

DJENIFER KAPPEL

**O PAPEL DOS GENES DOPAMINÉRGICOS *DRD2* E *DRD4* NA MODULAÇÃO DO
TEMPERAMENTO EM ADULTOS COM TDAH**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Dr. Nina Roth Mota

Co-Orientador: Prof. Dr. Claiton H. D. Bau

PORTO ALEGRE

DEZEMBRO/2014

Sumário

Resumo.....	4
1 Introdução.....	5
1.1 Os Transtornos Psiquiátricos.....	5
1.1.1 O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH).....	6
1.1.2 TDAH Associado a Outros Transtornos Externalizantes.....	7
1.2 As Dimensões de Personalidade.....	8
1.3 Estudos Moleculares.....	9
1.3.1 O Receptor de Dopamina D2.....	11
1.3.2 O Receptor de Dopamina D4.....	12
1.3.3 Interação <i>DRD2/DRD4</i>	13
2 Objetivos	15
3 Artigo Científico	16
4 Conclusão e Perspectivas	39
Referências Bibliográficas	41

Agradecimentos

Nem sempre é fácil agradecer àqueles a quem devemos tanto durante toda essa jornada.

À minha orientadora Nina, é difícil encontrar palavras para explicar o quanto aprendi e quanto me inspirei ao trabalhar contigo, tenho muito orgulho de ser a ‘Mini-me’.

Ao meu co-orientador, Professor Claiton, por ter me acolhido em seu grupo e ter me confiado essa brilhante oportunidade.

À Renata e ao Diego por terem me apadrinhado na entrada ao laboratório, pelo apoio, confiança e amizade. À Jaqueline, à Bruna e à Angelita pelo companheirismo, risadas e todo café compartilhado.

À Alícia, for being my person.

Aos meus amigos da Biomedicina e agregados, com certeza os momentos compartilhados contribuíram e muito na caminhada, que esses momentos continuem e ainda gerem muito mais histórias.

E aos meus pais, Liane e Elvis, os quais me permitiram chegar até aqui e sempre me apoiaram e acreditaram nas minhas decisões. A conclusão dessa etapa, mesmo que não entendível em sua grande parte, é tanto minha quanto de vocês.

O meu sincero muito obrigada a todos!

Resumo

O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) – caracterizado por sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade – manifesta-se ainda na infância e frequentemente persiste na idade adulta. Apesar da herdabilidade do TDAH ser estimada em torno de 80%, a identificação de fatores genéticos específicos consistentemente associados ao seu desenvolvimento tem sido de grande dificuldade. Desta forma, o estudo de possíveis endofenótipos, como características de personalidade, por exemplo, pode facilitar a identificação de tais fatores genéticos. Os genes que codificam os receptores de dopamina D2 (*DRD2*) e D4 (*DRD4*) estão entre os mais investigados na psiquiatria, apresentando resultados controversos quanto aos seus papéis no TDAH e em dimensões de temperamento. Esses genes estão também implicados em interações epistáticas relacionadas à susceptibilidade ao alcoolismo bem como no desenvolvimento do Transtorno de Conduta. Ambos transtornos são bastante frequentes em indivíduos com TDAH e, além de compartilharem alguns sintomas similares, há evidências de que tenham também uma base genética comum tanto com o TDAH quanto com dimensões de temperamento. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo verificar se variantes funcionais dos genes dopaminérgicos *DRD2* e *DRD4*, bem como a interação entre estas, estão influenciando a modulação de características de temperamento em adultos com TDAH, o que poderia indicar uma possível via pela qual esses genes dopaminérgicos influenciam a manifestação de diferentes transtornos psiquiátricos. Nossos resultados sugerem que o alelo T do rs2283265 do *DRD2* está associado com maiores escores de *Harm Avoidance* (Esquiva de Dano) e menores de *Persistence* (Persistência) ainda reportamos a associação da variante *DRD4* 7R com maior *Novelty Seeking* (Busca por Novidades). Estes resultados estão de acordo com relatos prévios implicando genes do sistema dopaminérgico na modulação do temperamento. Não foi observado efeito epistático da interação entre *DRD2* e *DRD4* na modulação das dimensões de temperamento específicas avaliadas nesta amostra. *DRD2* e *DRD4* já foram associados com variações no comportamento e outras características neuropsicológicas. Neste contexto, é possível que, como relatado aqui, estas associações possam estar de fato refletindo o efeito desses genes sobre os perfis específicos de personalidade e temperamento, os quais também estão associados aos diversos comportamentos e condições psiquiátricas relacionados com *DRD2* e *DRD4*.

