencia muy variable entre las distintas poblaciones estudiadas, los datos oscilan entre un 1% hasta casi un 20%. Este afecta el desempeño en cualquier ambiente en que se encuentre el afectado, causando adversidades e incluso problemas económicos en la familia y en la sociedad, datos que lo convierten en un problema de Salud Pública (Polanczyk et al. 2007. Vélez-Álvarez, et al. 2012).

Un 9% de los niños remitidos a medicina general presentan este diagnóstico y de estos aproximadamente el 40% son remitidos a la consulta en los servicios de psicología y psiquiatría (Wasserman et al. 1999; Barkley et al.1998).

El aumento del interés por el THDA se dio en los años 1978 como se describió previamente y de nuevo hasta 1991, manteniendo un gran auge en las últimas décadas, porque aunque el crecimiento y desarrollo de los niños tiende a atenuar los síntomas; hay un porcentaje de estos que puede continuar en la adolescencia y la adultez.

La prevalencia entre el 1 y 22% (APA, 2000), describe un rango amplio, que puede deberse a variaciones en aspectos tales como la edad, la región geográfica y las

características sociales e incluso el método de evaluación empleado (Entrevista, observación o escalas de valoración).

Los datos muestran que esta prevalencia es dada por un 3 al 7% de niños en edad escolar en la población general (APA 2002) y aproximadamente un 10-15% en la población clínica, estos valores se ven influenciados por el hecho de que en bajos estratos sociales hay mayor incidencia.

La variabilidad de los datos ha requerido estudios para determinar la prevalencia mundial, entre estos Polanczyk y colaboradores en el año 2007 realizaron un análisis sistemático y un análisis de Metaregresión desde 1978 hasta el 2005, encontrando una prevalencia mundial para el THDA de 5,29% en niños con un coeficiente intelectual (CI) de 95%. Sin embargo, los datos varían según la población analizada y la metodología usada en el diagnóstico, se ha encontrado que la prevalencia de los niños afectados diagnosticados con los criterios del DSM-III-R es menor comparada con la que resulta obtenida con criterios del DSM-IV, incluso cuando el diagnóstico se realiza interrogando padres y maestros, que cuando se realiza siguiendo solo una línea de evaluación (Polanczyk et al, 2007).

La proporción de varones afectados varía desde 2:1 hasta 9:1 respecto a niñas, según la mayoría de los autores (Skounti et al. 2007), sin embargo algunos informes han encontrado una relación de 1.5:2 y 3:5 esto teniendo en cuenta que los niños presentan una sintomatología más disruptiva que las niñas.

La prevalencia del trastorno para la edad, declina según avanza la misma de los 10 a 13 años la prevalencia es aproximadamente 12.8% mientras que hacia los 17 años el valor es tan solo del 6% (Skounti et al. 2007).

Los signos clínicos puede persistir en la adolescencia en un 4.4% (Kessler et al. 2006) de los niños diagnosticados clínicamente; y de este porcentaje aproximadamente el 30% persiste en adultos con adicción a sustancias psicoactivas, alcohol, conductas extremas entre otros (Ribasés et al. 2010; Velez C. 2012).

Los estudios epidemiológicos en algunas poblaciones indican que la prevalencia en Estados Unidos es del 5-10% (Scahill et al. 2000), 3-9% en Canadá (Szatmari et al. 1989), 6-9% en China (Leung et al. 1996), 3-18% para Brasil (Guardiola et al. 2000) y 1-3% en Países Bajos (Verhulst et al. 1997). Para Colombia se tienen datos en la población antioqueña una prevalencia del 7.1 al 17% y en Bogotá del 5.7% (Vélez Vidarte 1999; Bara- Henao-Vicuña 2003; Pineda 2001; Cornejo et al, 2005; Vélez et al. 2008).

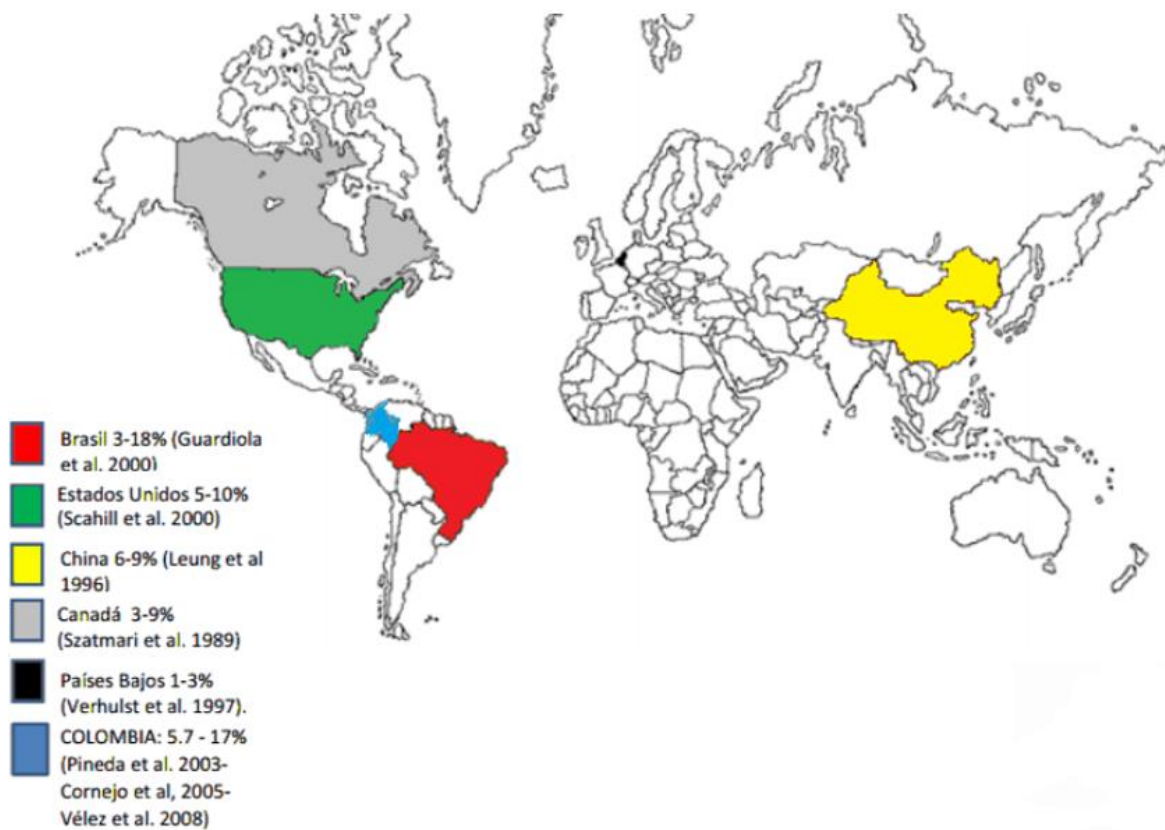


FIGURA 1. Prevalencia del THDA en el mundo, datos de algunos países.

Según estudios realizados la prevalencia de cada subtipo, según la evaluación del diagnóstico con criterios basados en el DSM-IV, el subtipo menos frecuente es el hiperactivo-impulsivo con un 5%, el subtipo inatento 10-15% y el tipo mixto o combinado en un 80% de los niños (Neale et al.2010), en niñas es más frecuente el subtipo inatento, y la prevalencia de los síntomas hiperactivos o impulsivos disminuye en los adolescentes.

5.3 FISIOPATOLOGIA

La fisiopatología del THDA se basa en parámetros que previamente se habían estudiado en enfermedades neuropsiquiátricas como la esquizofrenia, la depresión y el autismo entre otros. Debido precisamente a la complejidad del mismo, y a la actividad excesiva de los sistemas noradrenérgicos, tomados inicialmente como base de la patología, se causa disfunción cortical prefrontal y como resultado pobre atención, comportamiento desorganizado, hiperactividad e impulsividad (Arnsten 1998).

Desde el punto de vista neuropsicológico coexisten cambios neuroquímicos de la función cerebral, los sistemas frontales subcorticales ricos en catecolaminas así como la corteza cerebral y se afectan funciones ejecutivas, por consiguiente se altera la regulación de actividades mentales, el control y la dirección adecuada del comportamiento hacia una finalidad, incluso la memoria de trabajo y la flexibilidad cognitiva. Estos apartes se basan en funciones de la corteza prefrontal en regiones ventral y medial (Emond et al. 2009), la porción anterior del cíngulo y las últimas mencionadas en la porción dorsolateral de la corteza prefrontal.

Los datos obtenidos en neuroimagen, el análisis neuropsiquiátrico y los estudios neuroquímicos según los estímulos, muestran que la red neuronal frontoestriada es la región involucrada en el THDA (Cao et al 2006) y de forma importante la corteza lateral prefrontal, la porción dorsal anterior del cíngulo, el núcleo caudado y el putamen. Sin embargo hay otras regiones implicadas distribuidas en corteza cerebral y en cerebelo, que se relacionan con la sintomatología pero no son responsables de la misma, entre estos lóbulos temporales, parietales, los ventrículos laterales y zonas del lóbulo occipital.

Por otro lado se ha reportado un volumen cerebral reducido en niños con el diagnóstico sin asociarse al tratamiento, el tamaño es menor en la corteza prefrontal, los ganglios basales –Estríado-, la corteza anterior del cíngulo, el cuerpo caloso y el cerebelo (Xavier Castellanos et al. 2002; Emund et al. 2009) y además estos sitios se reportan con hipoactivación (Dickstein et al. 2006; Uddin et al. 2008) encontrándose además que en individuos afectados se activan otras áreas de forma difusa (Wang et al. 2009).

En el THDA hay regiones ya descritas en donde la red de conexiones es hipofuncional y disminuye la capacidad de modulación que interfiere con la atención, pero de esta misma forma hay regiones con hiperconectividad que siguen un patrón fluctuante lento (Konrad et al. 2010; Boong-Nyun Kim 2010) responsable de la inatención y las respuestas lentas, comprometiendo circuitos frontales y subcorticales que permiten las funciones ejecutivas, la respuesta a la inhibición, la rápida alternancia mental entre varios eventos que se presenten, la memoria de trabajo y planeación, el control de la interferencia y la habilidad para responder a un solo estímulo de forma diferente y coherente al estímulo e incluso el control de operaciones cognitivas con o sin esfuerzo; aspectos relevantes en la entidad (Park et al. 2006).

5.4 ETIOLOGIA

Se han descrito varias causas para el THDA, entre estas factores prenatales, perinatales, entre los cuales está, el consumo de sustancias psicoactivas de la madre en el embarazo, bajo peso al nacer, retraso en la maduración neurológica y lesiones cerebrales.

Como se ha descrito, los aspectos clínicos se han estudiado con análisis psicológicos comportamentales y ambientales, pero además el espectro es tan amplio, que se han efectuado estudios imagenológicos para determinar de qué manera el cerebro se ve afectado para generar este tipo de trastorno, y de esta manera se ha corroborado la hipótesis de múltiples factores en el desarrollo del trastorno, pero a pesar de los avances en diagnóstico y tratamiento la etiología continua poco entendida.

5.4.1 GENES DE SUSCEPTIBILIDAD AL DESARROLLO DE THDA

Todas las enfermedades complejas son heterogéneas, esto se debe a que son causadas por algún determinante de origen genético, además del ambiente; esto hace que aspectos como la edad de inicio de los síntomas y variedad de los mismos, severidad, respuesta al tratamiento, fenotipos intermedios e historia natural dificulten el diagnóstico y el tratamiento; en el THDA la investigación de la causa genética es muy importante ya que con diferentes fenotipos y manifestaciones clínicas se reconocen diferentes vías y genes involucrados (Waldman-Rhee, et al. 2008).

En el proceso de determinar cuáles genes son candidatos para entender la etiología del THDA, se tomaron como punto de partida ciertos aspectos neurológicos conductuales que involucran las vías dopaminérgicas, serotoninérgicas y noradrenérgicas en general.

Se sabe que el THDA es una enfermedad de rasgos complejos, de herencia multifactorial, se consideró inicialmente que eran numerosos los genes implicados con la etiología, donde cada uno de ellos hace parte del fenotipo, sin ser solo uno el causante de la misma, probablemente debido a la penetrancia y asociando esto a la influencia del ambiente. El estudio de estos genes implicados se ha basado en dos aspectos importantes, las vías neurológicas estudiadas y funcionalidad de cada gen.

El primer gen del grupo estudiado para THDA que reportó asociación significativa fue el gen *DAT1* (Gen del transportador de Dopamina 1) (Cook et al. 1995), sin embargo se han identificado asociación entre otros también como *DRD4* (Gen del Receptor D4 de Dopamina), *DRD5* (Gen del Receptor D5 de Dopamina), *5HTT* (Gen del transportador de Serotonina), *HTR1B* (Gen del receptor de 5Hidroxitriptamina 1B), *CHRNA4* (Gen de la subunidad alfa del receptor neuronal de acetilcolina) y el gen *SNAP25* (Gen de la proteína asociada al Sinaptosoma), las variantes asociadas incluyen SNPs y VNTRs en regiones codificantes y otras regiones reguladoras del gen.

Los estudios para los genes *DAT1*, *DRD4* y *DRD5* han mostrado un OR de 1.13; 1.26 y 1.4 con un valor *p* de 0.01 por lo que los genes *DRD4* y *DRD5* se han encontrado con una asociación significativa, otros estudios mostraron relación entre variantes del gen *5-HTT* y *DBH* con el THDA con un valor de OR de 1.27 y *p*: 0.06 (Ian R.Gizer, et al. 2009)

Otros hallazgos han permitido encontrar resultados heterogéneos en ciertas variables de la secuencia y determinados rasgos fenotípicos, estos han sido *DAT1*, *DRD4*, *DRD5*, *DBH* (Gen de la Dopamina beta-hidroxilasa), *ADRA2A*,

5HTT, *TPH2* (Gen de la triptófano hidroxilasa2), *MAOA* (Gen de la monoaminoxidasa) y *SNAP25* (Ian R.Gizer, et al. 2009).

Numerosos estudios se han efectuado posteriormente para definir la asociación potencial de cada uno de ellos, pero los resultados pueden diferir considerablemente según la metodología que se tuvo en cuenta, criterios de inclusión de los pacientes estudiados, las características demográficas, formas de establecer el diagnóstico, comorbilidades, haplotipo asociado, entre otros sin embargo muchos reportan poblaciones en equilibrio de Hardy-Weinberg haciendo una aproximación al control de calidad tenido en cuenta.

5.4.2 CARACTERIZACION DEL FENOTIPO

El THDA se ha encontrado asociado a un aumento en la actividad neuroquímica de ciertas regiones cerebrales (Castellanos et al. 2002) entre estas la corteza prefrontal lateral, ventral y medial, núcleo caudado, putamen, ventrículos laterales y el cíngulo que coordina las funciones ejecutivas. Se ha encontrado también disminución mínima significativa de la sustancia blanca (Nigel et al. 2011) con una distribución atípica de la microestructura y lenta mielinización que podría relacionarse con un trastorno en la conectividad que resulta en alteraciones en la memoria de trabajo, el procesamiento de la información, la atención, y funciones ejecutivas, asociado a aspectos cognitivos que se relacionan con la entidad.