1 Introdução

1.1 Os Transtornos Psiquiátricos

Indivíduos acometidos por transtornos psiquiátricos muitas vezes sofrem com o estigma, a discriminação, a violação de seus direitos e dificuldades financeiras relacionadas ao alto custo do tratamento e, frequentemente, da impossibilidade de continuar ativamente no mercado de trabalho. Os prejuízos causados por esses transtornos excedem o âmbito individual e comprometem também a família e a sociedade em geral. O Centro de Controle de Doenças, nos Estados Unidos (CDC – Center for Disease Control¹), estima que 25% da população estadunidense adulta possui algum transtorno psiquiátrico, e até 50% da população irá desenvolvê-los ao longo da vida. Sugere-se dados semelhantes na população brasileira, sendo que a prevalência de transtornos psiquiátricos na população adulta é estimada entre 20-56%². A alta prevalência destes transtornos afeta também a economia, com custos sendo estimados em até 4% do produto interno bruto de nações desenvolvidas a cada ano¹.

Em geral, os transtornos psiquiátricos são divididos em duas categorias distintas de acordo com a manifestação sintomatológica, os Transtornos Internalizantes e os Transtornos Externalizantes³. Segundo essa distinção, a internalização de sintomas e de respostas características ao descontentamento e sofrimento é típica dos Transtornos Internalizantes, como a Depressão e a Ansiedade. Já os Transtornos Externalizantes manifestam-se de maneira que o descontentamento é voltado para o ambiente externo, assim, é comum a presença de comportamentos agressivos e anti-sociais. Dentre os Transtornos Externalizantes, estão o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade, Transtorno por Uso de Substâncias e Transtorno de Conduta.

Devido ao grande impacto que os transtornos psiquiátricos causam na vida dos indivíduos afetados e na sociedade como um todo, assim como ao forte componente genético envolvido na susceptibilidade a esses transtornos, grandes esforços tem sido empreendidos no sentido de melhor compreender os fatores genéticos e neurobiológicos envolvidos.

1.1.1 O Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH)

O TDAH é um transtorno psiquiátrico caracterizado por prejuízos persistentes causados por sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade⁴. Esses sintomas devem estar presentes de forma mais intensa do que em indivíduos no mesmo estágio de desenvolvimento⁴. Apesar de ser tradicionalmente considerado como um transtorno da infância, já foi demonstrado que uma grande parcela das crianças com TDAH continuam apresentando os sintomas na idade adulta, e assim, desde 1980 o TDAH é oficialmente considerado um transtorno de natureza psíquica que se manifesta também em adultos⁵.

O TDAH é um dos transtornos mais comuns na psiquiatria, e sua prevalência mundial estimada é de 5,3% em crianças e adolescentes⁶ e cerca de 2,5-4,4% em adultos^{7; 8}. O diagnóstico do TDAH é feito com base na presença de sintomas de desatenção e ou hiperatividade e segundo o DSM-IV, é necessária a presença de seis ou mais sintomas em ao menos uma destas áreas, com manifestação antes dos sete anos de idade gerando prejuízo no desenvolvimento, aprendizado e relações interpessoais. Recentemente, a partir da publicação do DSM-5, os critérios passaram a exigir cinco sintomas e a idade de início do prejuízo foi estendida até os 12 anos de idade⁹. O diagnóstico do TDAH em adultos segue os mesmos critérios indicados pelo DSM-5, utilizando-se apenas de adaptações dos sintomas mais adequadas ao contexto da vida adulta. A persistência do TDAH nos adultos está relacionada com prejuízos no desempenho acadêmico, profissional, assim como nos relacionamentos afetivos e sociais, com claras desvantagens em seu funcionamento global quando comparados a indivíduos sem o transtorno¹⁰.