Dentro de las vías neurológicas que se relacionan con estos aspectos se han descrito niveles elevados circulantes de noradrenalina en plasma de niños con diagnóstico de THDA, para 1999 en niños con diagnóstico de Síndrome Tourette,

Comings encontró una varianza de 3.5% con un valor p de 0.0005 para los genes noradrenérgicos y un valor mínimo para el efecto de los genes dopaminérgicos (Comings et al. 1999).

Los sistemas noradrenérgicos tienen una actividad compleja en el desarrollo de la atención, y la impulsividad es uno de los aspectos relevantes del trastorno de hiperactividad y/o el déficit de atención, si se bloquean en la corteza prefrontal los receptores alfa-2 adrenérgicos, se presenta aumento en la actividad motora en respuesta a este efecto.

5.5 MANIFESTACIONES CLINICAS

Para el THDA, tres subtipos han sido descritos: El inatento, hiperactivo impulsivo y el mixto, pero clínicamente describen un espectro amplio con desordenes académicos, trastornos de aprendizaje, déficit cognitivo, trastornos de conducta, personalidad antisocial, pobres relaciones interpersonales, aumento de la ansiedad y depresión, de los cuales, cualquiera de estos puede continuar hasta la adultez. Los criterios según el DSM IV para evaluar el diagnóstico de THDA en niños a partir de los 6 años son los siguientes:

El niño debe cumplir los criterios esenciales,

6 a 9 de los ítems de déficit de atención,

6 a 9 de los ítems de hiperactividad-impulsividad,

Para el diagnóstico del subtipo combinado se necesitaran criterios 6 a 9 de los ítems de los dos subtipos de déficit de atención e hiperactividad-impulsividad.

CRITERIOS ESENCIALES

- Duración: Últimos 6 meses o mayor tiempo.
- Edad de comienzo: 6 años pero, algunos síntomas deben haber estado presentes antes de los 6 años.
- Ubicuidad: Disfunción debida a los síntomas presente en dos sitios o más (escuela, trabajo, casa, etc.).
- Disfunción: Significativa a nivel social, académica, familiar u otras. Un niño puede cumplir numerosos criterios del TADH pero si no afectan su vida diaria no se considera que presente este diagnóstico.
- Discrepancia: Síntomas excesivos comparados con otros niños de la misma edad y coeficiente intelectual.
- Exclusión: Presencia de otros trastornos, el THDA coexiste frecuentemente con diferentes patologías ya sean esquizofrenia u otro trastorno psicótico y no se explica mejor por la presencia de cualquier otro trastorno mental de origen orgánico como el Síndrome Gilles de la Tourette o psicológico como (Trastornos del estado de ánimo, disociativos, trastorno de ansiedad o de la personalidad).

CRITERIOS PARA EL DÉFICIT DE ATENCIÓN

- 1- A menudo no presta atención suficiente a los detalles o incurre en errores por descuido en las tareas escolares, en el trabajo o en otras actividades.
- 2- A menudo tiene dificultades para mantener la atención en tareas o en actividades lúdicas.
- 3- A menudo parece no escuchar cuando se le habla directamente.
- 4- A menudo no sigue instrucciones y no finaliza tareas escolares, encargos u obligaciones en el lugar de trabajo.
- 5- A menudo tiene dificultad para organizar tareas y actividades.

- 6- A menudo evita o le disgustan las tareas que requieren un esfuerzo mental sostenido.
- 7- A menudo extravía objetos necesarios para tareas o actividades.
- 8- A menudo se distrae fácilmente por estímulos irrelevantes.
- 9- A menudo es descuidado en las actividades diarias.

CRITERIOS PARA HIPERACTIVIDAD E IMPULSIVIDAD

- 1- A menudo mueve en exceso manos y pies o se mueve bastante en su asiento.
- 2- A menudo abandona su asiento en la clase o en otras situaciones en que se espera que permanezca sentado.
- 3- A menudo corre o salta excesivamente en situaciones en las que es inapropiado hacerlo.
- 4- A menudo tiene dificultades para jugar o dedicarse tranquilamente a actividades de recreación.
- 5- A menudo está en marcha o actividad.
- 6- A menudo habla excesivamente.
- 7- A menudo precipita respuestas antes de haber sido completadas las preguntas.
- 8- A menudo tiene dificultades para esperar su turno.
- 9- A menudo interrumpe a otros.

Para diagnosticar THDA, se recoge información de diversos informantes y contextos en los que se desenvuelve el niño y así diferentes áreas de funcionamiento. En cuanto a la capacidad cognitiva la mayoría de estudios encuentran que las personas con TDAH muestran una tendencia a tener menor coeficiente intelectual (CI) que los grupos controles (Reilly et al. 2011; Vélez et al. 2013), sin embargo la poca habilidad cognitiva en los niños con TDAH puede solo

deberse al déficit de atención (Nigg, 2001), es preciso aclarar que se han encontrado relaciones positivas y puntuaciones altas en la evaluación cognitiva de los pacientes.

Los niños que presentan TDAH poseen un estilo cognitivo dependiente del campo en mayor medida que los no hiperactivos (López et al. 2003), como percibir la información de manera global, lentitud en el aprendizaje de conceptos, utilización de estrategias de ensayo y error, dificultad en la resolución de problemas, más impulsividad y menos control, dificultad en autoevaluarse correctamente y menor autonomía en la relación interpersonal, aspectos que hacen parte de la evaluación propuesta por el DSM IV y el CIE 10 para definir la entidad y así cada uno de sus subtipos Inatento, caracterizado por el Déficit de atención, Hiperactivo e impulsivo que involucra la incapacidad para hacer y terminar actividades en un tiempo determinado, la respuesta precipitada a estímulos y el escaso control en las actitudes, y el subtipo mixto que involucra criterios de ambas partes.

Para abordar la problemática del déficit de atención con hiperactividad, en primer término es preciso definir nivel de coeficiente intelectual, la comprensión verbal, el razonamiento perceptivo y la memoria bajo una velocidad. En segundo lugar para la parte neuropsicológica de la evaluación es importante el conocimiento de las funciones ejecutivas en los niños, la Prueba ENI (Evaluación Neuropsicológica Infantil) estandarizada para la población colombiana es realizada para niños entre 5 y 14 años que incluye interrogatorio de abstracciones visuales, recobro de la figura, autopercepción y partes específicas de las funciones ejecutivas como la planeación, la flexibilidad cognoscitiva, la fluidez verbal (Semántica y Fonética) y la fluidez gráfica.

Toda conducta es el resultado de actividades neuro-psico-cognitivas que se inician con la sensopercepción y la atención que es el proceso por el cual se utilizan ordenadamente estrategias para captar información del medio y requiere de una habilidad para focalizar el tiempo suficiente o cambiar adecuadamente de dicho foco, aspecto que es fácilmente reconocido por quienes rodean al niño por lo que el proceso continua con el interrogatorio a padres y maestros.

El proceso de análisis del comportamiento del niño se basa en unas plantillas de observación directa del mismo en el salón de clases y en casa, para esto es útil el Test de Ejecución Continua (Conner's Continuous Performance Test-II) (Keith Conners, 2000), que consiste en un test de administración individual que brinda una medida de la atención selectiva, la atención sostenida y el control inhibitor de respuestas predominantes, y el BASC (Behavior Assessment System for Children-Primera Edición 1992, Segunda Edición 2004) ambos sistemas multidimensionales de entrevistas estructuradas que miden diversos aspectos del comportamiento y personalidad, incluyendo dimensiones positivas (adaptativas) y negativas (clínicas) (Reynolds y Kamphaus 2004), además estos instrumentos son de suma utilidad tanto para el diagnóstico y distinción entre atención e impulsividad como para el seguimiento y control de efectos terapéuticos (Narbona y Chevrie-Muller, 1997), además el BASC se utiliza como medida de información basa estrictamente en la parte conductual y provee las coordenadas suficientes para el complejo esquema de las personas evaluadas y se relaciona muy bien con los criterios del DSM IV para los diferentes subtipos y la comorbilidad.

El proceso continua con el Test de Clasificación de Tarjetas de Wisconsin (Wisconsin CardSorting Test) (Grant y Berg, 1999), un test de administración individual que brinda una medida de la función ejecutiva, particularmente la "flexibilidad cognitiva" y la "capacidad de categorización" y evalúa la presencia o

no de errores repetitivos. El Test de Colores y Palabras (Stroop Color-Word Interference Test) (Golden, 1999) es un test de administración preferentemente individual, que brinda una medida de control inhibitorio y una medida de atención selectiva, ya que el sujeto debe suprimir una respuesta automática, para una respuesta específica solicitada por el examinador.

El proceso de análisis de memoria no verbal se basa como se mencionó en la reproducción de figuras geométricas complejas es de fácil realización gráfica y posee una estructura de conjunto suficientemente complicada como para exigir una actividad analítica y organizadora; el Test de Aprendizaje Auditivo-Verbal de Rey evalúa la adquisición y retención de material verbal, visual y el aprendizaje asociativo verbal (Vakil et al 2010).

Las medidas conductuales están claramente descritas en los criterios del DSM IV, estas suman las respuestas para obtener las puntuaciones de cada factor, el Trastorno de Hiperactividad y Déficit de atención se define clínicamente según la presencia de seis o más de los siguientes síntomas para cada uno de los subtipos y la persistencia de los mismos en el comportamiento del niño durante mínimo seis meses, en dos o más ambientes y sin cambios desadaptativos e incoherentes a pesar del desarrollo académico o psicológico del niño.

5.6 TRATAMIENTO

Los principales tratamientos que se han demostrado científicamente efectivos en los niños con TDAH son los siguientes: Programas de intervención cognitivo-conductual para niños con Déficit de atención e hiperactividad (Orjale, Polaino-Lorente, 2006), el tratamiento farmacológico, entrenamiento de los padres en

métodos de manejo de la conducta del niño, implementación por parte de los profesores de estrategias de manejo de la conducta del niño y combinaciones de estos tratamientos (Programas de terapia multimodal). El tratamiento multimodal es el preferido para tratar la mayoría de los casos de TDAH, debido a lo complejo que es, especialmente cuando coexisten otros trastornos como los problemas de aprendizaje, de conducta, de ansiedad o depresión (Smith, Barkley, Shapiro, 2006).

La patología describe actividades psíquicas íntimamente relacionadas unas con otras, la atención, la percepción y el proceso de jerarquizar, todo como proceso neuropsicológico dinámico y la conjunción de modalidades desde la apropiación y la realidad, una realidad que se construye sobre la base de las percepciones y procesos atencionales, concreta, que va configurando con el paso del tiempo una realidad psíquica y que conforma un yo corporal y por ende una estructura psíquica.

Bajo el entendimiento de las circunstancias anteriormente expuestas los tratamientos del THDA oscilan entre los adiestramientos de la conducta enfocados al problema de la atención por una parte, del mismo estilo que las pruebas de atención tradicionales, mejorar “habilidades sociales” (cómo relacionarse con el entorno, cómo no agredir al vecino, cómo tener relaciones con los demás, etc.) y por otra parte los tratamientos farmacológicos.

En 1994, los psiquiatras E.M. Hallowell y J.J. Ratey publicaron “*Driven to distraction: Recognizing and Copyng whit attention Déficit disorder from Childhood to Adulthood*” (Abocados a la distracción: Diagnóstico y tratamiento del trastorno de déficit de la atención desde la infancia a la edad adulta), donde explican cómo

reconocer el síndrome asegurando así su proliferación popular como ellos mismos denominan el aumento en la incidencia del mismo y la necesidad de detenerlo.

Desde el siglo anterior en cuanto a los fármacos utilizados la base del tratamiento son los psicoestimulantes, en 1935 se inició el uso de Anfetaminas, en 1937 el uso de la Benzedrina descrito por Bradley en niños con déficit de atención mostro buenos resultados, sin embargo fue hasta la década de los 60s que se empezó el uso del Ritaline-Metilfenidato (Compuesto no anfetamínico) utilizado en mayor proporción desde finales de los años ochenta para el uso terapéutico prolongado, actúa como inhibidor del transportador de dopamina inhibiendo su recaptación; este, así como otros psicoestimulantes mostraban disminución en las respuestas disruptivas.

Spencer y colaboradores en 1996 y estudios actuales desarrollados por Li Yang en el 2013 y JT McCracken en el año 2014 encuentran que los medicamentos que modifican la liberación de los neurotransmisores monoaminérgicos, la captación de los mismos por parte de la neurona postsináptica o la recaptación de los excesos por parte de la neurona presináptica, son los fármacos más utilizados en el THDA o incluso fenotipos asociados y las dosis deben mantenerse durante toda su etapa escolar. Actualmente se sabe que el 85% de los niños diagnosticados tienen tratamiento de este tipo.

La utilización de los psicoestimulantes se basa en que mejora la disponibilidad de Neurotransmisores a nivel central entre estos la Dopamina, induciendo liberación de Catecolaminas de la neurona presináptica, bloqueando su recaptación y/o inhibiendo la acción de la Monoaminoxidasa, aumentando así el tiempo que tiene

la Dopamina de unirse a sus receptores, reduciendo el umbral de los sistemas de alerta y agilizando respuestas.

En resumen dentro de los psicoestimulantes se destaca el Metilfenidato-Ritaline, la Dextroanfetamina-Dexedrine y el Pemoline-Cyert, por otro lado recientemente se ha utilizado un ansiolítico de acción retardada OROS MPH (Concerta) sin embargo no son solo estos, también se encuentran los antidepresivos, ansiolíticos o antipsicóticos; desde el 2003 se aprobó el uso del Straterra cuyo principio activo es la Atomoxetina fármaco no derivado anfetamínico sin relación con el Metilfenidato que actúa como inhibidor selectivo de la recaptación de Noradrenalina y no produce efecto de euforia.

Los efectos terapéuticos permiten mejoras a corto plazo de la sintomatología básica del trastorno (Biederman et al.2006), mejoría en la atención, influencia positiva en el rendimiento escolar, sin embargo no hay cambios en conductas prosociales a pesar de que se habla de menores conductas adversas.

Dentro de los efectos adversos en general de los mismos se ha descrito pérdida del apetito, cefalea, disfunción del sueño, irritabilidad, náuseas o fatiga entre otros; sin embargo a largo plazo no se han encontrado aspectos diferentes u otra sintomatología como recaídas, adicciones o depresión (Committe on Quality Improvement, Subcommittee on Attention Deficit / Hiperactivity Disorder, 2005), sin embargo el 30% de los niños no muestra respuesta al tratamiento o poca adherencia al mismo (Brown et al. 2006).

5.7 EL GEN DEL RECEPTOR ADRENERGICO ALFA 2A (ADRA2A)

El gen *ADRA2A* fue identificado inicialmente por Yang-Feng en 1987 en el cromosoma 10 (10q24-26) (Yang-Feng et al. 1987), consiste en un gen monoexónico, de 3869 bases, de las cuales 1398 hacen parte de la región codificante.

5.8 LA PROTEINA ADRA2A - EL RECEPTOR ADRENERGICO ALFA 2A

La síntesis de noradrenalina a nivel cerebral estimula la actividad de receptores adrenérgicos para la absorción, recaptación y eliminación del mismo, de esta forma los sistemas adrenérgicos son parte importante en el proceso de la atención control inhibitorio y las funciones ejecutivas lo que situó a los genes adrenérgicos como candidatos interesantes para el estudio en pacientes con THDA.

Según datos farmacológicos y moleculares se han dividido en dos subtipos alfa y beta. Los receptores alfa tienen mayor localización cerebral aunque se encuentran en otros órganos, musculo liso, cardíaco, hígado entre otros y los receptores beta tienen localización más sistémica. Los receptores alfa son de dos tipos 1 y 2 y cada uno de estos se divide en tres subtipos. Los receptores Alfa 2 tienen los subtipos Alfa2A, Alfa2B y Alfa2C; a nivel cerebral, 2A es el subtipo principalmente encontrado, el 2C tiene altas concentraciones en el caudado y contribuye a la inhibición pre sináptica y el 2B tiene una distribución más limitada.

El receptor Alfa2A es un tipo de receptor acoplado a proteínas G y actúa como regulador sináptico, controla liberación de Noradrenalina en nervios simpáticos, media la inhibición o activación por Adenilatociclasa (Limbird 1988), activa canales dependientes de potasio (K) y suprime canales dependientes de Ca que incluso activan el sistema de quinasas (Zürn et al. 2009); estos ejecutan su respuesta en células altamente polarizadas como en las nefronas, en células intestinales y en neuronas (Wang et al. 2002).

Esta proteína posee 450 Aminoácidos, pesa 48950 Da y posee siete dominios transmembranales, un extremo amino terminal extracelular y el extremo carboxiterminal intracelular.

De los dominios el primero tiene baja afinidad por algunos ligandos antagonistas, no participa en la función del receptor por la distancia al sitio de unión pero tiene efectos conformacionales y es esencial para la distribución de cargas de la misma (Laurila et al. 2011), el segundo dominio regula la activación del receptor.

El quinto y el sexto dominio transmembrana (QuenRen et al, 1993) conforman el tercer loop intracelular del receptor el cual es básico para la función del mismo así como se describe para todos los receptores acoplados a proteínas G, el cual sufre fosforilación en sus modificaciones postraduccionales en la segunda Serina y en la tercera de las cuatro Serinas que se encuentran en la porción medial del loop (Jewell-Motz et al. 2000) importante para las interacciones farmacológicas del ADRA2A (Qin Wang y Lee E. Limbird, 2002) y la posterior transducción de señales. En su porción final la cola intracitoplasmática de 4 residuos que sufre palmitoilación en un residuo de Cisteina, hace sub-regulación de la función del receptor promovida por agonistas (Weber et al. 2006).

5.9 ESTUDIOS MOLECULARES, LIGAMIENTO Y ASOCIACION

El primer estudio llevado a cabo con el fin de encontrar asociación de *ADRA2A* y el THDA, genotipificó 94 familias, analizando un SNP en la región promotora del gen, un cambio de C por G en la posición -1291 (rs1800544), el sitio de restricción *MspI* sin encontrarse asociación (Xu et al. 2001). Román y colaboradores en el año 2003 reportan asociación entre esta variante y la patología (Roman et al. 2003). Park en el año 2005 realizó un análisis extensivo analizando los polimorfismos reconocidos por las enzimas de restricción *HhaI* (rs1800545) y *DraI* (rs553668) confirmando la asociación entre el fenotipo y el SNP *MspI* y determinó que la presencia del alelo de restricción *DraI* (C por T en el UTR 3'), confiere un mayor riesgo para la entidad (Park et al. 2005).

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio descriptivo de las variantes en la secuencia del gen *ADRA2A* en los pacientes con THDA.

6.2 POBLACION Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

A través de los planteles educativos de bajo y mediano nivel socioeconómico en colegios públicos y privados, se tomaron niños de 6 a 15 años identificados previamente en el estudio de *Prevalencia de enfermedades neuropediátricas en una población infantil de algunas zonas de Bogotá, Colombia*, realizado por la Universidad del Rosario, entre el año 2004 y el 2005 con criterios positivos de TDAH tipos hiperactivo-impulsivo, inatento o combinado-mixto, evaluados mediante la escala de lista de chequeo del DSM-IV para TDAH validada en Colombia (Pineda, Henao et al.1999. Pineda, Kamphaus et al. 1999), (Carrizosa-Precop SCP-ASCOFAME) (*ver anexo*).

Si los pacientes cumplían criterios del DSM-IV para el diagnóstico de THDA, sus padres eran citados al colegio e invitados a participar en el estudio para realizar el diligenciamiento de los consentimientos informados y asentimientos para cada caso, avalados por el comité de ética de la Universidad del Rosario.

A los profesores de cada colegio, se les explicaron las características de la investigación, así como la participación voluntaria en la misma, a través de una charla dada por los investigadores.

Luego de la aceptación por cada una de las partes del equipo se procedió a la aplicación de la escala BASC (*Behavior Assessment System for Children* - versión en español, utilizado en Colombia) en padres y maestros para confirmar los hallazgos.

Posteriormente se aplicó la prueba WISC-R (Escala de Inteligencia de Weschler para niños Revisada), para identificar los casos de discapacidad intelectual y se diligencio un formato de recolección de datos con los antecedentes médicos del paciente.

Los niños con coeficiente intelectual menor de 85 eran excluidos del estudio, se informó a los padres a cerca del resultado y se dio asesoría psicológica al núcleo familiar.

A los niños con coeficiente intelectual mayor o igual a 70 se les aplicó la prueba del ENI y el Wisconsin Card Sorting Test (WCST) -**Figura 2**-.

Se procedió a un análisis dimensional con el fin de estudiar si había o no asociaciones entre la disfunción de las funciones ejecutivas y el Trastorno de Hiperactividad y/o el Déficit de Atención, comparando los síntomas en los grupos y clasificándolos por los fenotipos hallados, cada subtipo se listo como lo describen los criterios del DSM-IV de 0-9 y para el subtipo mixto de 6-18; la comparación de los valores obtenidos se realizó utilizando el test no paramétrico de Test-T y Mann Withney (Análisis bivariados asumiendo una distribución normal de los datos) y Multivariado MANCOVA.

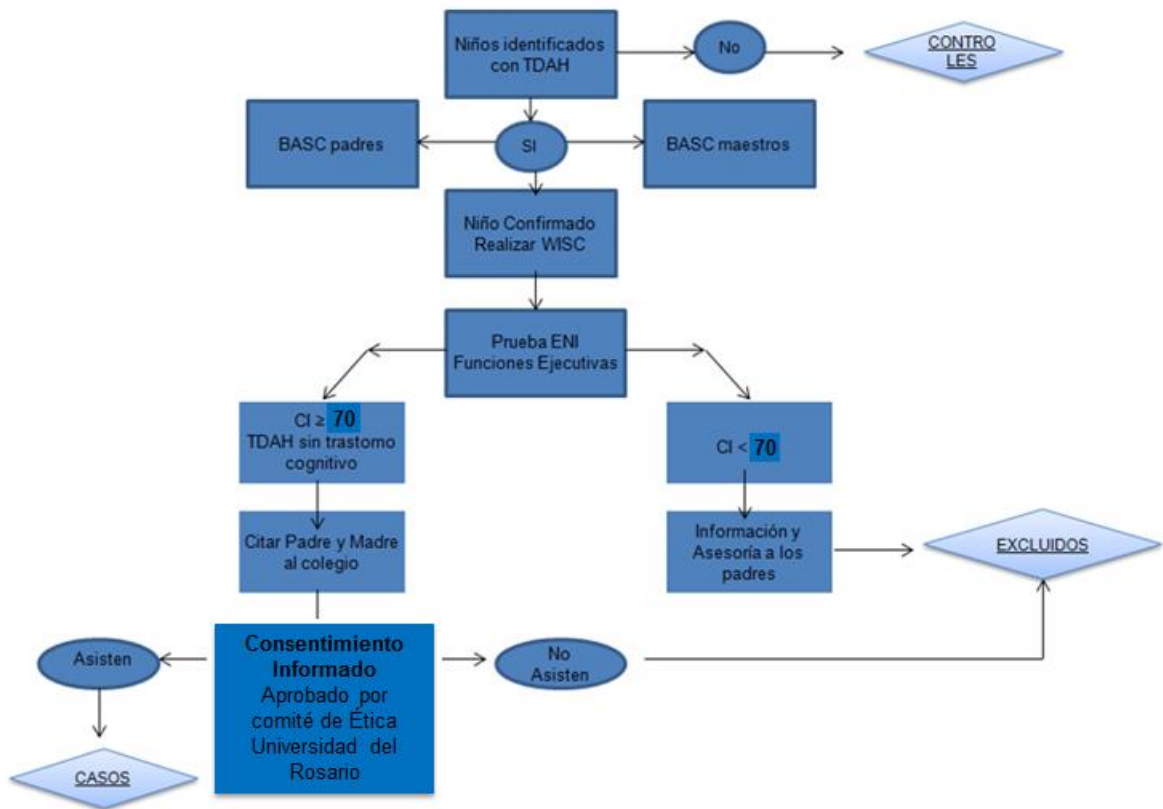


FIGURA 2. Diagrama de flujo: Proceso de selección de pacientes y muestreo.

6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

6.3.1 CASOS

- Niños mayores de cinco años con diagnóstico confirmado del TDAH: Niño escolar con lista de chequeo aplicada a padres con ≥ 6 criterios de los 9 para Inatención y un percentil ≥ 70 en el dominio de atención en la Escala de atención BASC aplicada a padres, ó
- Niño escolar con lista de chequeo aplicada a padres con ≥ 6 criterios de los 9 para Hiperactividad y un percentil ≥ 70 en el dominio de Hiperactividad en la Escala de BASC aplicada a padres, ó

Niño escolar con lista de chequeo aplicada a maestros con ≥ 6 criterios de los 9 para Inatención y un percentil ≥ 70 en el dominio de atención en la Escala de BASC aplicada a maestros, ó

Niño escolar con lista de chequeo aplicada a maestros con ≥ 6 criterios de los 9 para Hiperactividad y un percentil ≥ 70 en el dominio de Hiperactividad en la Escala de BASC aplicada a maestros.

- Familiares mayores de cinco años de los niños confirmados como casos, positivos para TDAH (solo para el estudio clínico).
- Asentimiento por parte de los niños para participar en el estudio.
- Firma del consentimiento informado para participar en el estudio por parte de los padres.

6.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Niños identificados por el estudio de *Prevalencia de enfermedades neuropediátricas en una población infantil de algunas zonas de Bogotá, Colombia*, como casos positivos para TDAH que no se encuentren escolarizados en el momento del estudio.
- Niños identificados por el estudio de *Prevalencia de enfermedades neuropediátricas en una población infantil de algunas zonas de Bogotá, Colombia*, como casos positivos para TDAH y coeficiente intelectual menor de 85.
- Niños o familiares o acudientes que no respondían a la citación.

6.3.2 CONTROLES

Para el análisis de las variantes de secuencia no reportadas previamente fue necesario analizar controles sanos, que correspondían a niños a quienes se les

evaluó con lista de chequeo aplicada a padres o escala de atención BASC aplicada a padres ó lista chequeo aplicada a maestros sin encontrar criterios para ninguno de los subtipos del THDA, o simplemente menos de 4 criterios para cada subtipo que tenían:

- Asentimiento de los niños para participar en el estudio.
- Firma que muestre el consentimiento informado para participar en el estudio por parte de los padres.

6.5 ESTUDIO MOLECULAR

En los casos se tomó una muestra de sangre periférica en tubos con EDTA, cada muestra fue rotulada con un código individual.

Para la extracción de ADN de muestra en Sangre Periférica se realizó la metodología de *SaltingOut*, descrita por Miller en 1988 (Miller S.A., Dykes D. D., et al.1988). El ADN obtenido se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa, teñidos con bromuro de etidio, se resuspendió en TE y se congeló a -20°C hasta la amplificación por PCR para el gen *ADRA2A*.

Para la extracción de ADN de las muestras obtenidas por hisopado de mucosa oral se realizó extracción mediante Fenol-Cloroformo descrito en 1998 por Lum y Le Marchand (Lum, Le Marchand. 1998). El ADN obtenido se resuspendió en 100µl de buffer TE y se conservaron las muestras a -20°C.

Se procedió a la amplificación del gen mediante dos Reacciones en Cadena de la Polimerasa (PCRs) con primers específicos para la amplificación de la secuencia

codificante en dos fragmentos, uno desde el extremo 3' no traducido (3'-UTR) del gen, hasta +871 bases y el otro hasta el extremo 5' del mismo con 100 pares de bases luego del TGA, los set de primers se describen en **Tabla 1- Figura 5**.

REGION	PRIMER S		NOMENCLATURA
Segmento 1	Forward	5'-GGAGGAAGAGGAGGACCCAC-3'	hADRAFwS1
	Reverse	5'-GACGCTTGCGCATCTGGTAG-3'	hADRARvS1
Segmento 2	Forward	5'-TCCTGGTCTACGTGCGCATC-3'	hADRAFwS2
	Reverse	5'-GCCTGCAGTCAGCGTGAGTC-3'	hADRARvS2

TABLA 1. Primers utilizados en amplificación por PCR para cada uno de los segmentos del gen *ADRA2A*.

La amplificación inicial por PCR fue realizada con un volumen total de 26µl, con 12.5µl de MasterMix –Promega- (mezcla que contine: Taq ADN Polymerasa, dNTPs, MgCl₂; con un pH de 8.5, 400µM dATP, 400µM dGTP, 400µM dCTP, 400µM dTTP y 3mM MgCl₂; a una concentración de 2X), 10.5µl Agua, 1µl de cada primer a una concentración de 200µM y 1µl de ADN con aproximadamente 100ng en concentración. Las condiciones están descritas en la **Tabla 2**.

PROCESO DE PCR PARA EL GEN ADRAZA SEG 1			PROCESO DE PCR PARA EL GEN ADRAZA SEG 2		
PASOS	TEMPERATURA	TIEMPO	PASOS	TEMPERATURA	TIEMPO
DENATURALIZACION 1	95 °C	10 min	DENATURALIZACION 1	95 °C	10 min
DENATURALIZACION 2	95 °C	40 seg	DENATURALIZACION 2	95 °C	40 seg
HIBRIDACION PRIMERS	65 °C	30 seg	HIBRIDACION PRIMERS	61 °C	30 seg
EXTENSION	72 °C	40 seg	EXTENSION	72 °C	40 seg
CICLOS	34 CICLOS		CICLOS	34 CICLOS	
ELONGACION FINAL	72 °C	10 min	ELONGACION FINAL	72 °C	10 min

TABLA2. Condiciones de la PCR de cada uno de los segmentos de amplificación del gen *ADRA2A*.