O TDAH tem etiologia multifatorial, sendo causado pela confluência de fatores genéticos e ambientais que conferem vulnerabilidade¹¹. Trata-se de um dos transtornos psiquiátricos com maior componente genético¹². Em sua revisão de estudos de gêmeos, Faraone et al¹³ estimaram a herdabilidade do transtorno em 76%. De maneira similar, um outro estudo recente estimou a herdabilidade do TDAH em adultos em 80%¹⁴. Evidências sugerem que, além do componente genético significativo envolvido nas causas do TDAH, fatores não genéticos como exposição pré-natal à nicotina, anoxia neonatal, baixo peso ao nascer, e exposição a altas concentrações de chumbo na infância também possam estar envolvidos¹⁵. No entanto, a compreensão dos fatores específicos que contribuem para o desenvolvimento do TDAH tem sido de grande dificuldade já que, apesar de o transtorno ser

caracterizado pela presença de sintomas de desatenção, hiperatividade e impulsividade, há grande variação de idade de início, sexo e heterogeneidade clínica nos pacientes¹³.

Dessa forma, ressalta-se a importância de analisar endofenótipos os quais podem facilitar a identificação desses fatores. A definição de endofenótipos implica um fenótipo mais próximo à etiologia biológica de um transtorno clínico do que seus sinais e sintomas e influenciados por um ou mais dos mesmos genes de susceptibilidade do transtorno^{16; 17}. Nessa perspectiva, as dimensões de personalidade, descritas na seção 1.2, já foram associadas com genes do sistema dopaminérgico e tem sido consideradas como um possível endofenótipo para o TDAH¹⁸.

1.1.2 TDAH Associado a Outros Transtornos Externalizantes

O TDAH raramente apresenta-se de forma isolada, sendo muito frequentemente associado à comorbidades psiquiátricas; em adultos estima-se que 80% dos indivíduos com TDAH apresentam alguma comorbidade⁷. Essa característica clínica é atribuída ao fato de que vários transtornos psiquiátricos compartilham, ao menos em parte, variantes genéticas comuns, aumentando a chance de manifestação de um segundo transtorno em até quatro vezes¹⁵. Em crianças, os transtornos externalizantes – que incluem, dentre outros, os Transtornos de Conduta (TC) e de Desafio e Oposição (TDO) – são as comorbidades mais prevalentes¹⁹. Já dentre adultos com TDAH, a prevalência de problemas relacionados à conduta foi estimada em 57,8%, enquanto que em adultos sem TDAH essa estimativa é em torno de 7%²⁰. Ainda dentre os transtornos externalizantes, o Transtorno por Uso de Substâncias (TUS) é uma das comorbidades mais comuns em adultos com TDAH, tendo sua prevalência estimada em 15%⁷.

De modo interessante, a revisão realizada por Arcos-Burgos et al²¹ sugere que o desenvolvimento desses transtornos externalizantes possa ter mecanismos psicológicos, fisiopatológicos e de predisposição genética em comum. Variações nos níveis de neurotransmissores, como dopamina e noradrenalina, por exemplo, tem sido apontadas como um dos fatores envolvidos desenvolvimento do TDAH. De maneira similar, os mesmos mecanismos podem estar influenciando também na predisposição ao TUS, TC e TDO^{15; 22}. A inter-relação entre o TDAH e os demais transtornos externalizantes ainda não está

completamente elucidada, mas há fortes evidências de que o TDAH na infância está associado a uma maior prevalência do TUS na vida adulta²³ e que essa associação esteja também relacionada ao TC na infância²⁴.