Los productos amplificados fueron sembrados sobre geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio y visualizados sobre transiluminador, para verificar el peso y la calidad del producto amplificado. **Figuras 3 y 4.**

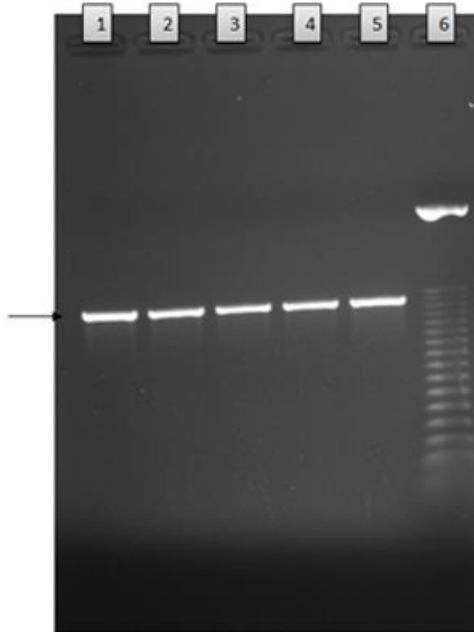


FIGURA 3. Amplificación del primer segmento del gen con un peso molecular de 871pb. Pozos 1-5 Muestras de casos, Pozo 6 Marcador de peso molecular (50pb).

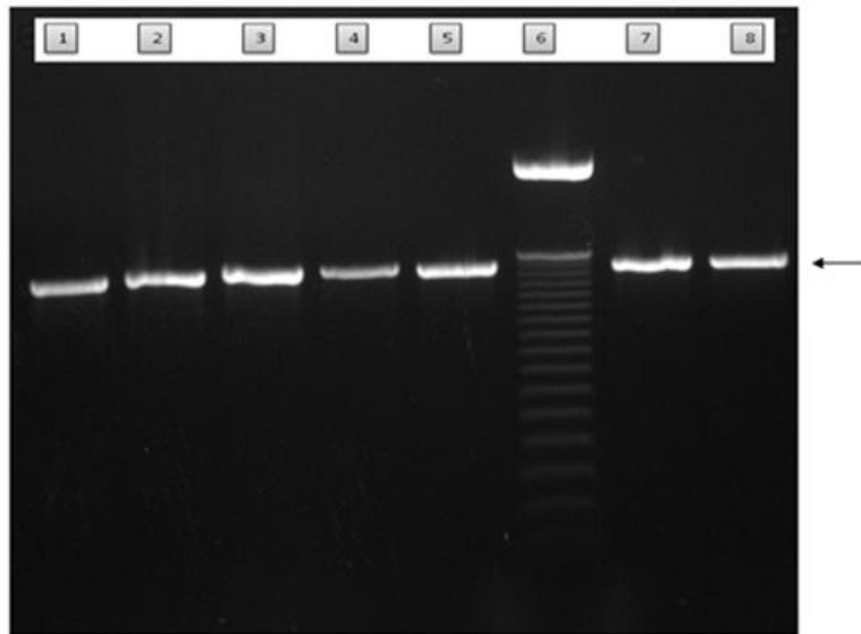


FIGURA 4. Amplificación del segundo segmento del ge con un peso de 817pb.
Pozos 1-5, 7 y 8: Muestras de casos. Pozo 6: Marcador de Peso molecular (50pb).

6.5.1 ANALISIS DE SECUENCIAS

Los productos de PCR fueron purificados antes de la secuenciación usando fosfatasa alcalina y exonucleasa I (remoción enzimática del exceso de nucleótidos y primers) (USB, Cleveland, Ohio, USA). El protocolo de purificación se realizó de la siguiente manera:

En cada reacción de PCR de 25 μ L se añadieron 10 μ L de un mix de purificación compuesto por: 0.250 μ L de fosfatasa alcalina (1U/ μ L), 0.025 μ L de exonucleasa I (20U/ μ L) y 9.725 μ L de agua milliQ. Se Incubaron las muestras a 37 °C por 30minutos y luego colocadas a 95°C por 5 minutos.

REGION		PRIMERS		NOMENCLATURA
Segmento 1	Inicial	Reverse	5'-CTTGCCGAAGTACCAGTAGCCC-3'	RvADRASq1
	Terminal	Forward	5'-GGAGGAAGAGGAGGACCCAC-3'	hADRAFwS1
Segmento 2	Completo	Reverse	5'-GCCTGCAGTCAGCGTGAGTC-3'	hADRARvS2

TABLA 3. Primers usados para la secuenciación del gen.

La secuenciación directa se realizó utilizando primers internos a la secuencia amplificada por PCR utilizando un secuenciador ABI 3730xl (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (**Tabla 3**).

Para el fragmento uno del gen. Se emplearon dos primers: el forward de amplificación (hADRAFwS1) y el otro en sentido reverse ubicado a +100 pares de bases del gen. Para el fragmento dos del gen, se usó nuevamente el primer reverse de la amplificación por PCR (hADRARvS2) (**Figura 4**).

TACCCATCGGGCTCTCCCTACTCTCTCCCGCCGCTTAGAAATAAACTTGGCTGTATTAGGAGCTCGGAGCAAG
AAGGCGCCACCGAGAGCGTCTGAAGCGCGAGCCAGGCGCAGTTTCGCGGGACCCGGGCCATGGGCCGTAGCG
GTCTCCAGTTCGGGGCCGGCCCTCCCTGCGGCCCTCCCTATGTGAGCCGCAGCCAGGCGAGCGGGCGCCG
GAGGAAGAGGAGGACCACGGGCGCCGGCCGGAAGGCAGCTGGCAGCAGGCCAGGCCAGCGGGCGCCCGG
TTCATGTTCCGCCAGGAGCAGCCGTTGGCCGAGGGCAGCTTTGCGCCATGGGCTCCCTGCAGCCGGACCGG
GCAACGCGAGCTGGAACGGGACCGAGGCGCGGGGGGCGGGCCCGGGCCACCCCTTACTCCCTGCAGGTGAC
GCTGACGCTGGTGTGCCTGGCCGGCCTGCTCATGCTGCTCACCGTGTTCGGCAACGTGCTCGTCATCATCGCC
GTGTTACAGAGCCGCGCTCAAGGCGCCCAAAACCTCTTCTGGTGTCTCTGGCTCGGCCGACATCCTGG
TGGCCACGCTCGTCATCCCTTTCTCGCTGGCCAACGAGGTCATGGGCTACTGGTACTTCGGCAAGGCTTGGTG
CGAGATCTACCTGGCGCTCGACGTGCTCTTCTGCACGTCCATCGTGCACCTGTGCGCCATCAGCCTGGAC
CGTACTGGTCCATCACACAGGCCATCGAGTACAACCTGAAGCGCACGCGCGCCGCATCAAGGCCATCATCA
TCACCGTGTGGGTATCTCGGCCGTATCTCCCTCCCGCCGCTCATCTCCATCGAGAAGAAGGGCGGGCGGG
CGGCCCGCAGCCGGCCGAGCCGGCTGGGAGATCAACGACCAGAAAGTGGTACGTATCTCGTGTGCATCGGC
TCCTTCTTCGCTCCCTGCCCATCATGATCCTGGTCTACGTGCGCATCTACCAGATCGCCAAGCGTTCGACCC
GCGTGCCACCCAGCCCGGGGTCCGGACGCCGTGCGCGCCCGCCGGGGGACCCGAGCGCAGGCCAACGG
TCTGGGCCCGAGCGCAGCGCGGGCCCGGGGGCGCAGAGGCCGAACCGCTGCCACCCAGCTCAACGGCCCC
CCTGGCGAGCCCGCGCGGCCGGCCGCGGACACCGACGCGCTGGACCTGGAGGAGAGCTCGTCTCCGACC
ACGCCGAGCGCCTCCAGGGCCCGCAGACCCGAGCGCGTCCCGGGGCAAGGCAAGGCCGAGCGAGCCA
GGTGAAGCCGGGCGACAGCCTGCCGCGCGCGGGCCGGGGGCGACGGGGATCGGGACCGCGCTGCAGGGCCG
GGGAGGAGCGCGTCCGGGCTGCCAAGGCGTCGCGCTGGCGCGGGCGGCAGAACCCGAGAAAGCGCTTACAGT
TCGTGCTGGCCGTGGTTCATCGGAGTGTTCGTGGTGTGCTGGTTCCTTCTTCTTACCTACAGCTCACGGC
CGTCGGGTGCTCCGTGCCACGACGCTCTTCAAATTCTTCTTCTGGTTCGGCTACTGCAACAGCTCGTTGAAC
CCGGTCATCTACACCTCTTCAACCAGATTTCCGCCCGCCCTTCAAGAAGATCCTCTGTGGGGGGACAGGA
AGCGGATCGTGTGAAGTTTCCGCTGGCGCCCGCTAGACTCACGCTGACTGCAGGCAGCGGGGGCATCGAGG
GGTGTAGCCCAAGGCACTCAGAAACCCGGCGCTGCCTGCTCTGCGTTTCTCTGTCTGGGTGGCTCTGC
AGCCTCCTGCGGGCGGGCGTCTGCTGCTCCTACAAGGGAAGCTTCTGCTGCCAGGCCACACATCCCCAGTT
GTTGGTTTGGCCACTCTTGACCTGGAGCCATCTTCCTAGTGGGCCACCCCTAATCACTATTGCTTCCATAAAGG
TATTTTACCCCTCTTCGCTGGTACAGCCCTCACAGCTCTTACAGCAAGCACTGGACTACAAGGGCATGGCT
CACAAAAGTTAATGGATGGGGTTACCTAGCCCTGGCTAATTCCCTTCCATTCCCACTCTCTCTCTTT
TTAAAGAAAATGCTAAGGGCAGCCCTGCTGCTCCCATCCCCGCTGTAATATACACTATTTTGTATA
GCACACATGGGGCCCCATATCTCTTGGCCTTGGTTTTGATGTTGAAATC

FIGURA 5. Secuencia del gen *ADRA2A* NCBI-ENSEMBL ENSG00000150594. Subrayado en rojo la ubicación de los primers usados para amplificación del segmento uno, en azul primers para la amplificación del segmento dos, subrayado con línea doble los primers para la secuenciación y en línea punteada verde la localización del primer reverse para la secuenciación de las primeras bases de la región codificante del gen.

Las secuencias se analizaron *in silico* con el programa NovoSNP® (PMID: 15741513), y se compararon con la secuencia del gen *ADRA2A* NCBI-ENSEMBL de referencia ENSG00000150594, para determinar las variantes en la secuencia sinónimas y no sinónimas, así como para determinar la cantidad y el tipo de mutaciones en cada grupo de pacientes.

6.6 ANALISIS ESTADISTICO

En la descripción de las variables de tipo cualitativo como sexo, estrato socio-económico, curso en el que se encontraban los niños y subtipo de trastorno, entre otras, se utilizaron distribuciones de frecuencia y distribuciones porcentuales. Las variables de tipo cuantitativo como la edad se midieron con medidas de tendencia central como el promedio, medidas de variabilidad y dispersión como el rango, la varianza y la desviación estándar para medir la homogeneidad de los datos. Para calcular las prevalencias del trastorno de atención y los subtipos, inatento, hiperactivo y combinado, se realizó por conteo directo.

Para verificar la confiabilidad de la información y detectar errores durante la digitación de la etapa inicial, se tomó una muestra aleatoria del 10% de los registros para controlar posibles inconsistencias. Se diligenciaron bases de datos para los casos y los controles con los datos de cada paciente con el fin de tener un control estricto en la evaluación de cada uno.

El fenotipo clasificado además de otros datos como la calidad de la muestra de ADN y secuenciación, la presencia o no de polimorfismos, el sitio de ubicación y el cambio en la secuencia proteica también fue organizado en tablas.

Se calcularon las frecuencias alélicas por el método de conteo de alelos, los totales y el análisis estadístico para evaluar desviación genotípica y el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se utilizó el programa SPSS para Windows 7 versión 8.0 para el estudio descriptivo de los datos.

6.7 ANALISIS BIOINFORMATICO

La frecuencia de las mutaciones no sinónimas se analizó en general y por subtipos. Se realizaron análisis bioinformáticos con SIFT, PolyPhen y MutPred, para determinar los posibles efectos en la secuencia proteica y su consecuencia a nivel estructural y funcional.

Posteriormente debido a los hallazgos a nivel bioinformático, se revisaron los resultados en controles, se compararon con los previos y con los obtenidos de estudios realizados previamente en diferentes poblaciones.

7. RESULTADOS

7.1 CARACTERISTICAS DE LA POBLACION

Según las premisas descritas se realizó el estudio molecular en 84 casos con Trastorno de Hiperactividad y Déficit de Atención a través de la lista de chequeo del DSM-IV y la escala BASC aplicada a padres y maestros diagnosticados en colegios públicos y privados.

Las edades de los niños oscilaban entre los 6 y los 15 años, la media de la edad en los casos fue de $8,73 \pm 2,27$ años. La distribución por géneros fue de 69 niños y 15 niñas con una relación 4:1 (**Tabla 4**). En cuanto a la escolarización, 56 niños cursaban su educación en un colegio privado (70,8%) y 28 provenían de colegios públicos.

Variables demograficas	
Variable	Casos
n	84
Edad	8,73 años
Genero	
Femenino	15 (17,8%)
Masculino	69 (82,14%)
Tipos de Colegio	
Tipo	Cantidad de niños
Público	28
Privado	56

TABLA 4. Análisis de variables demográficas en los casos analizados.

Variables demograficas	
Variable	Controles
n	53
Edad	9,4 años
Genero	
Femenino	17 (32%)
Masculino	36 (68%)
Tipos de Colegio	
Tipo	Cantidad de niños
Público	12
Privado	41

TABLA 5. Análisis de variables demográficas en los controles del estudio.

En los 53 controles que se tomaron, la edad media fue de 9.4 años, en cuanto al genero la distribución fue 36 niños y 17 niñas de los cuales 12 hacían parte de colegios públicos y 41 de colegios privados. (**Tabla 5**)

Dentro del grupo según los criterios diagnósticos para cada subtipo se encontraron 31 casos con criterios de Inatención (36.9%), 11 niños (13.1%) con diagnóstico de Hiperactividad-Impulsividad y 42 casos (50%) tipo Combinado-Mixto (**Tabla 6**).

CASOS	CANTIDAD	PORCENTAJES
INATENTO	31	36.95
HIPERACTIVO-IMPULSIVO	11	13.1
MIXTO	42	50
TOTAL	84	100

TABLA 6. Casos con diagnóstico de THDA y cada uno de los subtipos del trastorno, hiperactivo-impulsivo, inatentos y tipo mixto.

7.2 ESTUDIO MOLECULAR

Para cada segmento del gen *ADRA2A* se realizó la amplificación por PCR con las condiciones descritas, obteniéndose en la primera reacción un fragmento de 871 bases y en la segunda un fragmento de 817 bases. Posteriormente se visualizaron los productos en geles de agarosa al 1.5%, como se observa en las **Figuras 3 y 4**.

Los 84 casos analizados fueron secuenciados y se realizó el alineamiento con la secuencia descrita del gen tomada de NCBI-Ensembl.

Se encontraron cuatro variantes en las secuencias analizadas:

- Una transición c.1146C>T, que genera en la proteína el cambio de Asparagina por Leucina en la posición 382, (p.Asn382Leu).

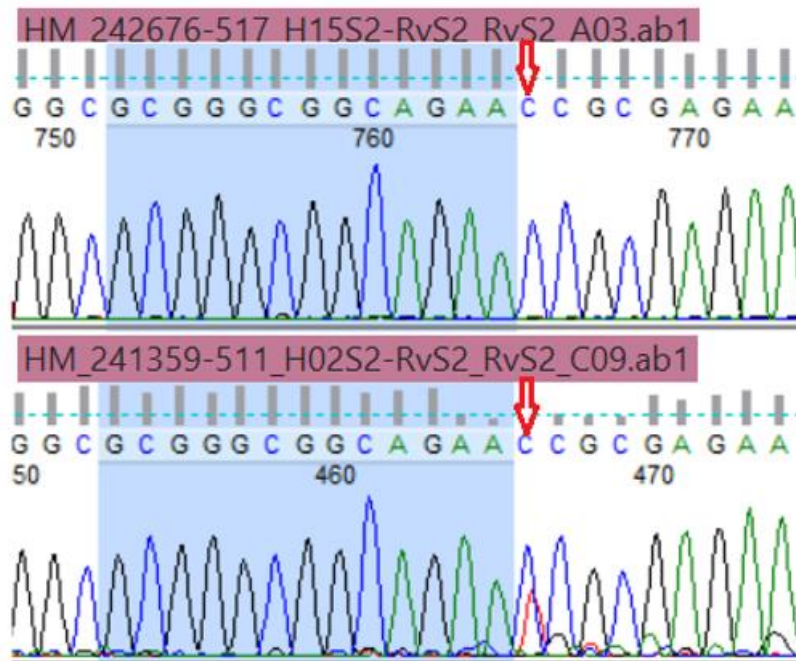


FIGURA 6. Electroforetograma que muestra la variante c.1146C>T (p.Asn382Leu).

- Una transversión c.824G>C, que genera en la proteína el cambio de Glicina por Alanina en la posición 275, (p.Gly275Ala).

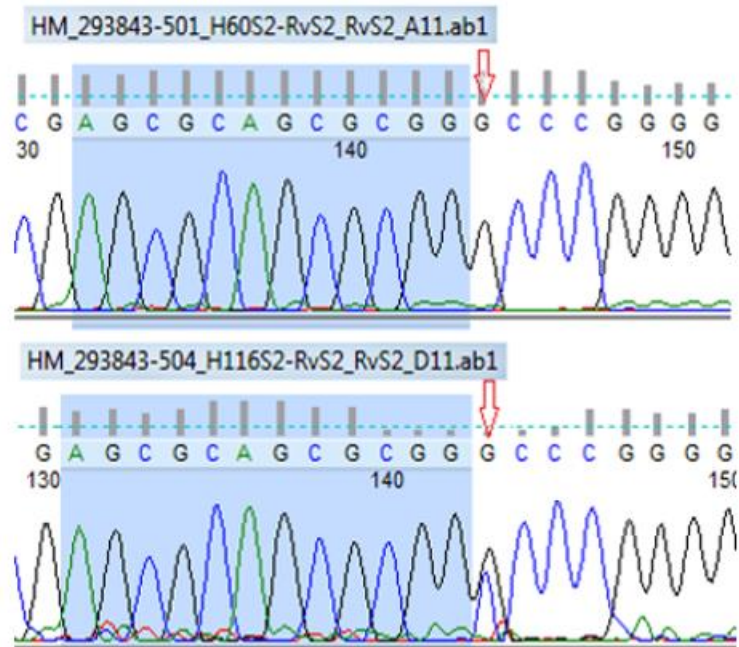


FIGURA 7. Electroforetograma en donde se ilustra la variante c.824G>C (p.Gly275Ala) ubicada en el gen ADRA2A.

- Una transversión c.1118A>C, que genera en la proteína el cambio de Lisina por Treonina en la posición 373, (p.Lys373Thr).

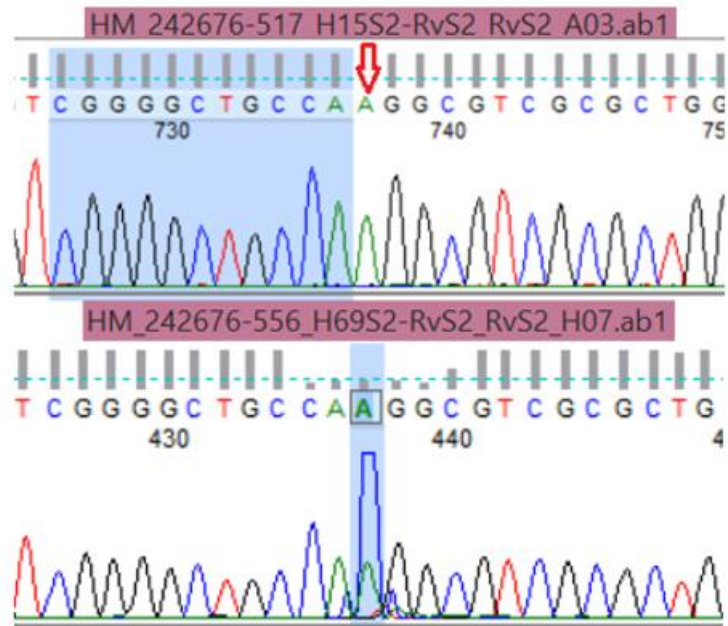


FIGURA 8. Electroforetograma en el que se encuentra la variante c.1118A>C (p.Lys373Thr).

- La transversión, c.1138C>A, un cambio silencioso, por el cual en la posición 380 de la proteína se codifica un aminoácido sinónimo Arginina (p.Arg380Arg), descrita previamente con el rs1800038.

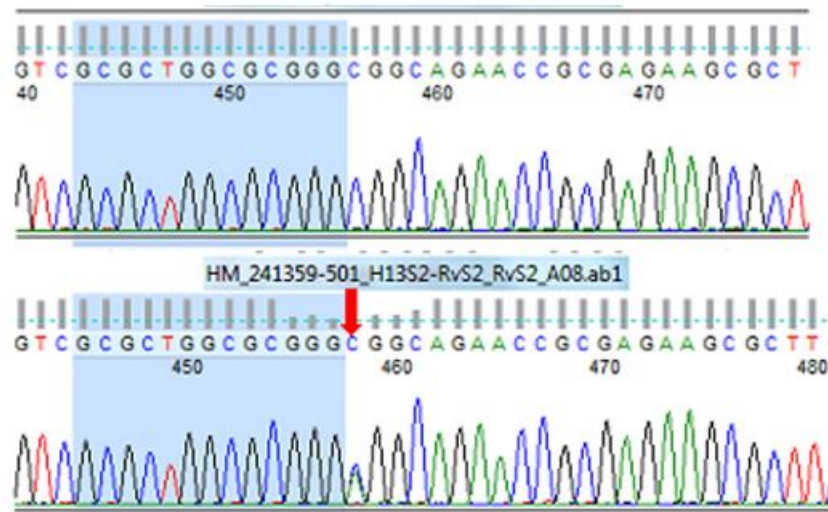


FIGURA 9. Polimorfismo rs1800038 c.1138C>A (p.Arg380Arg), hallado en casos y controles (**Tabla 7**).

7.3 CORRELACION CON SUBTIPOS

La variante c.1146C>T se encontró en un caso clasificado en el subtipo mixto, no se halló en ninguno de los controles y su frecuencia genotípica en la muestra es de 1,19%.

La variante c.1118A>C fue encontrada en un paciente con el subtipo inatento (1,19%), pero no estuvo presente en ninguno de los controles.

Con respecto al polimorfismo en la posición 824 (c.824G>C), en el grupo estudiado solo se encontró en un paciente, clasificado según parámetros clínicos como inatento para una frecuencia del alelo C de 1,19% en el total de la muestra, este polimorfismo tampoco fue encontrado en ninguno de los controles analizados.

Los resultados de la secuenciación evidenciaron en 21 pacientes y 18 controles el polimorfismo rs1800038, la sustitución tipo transversión C>A en la posición 1138 (p.Arg380Arg) -**Figura 9**. Esta variante se encontró de manera heterocigota en once de los niños Inatentos, dos de los Hiperactivos y ocho del tipo combinado. Uno de los niños con subtipo Mixto presento la variante A en forma homocigota. Esta variante se presentó en 18 controles de manera heterocigota y dos controles mostraron el alelo A de forma homocigota.

RESULTADOS SECUENCIACIÓN DEL GEN <i>ADRA2A</i>			
DESCRIPCIÓN			
POLIMORFISMO	rs1800038 (c.1138C>A)		
GENOTIPO	C/C	C/A	A/A
Cambio en aminoácido	p.Arg380Arg	p.Arg380Arg	p.Arg380Arg
Inatento	20/31 (64,5%)	11/31 (35,5%)	0/31 (0%)
Hiperactivo	9/11 (81,8%)	2/11 (18%)	0/11 (0%)
Mixto	33/42 (78,5%)	8/42 (19,1%)	1/42 (2,4%)
Controles	33/53 (62,3%)	18/53 (33,96%)	2/53 (3,8%)
VARIANTE (c.824G>C)			
GENOTIPO	G/G	G/C	C/C
Cambio en aminoácido	p.Gly275Gly	p.Gly275Ala	p.Gly275Ala
Inatento	30/31 (96,7%)	1/31 (3,3%)	0/31 (0%)
Hiperactivo	11/11 (100%)	0/11 (0%)	0/11 (0%)
Mixto	42/42 (100%)	0/42 (0%)	0/42 (0%)
Controles	53/53 (100%)	0/53 (0%)	0/53 (0%)
VARIANTE (c.1118A>C)			
GENOTIPO	A/A	A/C	C/C
Cambio en aminoácido	p.Lys373Lys	p.Lys373Thr	p.Lys373Thr
Inatento	30/31 (96,7%)	1/31 (3,3%)	0/31 (0%)
Hiperactivo	11/11 (100%)	0/11 (0%)	0/11 (0%)
Mixto	42/42 (100%)	0/42 (0%)	0/42 (0%)
Controles	53/53 (100%)	0/53 (0%)	0/53 (0%)
VARIANTE (c.1146C>T)			
GENOTIPO	C/C	C/T	T/T
Cambio en aminoácido	p.Asn382Asn	p.Asn382Leu	p.Asn382Leu
Inatento	31/31 (100%)	0/31 (0%)	0/31 (0%)
Hiperactivo	11/11 (100%)	0/11 (0%)	0/11 (0%)
Mixto	41/42 (97,62%)	1/42 (2,38%)	0/42 (0%)
Controles	53/53 (100%)	0/53 (0%)	0/53 (0%)

TABLA 7. Resultados de la secuenciación del gen *ADRA2A* para casos y controles, frecuencias genotípicas.

Teniendo en cuenta las frecuencias alélicas para la muestra de THDA y los subtipos, la población se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$).

Se realizó un estudio caso control a través de una prueba estadística de chi2 para establecer si se encontraban diferencias estadísticamente significativas entre los casos de THDA, sus subtipos versus los controles.

Se estableció un nivel de significancia positivo, cuando se encontró un valor de $p<0,05$.

Población	Genotipo	Chi2	<i>p</i>
THDA	C/C	0,022	0,881
	C/A	0,003	0,959
	A/A	0,005	0,943
Inatentos	C/C	0,001	0,975
	C/A	0,001	0,978
	A/A	0,038	0,845
Hiperactivo	C/C	0,063	0,801
	C/A	0,075	0,785
	A/A	0,038	0,845
Mixto	C/C	0,044	0,834
	C/A	0,065	0,799
	A/A	0,005	0,943

TABLA 8. Estudio caso-control de las frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1800038 a través de un análisis de chi2, para la población total de THDA y sus subtipos.

Según los datos se concluye que no hay diferencia estadísticamente significativa en la distribución de las frecuencias entre casos y controles (**Tabla 8**).

7.4 ANALISIS *IN SILICO* DE LOS EFECTOS A NIVEL DE LA PROTEÍNA

Se realizó el análisis de efectos deletéreos utilizando las herramientas bioinformáticas SIFT, Polyphen2 y MutPred encontrando (**Tabla 9**):

- Variante c.1146C>T

Análisis mediante PolyPhen2

Cambio posiblemente dañino con un score de 0,726.

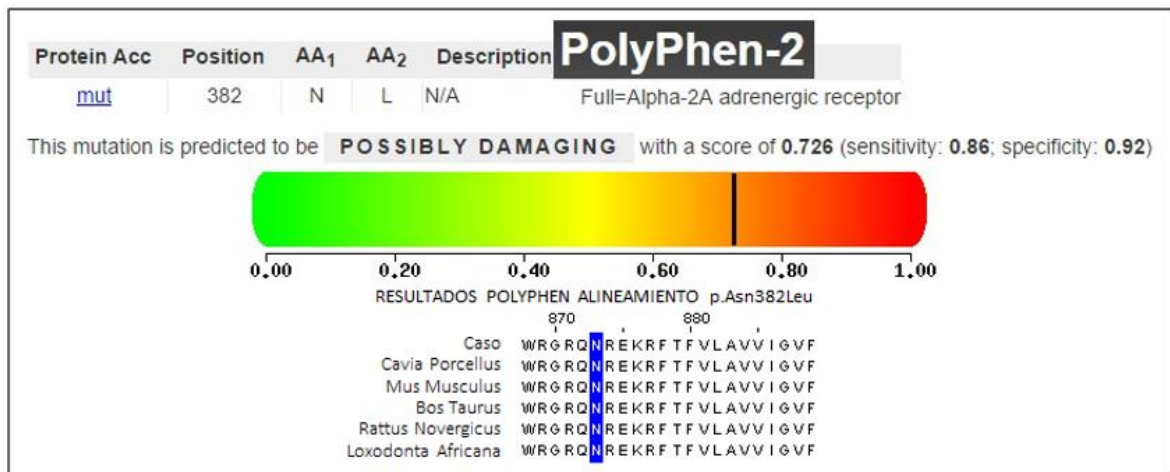


FIGURA 10. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T, PolyPhen2 score 0,726, posiblemente dañino en la estructura proteica.

Análisis mediante MutPred

Muestra un resultado probablemente no tolerado, score de 0,48 y consecuente efecto deletéreo en la proteína.

Mutation	Probability of deleterious mutation	Top 5 features
N382L	0.480	Loss of disorder (P = 0.0315) Loss of methylation at K385 (P = 0.049) Gain of helix (P = 0.132) Loss of ubiquitination at K385 (P = 0.1778) Loss of MoRF binding (P = 0.1989)

FIGURA 11. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T, MutPred score 0,48, evidencia de efecto deletéreo.

Análisis mediante SIFT

Evidencio un cambio tolerado pero con un score bajo 0,17.

Predictions
SIFT Results (Protein Sequences)
Substitution at pos 382 from N to L is predicted to be TOLERATED with a score of 0.17
Median sequence conservation: 3.15
Sequences represented at this position:30

FIGURA 12. Resultados del análisis bioinformático para c.1146C>T, SIFT score 0,17, cambio tolerado.

- Variante c.824G>C

Análisis mediante SIFT

Esta variante reporta un score de 0,75, asociado con un cambio tolerado a nivel proteico.

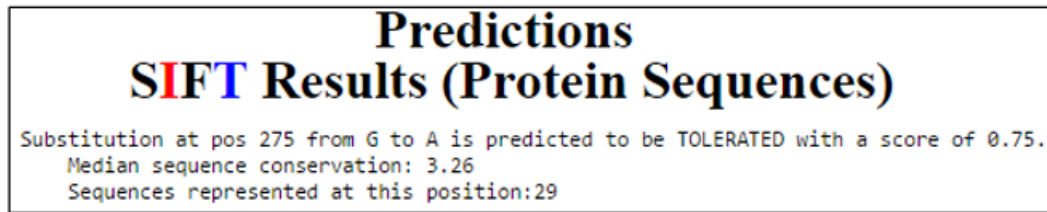


FIGURA 13. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.824G>C. SIFT: score de 0,75 cambio tolerado.

Análisis mediante PolyPhen2

Los resultados probables a nivel proteico son benignos, con un score de 0,27.

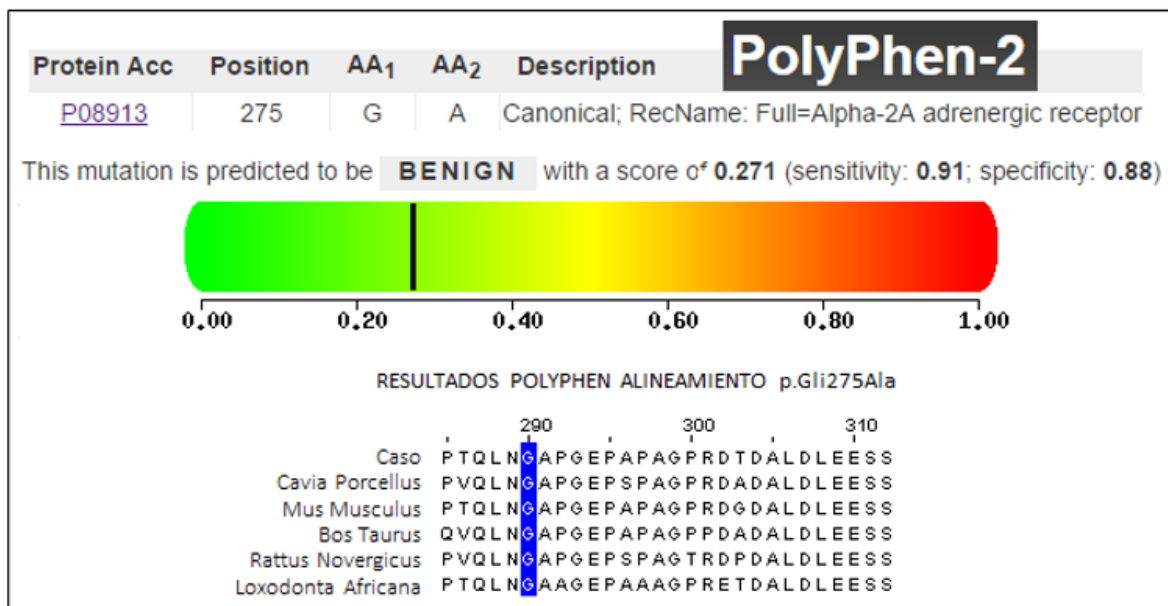


FIGURA 14. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.824G>C. PolyPhen2 resultados benignos, score 0,27.

- Variante c.1118A>C

Análisis mediante SIFT

Evidencia un cambio tolerado a nivel proteico, score de 0,48.

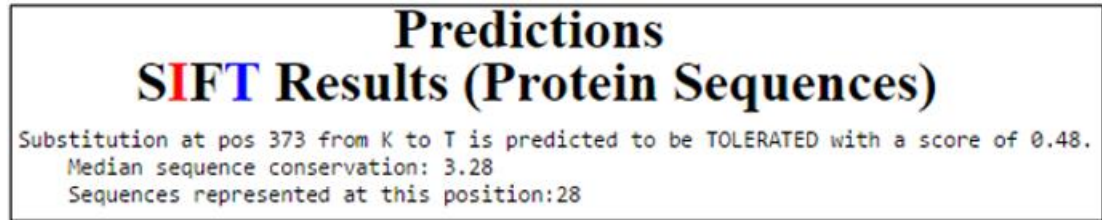


FIGURA 15. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.1118A>C. SIFT score 0,48, cambio tolerado.

Análisis mediante PolyPhen2

Los resultados son probablemente benignos, con un score de 0,018.

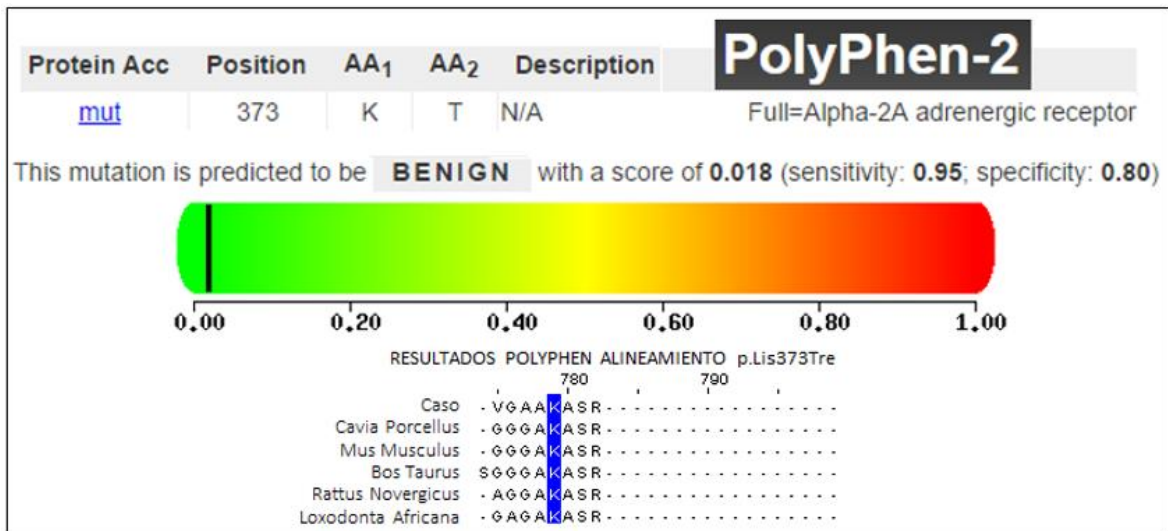


FIGURA 16. Resultados del análisis bioinformático para la variante c.1118A>C. PolyPhen2 score 0,018.

Posteriormente se realizó el alineamiento de la región proteica del cambio p.Asn382Leu para determinar su conservación entre especies (**Figura 17**).

```

    alpha-2A adrenergic receptor [Homo sapiens] AAGPGEERVGAAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCSVPR
    [Gorilla gorilla gorilla] AAGPGEERVGAAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCSVPR
    [Pan troglodytes] AAGPGEERVGAAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCSVPR
    [Pongo abelii] AAGPGEERVGAAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCSVPR
    [Rattus norvegicus] GSGQGEERAGGAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCPVY
    [Mus musculus] GSGHGEERGGGAKASRNIRGRQIREKRFTFVLAVVIGVFVWCWPPFFFTYTLTAVGCPVPS
  
```

FIGURA 17. Alineamiento de múltiples secuencias de la proteína ADRA2A en diferentes especies, la flecha indica la variante p.Asp382Leu en el caso de THDA mixto del estudio, el rectángulo rojo indica la posición de la mutación missense.

VARIANTE Y ANALISIS IN SILICO	SIFT	PolyPhen2	MutPred	Consecuencias en la proteína
c.1146C>T (p.Asn382Leu)	0.17	0.726	0.480	Posiblemente dañino
c.824G>C (p.Gly275Ala)	0.75	0.27	0.402	Tolerado
c.1118A>C (p.Lys373Thr)	0.48	0.018	0.464	Tolerado

TABLA 9. Resumen de resultados de análisis in silico de las variantes nuevas encontradas en el estudio.

7.5 COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS DE LA VARIANTE rs1800038 CON OTRAS POBLACIONES

La variante rs1800038 encontrada en nuestro grupo de estudio (Castro T, et al. 2013) se ha descrito también en otros, con poblaciones de diferentes razas y orígenes.

Este polimorfismo hace parte de las variantes más frecuentes del gen *ADRA2A*, reportadas en diferentes poblaciones. En la muestra de niños bogotanos tomada para este estudio solo se encontró la variante rs1800038, de todas las variantes previamente reportadas comunes para el *ADRA2A*.

Se realizó una comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas encontradas en nuestra población con las de otras poblaciones a nivel mundial, para el polimorfismo rs1800038. Este análisis se realizó a través de una prueba de χ^2 , considerado un valor de $p < 0,05$ estadísticamente significativo. No se realizó comparación con población hispánica pues esta está referida en solo un estudio (Feng et al., 1998) con una muestra de solo seis personas en las cuales no se halló este polimorfismo.

Población	n	FG C/C	p	FG C/A	p	FG A/A	p
Europea	226	0,990	0,765	0,009	0,004	0,000	NA
Asiática	172	0,512	0,800	0,442	0,8121491	0,047	0,908
Africa subsahariana	222	0,856	0,860	0,144	0,7121781	0	NA

TABLA 10. Análisis comparativo (a través de prueba de χ^2) de las frecuencias genotípicas (FG) del polimorfismo rs1800038 encontradas en nuestra población versus otras poblaciones (Datos NCBI- HapMap-CEU 2014).

Población	n	FA alelo C	p	FA alelo A	p
Europea	452	0,996	0,872	0,004	0,011
Asiática	344	0,733	0,905	0,267	0,844
Africa subsahariana	444	0,928	0,923	0,072	0,729

TABLA 11. Análisis comparativo (a través de prueba de χ^2) de las frecuencias alélicas (FA) del polimorfismo rs1800038 encontradas en nuestra población versus otras poblaciones (Datos NCBI- HapMap-CEU 2014).

Los análisis en poblaciones con diferentes fenotipos psiquiátricos han mostrado diferencias en la distribución de las frecuencias alélicas (Feng et al, 1998; Kersten M. Small et al 2006). Para este polimorfismo la frecuencia alélica mínima es variable, con valores que oscilan entre 0,004 en el Oeste de Europa y 0,26 en la población Asiática.

8. DISCUSION

El trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) y sus subtipos, son un grupo de trastornos neuroconductuales definidos en una sola entidad (DSM-IV-TR), los síntomas se presentan en más de un lugar (casa, colegio, etc.) y durante un período de tiempo superior a seis meses. Debido a su evolución interfiere en las actividades sociales y académicas del niño o con las labores ocupacionales del adolescente y del adulto. Así ocurre con la mayor parte de los trastornos que aparecen en etapas tan tempranas de la vida como el déficit cognitivo, los trastornos del desarrollo, o el trastorno disocial, que es el antecedente del trastorno de personalidad antisocial del adulto (Herpertz et al. 2001).

La etiología se ha relacionado con alteraciones en las vías noradrenérgicas (Kornetsky et al., 1970), así como con los genes que hacen parte de la misma y en los sistemas de neurotransmisión dopaminérgica y serotoninérgica.

En 1993 se encontró evidencia farmacológica acerca de la actividad de ciertos fármacos como la Clonidina y la Guanfacina sobre el Receptor Adrenérgico ADRA2A (Steingard et al., 1993). A nivel de la corteza prefrontal, estos fármacos, mejoran ciertas habilidades y operaciones cognitivas al igual que la memoria de trabajo y otros endofenotipos que son parte de la actividad noradrenérgica (Arnstein et al., 1998. Pennington and Ozonoff, 1996).

Al ser evidente la diferencia en la actividad de los sistemas adrenocorticales en los niños con THDA con respecto a los niños sanos, se concluyó la importancia de los receptores en la etiología de la entidad. Dentro de estos, el candidato más prometedor es el Receptor Adrenérgico codificado por el gen *ADRA2A*, el cual se

expresa en muchas áreas cerebrales incluyendo la corteza prefrontal que es la más relacionada con las funciones deficientes en este trastorno, además del cerebelo y la porción cervical de medula espinal (Berkowitz et al., 1994).

De esta forma buscando la asociación del gen con el THDA y sus endofenotipos, se realizaron varias aproximaciones basadas en la búsqueda de ciertos polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) del gen con la etiología del trastorno y otros desordenes psiquiátricos (Feng et al., 1998).

Se ha estudiado el gen del receptor analizando polimorfismos en la región promotora del gen, haplotipos con múltiples marcadores identificando un set de SNPs, así como polimorfismos en la porción 3'UTR.

Investigadores como Román y su grupo en el año 2003 encuentran asociación del rs1800544, alelo MspI (Román et al., 2003) estableciendo un haplotipo de riesgo para el THDA. Adicionalmente el polimorfismo rs553668 (alelo T, DraI), ubicado en el extremo 3'UTR, también se postuló como un alelo de alto riesgo para el trastorno (Park et al., 2005).

El estudio de Park, provee la mayor contribución a la asociación del gen con la etiología del THDA y lo postulan como un firme candidato en la etiología del trastorno, aunque otros autores no han replicado los mismos hallazgos (Xu et al. 2001; Barr et al. 2002). El presente trabajo no analizó las variantes de la región promotora y en la región 3'UTR estudiadas por Park.

Surge entonces como nueva propuesta el hecho de analizar la secuencia codificante del gen de forma completa para determinar si existen variantes que puedan asociarse al THDA o a sus endofenotipos.

En los casos identificados con diagnóstico de THDA tipos hiperactivo-impulsivo, inatento o combinado-mixto, según criterios del DSM-IV validados en Colombia, se aplicó la escala BASC en sus padres y maestros para confirmar los hallazgos. Se efectuó en los niños la prueba WISC-R y además se establecieron antecedentes médicos para descartar comorbilidades o estados de estrés postraumático, esto con el fin de evitar clínicamente errores de muestreo.

El coeficiente intelectual fue tomado como uno de los precedentes principales en el análisis de los pacientes con el fin de excluir niños con discapacidad cognitiva, con esto se buscó una muestra más específica del trastorno y no fenotipos sobrelapados. Este proceso riguroso permitió menos falsos positivos o sesgo en la selección de la muestra.

Los niños en edad escolar fueron evaluados de forma rigurosa y extendida con el fin de obtener casos que cumplieran a cabalidad los criterios, lo cual hace la muestra bien caracterizada desde el punto de vista fenotípico y contiene además especificaciones de cada paciente de acuerdo a los subtipos del THDA para buscar la más precisa correlación del genotipo con los mismos.

El THDA es un trastorno encontrado más frecuentemente en niños que en niñas con una proporción que va desde 2:1 hasta 9:1 (Biederman et al., 2010; Faraone S., Biederman J., Mick E. 2006). En esta población se encontró un 82.2% de niños afectados con la entidad respecto a un 17.8% de niñas para una relación de 4:1. Estos datos se correlacionan con lo reportado previamente en la literatura, sin embargo tiene valores un poco más altos que lo descrito en otras poblaciones bogotanas 2:1 (Vélez et al. 2008).

La edad promedio de los casos es de 8.73 años, esto se correlaciona con lo reportado en la literatura que refiere que la prevalencia del THDA es mayor entre

los seis y los once años; probablemente debido a que estas edades hay mayor exigencia académica y por tanto se requiere mayor atención (Vélez et al, 2008).

De los subtipos del THDA se encontró un 50% para el subtipo Mixto, 37% de pacientes con diagnóstico del subtipo Inatento y 3% para niños con diagnóstico del subtipo Hiperactivo-Impulsivo. De forma similar en estudios previos se ha encontrado el subtipo hiperactivo-impulsivo como el de menor prevalencia (Wang et al, 2006), mientras que el inatento se haya como el más común (Goodyear, Hynd, 1992; Cantwell, Baker, 1992; Paternite, Loney, Roberts, 1996; Woo, Rey, 2005; Baeyens, Roeyers, Walle, 2006; de Nijs, Ferdinand, Verhulst, 2007; Dickerson Mayes et al, 2009). Para nuestra muestra se encontró en mayor proporción el subtipo mixto, esto puede deberse al tamaño de la muestra de casos que se tuvo en cuenta para este estudio.

Se encontró en un caso con THDA de tipo Mixto la mutación c.1146C>T, (p.Asn382Leu), los análisis mediante PolyPhen2 y MutPred predicen un efecto deletéreo a nivel de la proteína (**Figuras 10 a 12**). La posición en que cambia el aminoácido está en la sexta hélice, dominio transmembrana, cerca de la porción del receptor acoplado a proteínas G, miembros típicos de la superfamilia de las Rodopsinas. Esta familia de receptores en la que se encuentra esta variante, miembro de la familia de las Opsinas, contiene los receptores acoplados a proteínas G (Análisis obtenidos del banco de datos proteicos - su nombre en inglés: Protein data Bank siglas PDB, código de la proteína P08913 – NCBI código pfam00001 – PDB ID 1hII). Este tipo de receptores comparten varios motivos y para el *ADRA2A* es la región reguladora transcripcional debido a su función en transducción de señales.

El aminoácido asparagina que se codifica en la posición 382 está conservado entre varias especies, éste es polar, no ionizable, tiene un grupo carboxamida en la cadena lateral que le permite formar enlaces de hidrógeno, por esto los residuos de Asparagina (Asn) suelen encontrarse al principio y al final de la estructura de la hélice alfa, y además provee sitios clave para la N-glicosilación. Al cambiar el aminoácido en la sexta hélice del dominio transmembrana por la Leucina, que en su cadena lateral es apolar, alifático, no hay posibilidad de hacer enlaces de hidrógeno y cambia la estructura de la hélice alfa, generando un impacto en las propiedades funcionales y estructurales de la proteína ADRA2A, probablemente disminuyendo su actividad de receptor para el neurotransmisor, provocando un incremento de la Noradrenalina en la hendidura sináptica y por tanto menor captación de la misma, así incrementará la actividad motora, disminuye la capacidad de enfocarse en un estímulo y se deteriora la atención; lo que podría relacionarse con el subtipo mixto del caso en que se encontró esta variante.

Este hallazgo sumado a los de Feng en 1998, Román en el año 2003 y Park en el 2005 que ya se mencionaron previamente, permite postular al gen *ADRA2A* como un candidato importante en la etiología del THDA.

Adicionalmente se encontraron variantes potencialmente benignas según los análisis *in silico*, c.824G>C (p.Gli275Ala) y c.1118A>C (p.Lis373Tre), que aunque implican dos tipos de aminoácidos diferentes, no afectan drásticamente la estructura ni la función proteica. En la primera, la Glicina es un aminoácido polar, hidrófilo y la Alanina no polar, hidrofóbico; ambos son neutros y pequeños, la localización de la variante es el sitio de unión al receptor, en la porción intracelular, cuarto dominio, parte inicial del tercerloop intracelular y la Alanina adquiere entonces un papel importante en el reconocimiento del sustrato (**Figuras 13 y 14**). En la segunda, la Lisina aminoácido esencial, básico, hidrofílico, cambia por la

Treonina otro tipo de aminoácido esencial, neutro, polar, que tiene igualmente una cadena lateral hidrofílica (**Figuras 15 y 16**).

Para el polimorfismo c.1138C>A (p.Arg380Arg) denominado rs1800038, a pesar de no encontrar una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de las frecuencias (**Tabla 7**), se observa una tendencia hacia una mayor frecuencia del alelo C dentro del grupo de afectados por el trastorno y la falta de asociación puede deberse al tamaño de la muestra (Castro T, et al. 2013).

El cambio silente en el aminoácido Arginina producido por el polimorfismo mencionado no altera la estructura proteica. En esta posición 380 de la proteína se encuentra el inicio del sexto dominio transmembrana (QuenRen et al, 1993) que se continua con el tercer loop intracelular del receptor hacia el dominio C-Terminal que en las modificaciones postraduccionales de la proteína sufre fosforilación. Este dominio es importante para las interacciones farmacológicas de la proteína ADRA2A (Qin Wang y Lee E. Limbird, 2002), aunque se ha descrito que el tercer loop intracelular de los receptores acoplados a proteínas G es básico para la función de los mismos, en este caso no hay cambio de la secuencia de aminoácidos, así que no se altera la actividad en transducción de señales.

Con los datos obtenidos para el polimorfismo rs1800038 se realizó la comparación con los reportados a nivel internacional, encontrando diferencia estadísticamente significativa con los datos de la población Europea probablemente debido a la diferencia de los orígenes poblacionales.

Con estos análisis ya descritos, ninguno de los tres polimorfismos hallados c.1138C>A, c.824G>C y c.1118A>C pueden entonces relacionarse con el fenotipo del trastorno de hiperactividad y déficit de atención, pues se encuentra en casos y

controles con una frecuencia alélica similar y los análisis bioinformáticos no muestran alteraciones a nivel de la función proteica. Adicionalmente, en los análisis estadísticos la distribución de las variantes para cada uno de los subtipos de THDA no arrojó datos que permitieran establecer una asociación.

Estudios previos muestran el THDA tipo inatento como el más frecuente en la población y además *ADRA2A* había mostrado asociación con este subtipo (Román et al. 2003, Schmitz et al. 2006). En el presente trabajo, el subtipo mixto es el que presenta una mayor proporción en la muestra de casos. Es necesario realizar un estudio más amplio para confirmar si esta distribución diferente es característica de la zona o si se debe exclusivamente al tamaño de la muestra.

Como resultado de la investigación, este estudio se suma a la evidencia que muestra a *ADRA2A* comprometido en la fisiopatología del THDA. La heterogeneidad de resultados en los estudios previos podría estar dada por el tamaño de la muestra, los criterios de inclusión de los casos y la procedencia de los pacientes analizados.

Es necesario analizar este gen en un número mayor de pacientes provenientes de diferentes regiones del país y del mundo, así como realizar análisis funcionales que permitan establecer el rol real del gen *ADRA2A* en la fisiopatología del trastorno.

9. CONCLUSIONES

Se identificó la variante c.1146C>T con probable efecto deletéreo en la proteína (p.Asp382Leu), en un caso del subtipo mixto, lo que apoya la asociación de variantes en el gen *ADRA2A* con el diagnóstico del Trastorno de Hiperactividad y Déficit de Atención.

La relación hombre/mujer de casos afectados en el estudio es de 4:1 respectivamente, esto confirma que el fenotipo es dado con mayor frecuencia en varones que en las niñas, como se ha demostrado en la mayoría de estudios.

La edad promedio en los casos oscila entre siete y nueve años para cada uno de los subtipos, así se ha descrito en estudios previos, pues la edad de diagnóstico del THDA se encuentra entre los seis y los once años, lapso de tiempo asociado a los múltiples cambios escolares.

Los polimorfismos rs1800038, c.824G>C y c.1118A>C analizados no tienen efecto a nivel de la proteína, sin embargo no se puede descartar que estas variantes en la secuencia codificante del gen *ADRA2A*, de forma aditiva con otras variantes en otras regiones del gen y otros genes, se relacionen con el fenotipo del THDA y/o la severidad de sus subtipos.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de las frecuencias de los polimorfismos encontrados en el gen, entre los casos y los controles, ni con los datos reportados para otras poblaciones.

10. RECOMENDACIONES

El gen *ADRA2A* hace parte de la heterogeneidad genética del THDA, y debido a la heredabilidad del rasgo, deben considerarse análisis funcionales de la proteína tomando como base la mutación reportada en el presente trabajo para determinar su efecto real a nivel de la proteína y por ende en el trastorno.

Se sugiere aumentar el número de pacientes afectados con THDA que sean de diferentes zonas geográficas, con el fin de establecer la presencia de otras variantes en el gen que permitan así confirmar la asociación entre la presencia de mutaciones en el gen *ADRA2A* y el desarrollo de THDA.

A partir de este estudio, se sugiere realizar estudios retrospectivos comparativos en donde se correlacionen los subtipos de THDA con los genes involucrados en el sistema noradrenérgico y así lograr un análisis molecular más detallado, incluyendo secuencia promotora.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguiar, Andréa, Paul a Eubig, and Susan L Schantz, 'Attention Deficit/hyperactivity Disorder: a Focused Overview for Children's Environmental Health Researchers.', *Environmental Health Perspectives*, 118 (2010), 1646-53 <doi:10.1289/ehp.1002326>.
- Adler, Lenard A.; Spencer, Thomas; Faraone, Stephen V.; Kessler, Ronald C.; Howes, Mary J.; Biederman, Joseph; Secnik, Kristina, 'Validity of Pilot Adult ADHD Self-Report Scale (ASRS) to Rate Adult ADHD Symptoms.' *Annals of Clinical Psychiatry*, Vol 18(3), Jul-Sep 2006, 145-148. <doi: 10.1080/10401230600801077>.
- Antonio Juan, Amador Campos, Maria Forns Santacana, y Teresa Kirchner Nebot, 'La Escala De Inteligencia De Wechsler Para Niños Revisada'.
- Arán, Vanessa, and Filippetti Carlos, 'Neuropsicología Del Trastorno Por Déficit De Atención / Hiperactividad: Subtipos Predominio Déficit De Atención y Predominio Hiperactivo-Impulsivo', 28 (2009), 14-28.
- 'Trastorno Por Déficit De Atención, Hiperactividad e Impulsividad', *Ascofame CCAP*, 2003, 28-42
- Barbarese, William J, Jeanine Ransom, and Peter C O Brien, 'Use and Costs of Medical Care for Children Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder', 285 (2011), 60-66.
- Barkley RA. Developmental course, adult outcome, and clinic-referred ADHD adults. In: Barkley RA, ed. *Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: A Handbook for Diagnosis and Treatment*. 2nd ed. New York, NY: Guilford Press. 1998. 186–224.
- Barr, C L, K Wigg, G Zai, W Roberts, M Malone, R Schachar, and others, 'Attention-deficit Hyperactivity Disorder and the Adrenergic Receptors Alpha 1C and Alpha 2C.', *Molecular Psychiatry*, 6 (2001), 334-7 <doi:10.1038/sj.mp.4000863>.
- Bará S, Jiménez DA, Vicuña GC, Pineda D, and Henao P, 'Perfiles Neuropsicológicos y Conductuales De Niños Con Trastorno Por Déficit De Atención / Hiperactividad De Cali , Colombia', 37 (2003), 608-615.

- Bobb, Aaron J., F. Xavier Castellanos, Anjene M. Addington, and Judith L. Rapoport, 'Molecular Genetic Studies of ADHD: 1991 to 2004', *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 141B (2006), 551-565 <doi:10.1002/ajmg.b.30086>.
- Carmen Lara, John Fayyad, Ron de Graaf, Ronald C. Kessler, Sergio Aguilar-Gaxiola, Matthias Angermeyer, Koen Demyttenaere, Giovanni de Girolamo, Josep Maria Haro, Robert Jin, Elie G. Karam, Jean-Pierre Lépine, Maria Elena Medina Mora, Johan Ormel, José Posada-Villa y Nancy Sampson, 'Childhood Predictors of Adult Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Results from the World Health Organization World Mental Health Survey Initiative.' *Biological Psychiatry*. Volume 65, Issue 1, Pages 46-54, 1 January 2009.
- Castro Taryn, Mateus Heidi Eliana, Fonseca Dora, Forero Diego, Restrepo Carlos Martin, Talero Claudia, Vélez-van-Meerbeke A, Laissue Paul. 'Sequence analysis of the ADRA2A coding region in children affected by attention deficit hyperactivity disorder.' *Neurol Sci*. 2013 Dec;34(12):2219-22. doi: 10.1007/s10072-013-1569-4. Epub 2013 Nov 1.
- Cheon, Keun-Ah, Dae-Yeon Cho, Min-Seong Koo, Dong-Ho Song, and KeeNamkoong, 'Association Between Homozygosity of a G Allele of the Alpha-2a-adrenergic Receptor Gene and Methylphenidate Response in Korean Children and Adolescents with Attention-deficit/hyperactivity Disorder.', *Biological Psychiatry*, 65 (2009), 564-70 <doi:10.1016/j.biopsych.2008.12.003>.
- Comings, D E, R Gade-Andavolu, N Gonzalez, H Blake, S Wu, and J P MacMurray, 'Additive Effect of Three Noradrenergic Genes (ADRA2a, ADRA2C, DBH) on Attention-deficit Hyperactivity Disorder and Learning Disabilities in Tourette Syndrome Subjects.', *Clinical Genetics*, 55 (1999), 160-72 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10334470>>.
- Cornejo, J W, O Osío, Y Sánchez, J Carrizosa, G Sánchez, H Grisales, and others, 'Prevalencia Del Trastorno Por Déficit De Atención-hiperactividad En Niños y Adolescentes Colombianos', *Revista De Neurología*, 40 (2005), 716-722.
- Cortese S, Faraone SV, Sergeant J, 'Misunderstandings of the genetics and neurobiology of ADHD: Moving beyond anachronism.', *Am J Med Genet B Neurophychiatry Genet* 156:513-516.
- Doyle, Alys E, Stephen V Faraone, Larry J Seidman, Erik G Willcutt, Joel T Nigg, Irwin D Waldman, and others, 'Are Endophenotypes Based on Measures of Executive Functions Useful for Molecular Genetic Studies of ADHD?', *Journal*

of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines, 46 (2005), 774-803
<doi:10.1111/j.1469-7610.2005.01476.x>.

Feng, J, J L Sobell, L LHeston, D Goldman, E Cook, H R Kranzler, and others, 'Variants in the alpha2A AR Adrenergic Receptor Gene in Psychiatric Patients.', *American Journal of Medical Genetics*, 81 (1998), 405-10
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9754626>>.

Fuemmeler, B F, T Ostbye, C Yang, F J McClernon, and S H Kollins, 'Association Between Attention-deficit/hyperactivity Disorder Symptoms and Obesity and Hypertension in Early Adulthood: a Population-based Study.', *International Journal of Obesity (2005)*, 35 (2011), 852-62 <doi:10.1038/ijo.2010.214>.

Gizer Ian R., Ficks Courtney and Waldman Irwin. 'Candidate gene studies of ADHD: A meta-analytic review. ', *Human Genetics* (2009) 126: 51-90<doi: 10.1007/s00439-009-0694-x>

Health, Mental, 'Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in Adults', ed. by W. Retz and R.G. Klein, 176 (2009).

International HapMap Project-NCBI, disponible en:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?searchType=adhoc_search&type=rs&rs=rs1800038

James P. O'donnell, Kathleen k. Mccann, and Steve Pluth, 'Assessing adult adhd using a self-report symptom checklist.' *Psychological Reports: Volume 88*, (2001) issue , pp. 871-881. <doi: 10.2466/pr0.2001.88.3.871>.

Jewell-Motz, E a, K M Small, C T Theiss, and S B Liggett, 'Alpha 2A/alpha 2C-adrenergic Receptor Third Loop Chimera Show That Agonist Interaction with Receptor Subtype Backbone Establishes G Protein-coupled Receptor Kinase Phosphorylation.', *The Journal of Biological Chemistry*, 275 (2000), 28989-93
<doi:10.1074/jbc.M005381200>.

JT McCracken, KK Badashova, DJ Posey, MG Aman, L Scahill, Etierney, LE Arnold, B Vitiello, F Whelan, SZ Chuang, M Davies, B Shah, CJ McDougle and EL Nurmi, 'Positive effects of methylphenidate on hyperactivity are moderated by monoaminergic gene variants in children with autism spectrum disorders.

Kahn, E. and Cohen, L. H. (1934). Organic drivenness: A brain stem syndrome and an experience. *New England Journal of Medicine*, 210, 748-56.

- Kathleen M Egan, Jeannine Abruzzo, Polly A Newcomb, Linda Titus-ernstoff, Tracie Franklin, and others, 'Collection of Genomic DNA from Adults in Epidemiological Studies By', 10 (2001), 687-696.
- Kessler, Ronald C, Patricia A Berglund, Martha L Bruce, J Randy, Eugene M Laska, Philipj Leaf, and others, 'Articles The Prevalence and Correlates of Untreated Serious Mental Illness', *HSR: Health Services Research*, 1999, 987-1007.
- Kim, Boong-Nyun, Jae-Won Kim, Hyejin Kang, Soo-Churl Cho, Min-Sup Shin, Hee-Jeong Yoo, and others, 'Regional Differences in Cerebral Perfusion Associated with the alpha-2A-adrenergic Receptor Genotypes in Attention Deficit Hyperactivity Disorder.', *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 35 (2010), 330-6 <doi:10.1503/jpn.090168>.
- Konrad, Kerstin, and Simon B Eickhoff, 'Is the ADHD Brain Wired Differently? A Review on Structural and Functional Connectivity in Attention Deficit Hyperactivity Disorder.', *Human Brain Mapping*, 31 (2010), 904-16 <doi:10.1002/hbm.21058>.
- Kurnik, Daniel, 'Effects of Variation in the Human α 2A- and α 2C-adrenoceptor Genes on Cognitive Tasks and Pain Perception', *Eur J Pain.*, 14 (2011), 1-13 <doi:10.1016/j.ejpain.2009.04.003.Effects>.
- Lee, Patti P, Wendy Sharp, Neal O Jeffries, Deanna K Greenstein, Liv S Clasen, Jonathan D Blumenthal, and others, 'Of Brain Volume Abnormalities in Children and Adolescents With Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder', *Jama*, 288 (2002), 1740-1748.
- Lefkowitz, R J, and M G Caron, 'Regulation of Adrenergic Receptor Function by Phosphorylation.', *Current Topics in Cellular Regulation*, 28 (1986), 209-31 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3029101>>.
- Li Yang, Qiujin Quian, Lu Liu, Haimei Li, Stephen V. Faraone, Yufeng Wang, 'Adrenergic neurotransmitter system transporter and receptor genes associated with atomoxetine response in attention-deficit hyperactivity disorder children.', *J Neural Transm* (2013) 120:1127-1133.
- Lum, a, and L Le Marchand, 'A Simple Mouthwash Method for Obtaining Genomic DNA in Molecular Epidemiological Studies.', *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: a Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 7 (1998), 719-24 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9718225>>.

- M, Alfonso Urzúa, Marcos Domic S, Andrea Cerda C, Mireya Ramos B, and Jael Quiroz E, 'Trastorno Por Déficit De Atención Con Hiperactividad En Niños Escolarizados', 80 (2009), 332-338.
- Martijn Arns, Kristiaan B. van der Heijden, L. Eugene Arnold and J. Leon Kenemans, 'Geographic variation in the prevalence of attention-Deficit/Hyperactivity disorder: The sunny perspective.', *Biol Psychiatry* 2013; <doi:10.1016/j.biopsych.2013.02.010>
- McClendon, Debra T, Jared S Warren, Katherine M Green, Gary M Burlingame, Dennis L Eggett, and Richard J McClendon, 'Sensitivity to Change of Youth Treatment Outcome Measures: a Comparison of the CBCL, BASC-2, and Y-OQ.', *Journal of Clinical Psychology*, 67 (2011), 111-25 <doi:10.1002/jclp.20746>.
- Merrell, Kenneth W., Richard L. Blade, Jacqueline Lund, and Kari K.G. Kempf, 'Convergent and Discriminant Construct Validity of the Internalizing Symptoms Scale for Children with the BASC-SRP-C', *Psychology in the Schools*, 40 (2003), 139-144 <doi:10.1002/pits.10076>.
- Miller, S. A.; Dykes, D. D.; Polesky, H. F. 'A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells', *Nucl. Acids Res.* (1988)16 (3):1215.
- Mulas, F, M Téllez De Meneses, S Hernández-muela, L Mattos, and I Pitarch, 'TrastornoPorDéficit De Atención e Hiperactividad y Epilepsia', *Revista De Neurologia Valencia España*, 39 (2004), 192-195.
- Mulot, Claire, Isabelle Stücker, Jacqueline Clavel, Philippe Beaune, and Marie-Anne Lorient, 'Collection of Human Genomic DNA from Buccal Cells for Genetics Studies: Comparison BetweenCytobrush, Mouthwash, and Treated Card.', *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2005 (2005), 291-6 <doi:10.1155/JBB.2005.291>.
- MutPred Server. Disponible en: <http://mutpred.mutdb.org/index.html>
- Nagel, Bonnie J, DeeptiBathula, Megan Herting, Colleen Schmitt, Christopher D Kroenke, Damien Fair, and others, 'Altered White Matter Microstructure in Children with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder', 2012, pp. 1-15 <doi:10.1016/j.jaac.2010.12.003.Altered>.
- Neale, Benjamin M, Sarah E Medland, Stephan Ripke, Philip Asherson, Barbara Franke, Klaus-peter Lesch, and others, 'Meta-analysis of Genome-wide Association Studies of Attention Deficit/hyperactivity Disorder', *J Am Acad*

Child Adolesc Psychiatry., 49 (2011), 1-23
<doi:10.1016/j.jaac.2010.06.008.Meta-analysis>.

NovoSNP disponible en: <http://www.molgen.ua.ac.be/bioinfo/novosnp/>.

Park, L, J T Nigg, I D Waldman, K a Nummy, C Huang-Pollock, M Rappley, and others, 'Association and Linkage of alpha-2A Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms with Childhood ADHD.', *Molecular Psychiatry*, 10 (2005), 572-80 <doi:10.1038/sj.mp.4001605>.

Philipp, Melanie, Marc Brede, and Lutz Hein, 'Physiological Significance of Alpha(2)-adrenergic Receptor Subtype Diversity: One Receptor Is Not Enough.', *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283 (2002), R287-95 <doi:10.1152/ajpregu.00123.2002>.

Pineda DA, Lopera GC, Palacio JD, Henao P. 'Prevalencia del trastorno por déficit de atención en una comunidad colombiana.', *Rev Neurología*. 2001; 33:2-17.

Polanczyk Guilherme, Silva de Lima Mauricio, Lessa Horta Bernardo, Biederman Joseph and Rohde Luis Augusto, 'The Worldwide Prevalence of ADHD: A Systematic Review and Metaregression Analysis.', *Am J Psychiatry* 2007; 164:942-948. <<http://www.ajp.psychiatryonline.org>>.

Prediction of functional effects of human nsSNPs (Database PolyPhen-2)
Disponible en : <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>.

Psychiatric, The, Gwas Consortium, and Steering Committee, 'A Framework for Interpreting Genome-wide Association Studies of Psychiatric Disorders.', *Molecular Psychiatry*, 14 (2009), 10-7 <doi:10.1038/mp.2008.126>.

Rasmussen, Erik R, Rosalind J Neuman, Andrew C Heath, Florence Levy, David a Hay, and Richard D Todd, 'Familial Clustering of Latent Class and DSM-IV Defined Attention-deficit/hyperactivity Disorder (ADHD) Subtypes.', *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 45 (2004), 589-98 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15055377>>.

Reilly, Colin, and Niamh Holland, 'Symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children and Adults with Intellectual Disability : A Review', 2011, 291-309.

Ren, Quen, Hitoshi Kurose, Robert J Lefkowitzs, and Susanna Cotecchiag, 'Constitutively Active Mutants of the az-Adrenergic Receptor.', 268 (1993), 16483-16487.

- Risueño Alicia E, 'Aportes De La Neuropsicología Dinámica Integral Al Diagnóstico y Tratamiento Del Adhd. *', *Rev PsiquiatrPsicol Niño y Adolesc.*, 4 (2001), 79-87.
- Rommelse, Nanda Nj, Marieke E Altink, Neilson C Martin, CathelijneJmBuschgens, Stephen V Faraone, Jan K Buitelaar, and others, 'Relationship Between Endophenotype and Phenotype in ADHD.', *Behavioral and Brain Functions: BBF*, 4 (2008), 4 <doi:10.1186/1744-9081-4-4>.
- Schramm, N L, M P McDonald, and L E Limbird, 'The Alpha(2a)-adrenergic Receptor Plays a Protective Role in Mouse Behavioral Models of Depression and Anxiety.', *The Journal of Neuroscience : the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21 (2001), 4875-82 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11425914>>.
- Sherman, D K, M K McGue, and W G Iacono, 'Twin Concordance for Attention Deficit Hyperactivity Disorder: a Comparison of Teachers' and Mothers' Reports.', *The American Journal of Psychiatry*, 154 (1997), 532-5 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9090341>>.
- Skounti Maria, Philalithis Anastas and Galanakis Emmanouil, 'Variations in prevalence of attention deficit hyperactivity disorder worldwide.', *Eur J Pediatr* (2007) 166:117-123 <doi:10.1007/s00431-006-0299-5>
- Small, Kersten M, Kari M Brown, Carrie a Seman, Cheryl T Theiss, and Stephen B Liggett, 'Complex Haplotypes Derived from Noncoding Polymorphisms of the Intronless alpha2A-adrenergic Gene Diversify Receptor Expression.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (2006), 5472-7 <doi:10.1073/pnas.0601345103>.
- Sorting intolerant from tolerant (SIFT Database) disponible en: <http://sift.bii.a-star.edu.sg/>.
- Stevenson, J, K Langley, H Pay, a Payton, J Worthington, W Ollier, and others, 'Attention Deficit Hyperactivity Disorder with Reading Disabilities: Preliminary Genetic Findings on the Involvement of the ADRA2A Gene.', *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 46 (2005), 1081-8 <doi:10.1111/j.1469-7610.2005.01533.x>.
- Still George F, 'Some Abnormal Psychical Conditions in Children: Excerpts from Three Lectures.' *Journal of Attention Disorders*, v10 n2 p126-136 2006.
- Talmud, P J, J a Cooper, T Gaunt, M V Holmes, S Shah, J Palmen, and others, 'Variants of ADRA2A Are Associated with Fasting Glucose, Blood Pressure,

Body Mass Index and Type 2 Diabetes Risk: Meta-analysis of Four Prospective Studies.', *Diabetologia*, 54 (2011), 1710-9 <doi:10.1007/s00125-011-2108-6>.

Vakil Eli, Greenstein Yoram and Blashstein Haya, 'Normative data for composite scores for children and adults derived from de Rey auditory verbal learning test.' *The Clinical Neuropsychologist*, 24: 662-677, 2010.

Velez-Alvarez Consuelo y Jose A Vidarte Claros, 'Trastorno por déficit de atención en hiperactividad THDA, una problemática a abordar en la política pública de primera infancia en Colombia.', *Revista de salud pública*, 14 sup (2): 113-128, 2012.

Vélez-van-Meerbeke A, Claudia Talero Gutiérrez, Rodrigo González Reyes, and Milciades Ibáñez Pinilla, 'School Students in Bogotá-Colombia Artículo Original', *Acta Neurologia Colombiana*, 24 (2008).

Vélez-van-Meerbeke A, IP Zamora, G. Guzmán, B. Figueroa, C.A. Lopez Cabra, C. Talero-Gutierrez, 'Evaluating executive function in school children with symptoms of attention deficit hyperactivity disorder.' Artículo original, *Neurologia*.2013; 28:348-55

Vidarte JA, Ezquerro M, Giraldez MA, 'Perfil psicomotor de niños de 5 a 12 años diagnosticados clínicamente con THDA en Colombia. *Rev Neurologia* 2009; 49(2):69-75.

Walker, a H, D Najarian, D L White, J F Jaffe, P a Kanetsky, and T R Rebbeck, 'Collection of Genomic DNA by Buccal Swabs for Polymerase Chain Reaction-based Biomarker Assays.', *Environmental Health Perspectives*, 107 (1999), 517-20
<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1566681&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

Wasserman RC, Kelleher KJ, Bocian A, Childs GE, Indacochea F, Stulp C and Gardner WP, 'Identification of attentional and hyperactivity problems in primary care: a report from pediatric research in office settings and the ambulatory sentinel practice network.' *Pediatrics* 1999, Mar 103(3): E38

Wang, Qin, and Lee E Limbird, 'Regulated Interactions of the Alpha 2A Adrenergic Receptor with Spinophilin, 14-3-3zeta, and Arrestin3.', *The Journal of Biological Chemistry*, 277 (2002), 50589-96 <doi:10.1074/jbc.M208503200>.

Wilson, M H, H a Highfield, and L E Limbird, 'The Role of a Conserved Inter-transmembrane Domain Interface in Regulating Alpha(2a)-adrenergic

Receptor Conformational Stability and Cell-surface Turnover.', *Molecular Pharmacology*, 59 (2001), 929-38
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11259639>>.

---, 'The Role of a Conserved Inter-transmembrane Domain Interface in Regulating Alpha(2a)-adrenergic Receptor Conformational Stability and Cell-surface Turnover.', *Molecular Pharmacology*, 59 (2001), 929-38
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11259639>>.

---, 'Psychoactive substance use disorders in adults with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): Effects of ADHD and psychiatric comorbidity.' *American journal psychiatry* 1995; 152:1652-1658.

Xenitidis, K, Elena Paliokosta, E Rose, S Maltezos, and J Bramham, 'ADHD Symptom Presentation and Trajectory in Adults with Borderline and Mild Intellectual Disability.', *Journal of Intellectual Disability Research: JIDR*, 54 (2010), 668-77 <[doi:10.1111/j.1365-2788.2010.01270.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.2010.01270.x)>.

Zabel, U, J Vilardaga, H Schindelin, M J Lohse, and C Hoffmann, 'Fluorescence Resonance Energy Transfer Analysis of α 2a -Adrenergic Receptor Activation Reveals Distinct Agonist-Specific Conformational Changes', 75 (2009), 534-541 <[doi:10.1124/mol.108.052399](https://doi.org/10.1124/mol.108.052399)>.

Ziarih Hawi, Natasha Matthews, Edwina Barry, Aiveen Kirley, Joseph Wagner, Robyn H. Wallace, Helen S. Heussler, Alasdair Vance, Michael Gill, Mark A. Bellgrove, ' A high density linkage disequilibrium mapping in 14 noradrenergic genes: evidence of association between *SLC6A2*, *ADRA1B* and ADHD.', *Psychopharmacology* 2013; 225:895-902.

11. ANEXOS