1.2 As Dimensões de Personalidade

Já em 1937 Allport²⁵ cunhou uma das definições de personalidade mais utilizadas até hoje; segundo ele, a personalidade é caracterizada pela “organização dinâmica dos sistemas psicofísicos do indivíduo que determinam seus ajustes específicos ao ambiente”. Uma das teorias de estruturação da personalidade mais difundida nas pesquisas biomédicas é o Modelo Psicobiológico da Personalidade de Cloninger^{26; 27}. Segundo o autor, a personalidade pode ser dividida em sete dimensões que descrevem traços normais de personalidade, sendo quatro delas de temperamento, e outras três de caráter. As quatro dimensões de temperamento são Busca por Novidades (NS, do inglês *Novelty Seeking*), Esquiva de Dano (HA, do inglês *Harm Avoidance*), Dependência de Recompensa (RD, do inglês *Reward Dependence*) e Persistência (P), enquanto que as três dimensões de caráter são compostas por Cooperatividade, Autotranscedência e Autodirecionamento, as quais não serão revisadas neste trabalho.

De acordo com o modelo de Cloninger, os traços de personalidade consistem em fenótipos complexos gerados a partir de múltiplas interações genéticas, bem como ambientais. Assim, o temperamento, característica que se manifesta inicialmente, apresentaria uma base biológica altamente herdável e estável; já o caráter, pouco herdável, e com manifestação em geral mais tardia, seria a expressão da modulação sociofamiliar. De fato, as estimativas de herdabilidade das dimensões de temperamento estão entre 51-57%²⁸, já a herdabilidade das dimensões de caráter está entre 27-45%²⁹. Cloninger propõe também correlações das dimensões com vias neuronais e sistemas neurotransmissores monoaminérgicos, de forma que a dimensão de NS estaria relacionada com o sistema dopaminérgico, já as dimensões de RD e P estariam relacionadas com o sistema adrenérgico, e por fim a dimensão de HA estaria relacionada com o sistema serotoninérgico. No entanto, essa distinção de sistemas e temperamento não parece ser tão rígida, de modo que genes do sistema dopaminérgico já foram implicados também com a dimensão de HA^{30; 31; 32; 33} e RD^{34; 35}, bem como do serotoninérgico com a dimensão de NS^{36; 37}.

O Inventário de Temperamento e Caráter (TCI), questionário derivado da teoria de Cloninger é utilizado na avaliação dos traços de personalidade. Nossos estudos são focados primariamente nas dimensões de temperamento pela maior probabilidade de que expressem características herdáveis de personalidade, podendo atuar como um endofenótipo comum a várias psicopatologias²⁷. A dimensão de NS envolve uma tendência hereditária à iniciação de atividade exploratória e tomada de decisões impulsivas relacionadas ao aumento de recompensa, extravagância e perda rápida de temperamento além de prevenção ativa de frustrações e punições. Já a dimensão de HA reflete um viés hereditário de inibição comportamental intensa frente a novidades, frustrações e punições, caracterizando um indivíduo pessimista, tímido e receoso. A dimensão de RD reflete uma tendência herdada de resposta intensa a estímulos de recompensa social e manutenção do comportamento recompensado previamente. Por fim, a dimensão de P, previamente considerada como uma parte integrante de RD, demonstra a tendência hereditária na manutenção de comportamento e sentimentalidade apesar da frustração, fadiga e reforço intermitente.

O modelo de Cloninger vem sendo estudado em diversos transtornos psiquiátricos, incluindo o TDAH, o TC, TUS, crises de ingestão alimentar, compulsão sexual, depressão e ansiedade^{26; 38}. Foi sugerido também que a correlação das dimensões de personalidade com diferentes transtornos possa refletir, ao menos em parte, influências genéticas em comum^{39; 40}.

Amostras clínicas de TDAH, repetidamente apresentam altos escores de NS e HA^{41; 42} 43; 44; 45; 46; 47, além de baixos escores na dimensão de P^{48; 49}, resultados em relação à RD são bem menos consistentes^{50; 51}. É possível que essas diferenças no temperamento possam ainda estar contribuindo para a variabilidade clínica do TDAH^{38; 41}. Além disso, o estudo de gêmeos conduzido por Merwood et al⁵² encontrou correlações genéticas positivas entre os sintomas de desatenção e NS e HA e entre os sintomas de hiperatividade-impulsividade e NS, indicando assim que os sintomas de TDAH compartilham uma base etiológica em comum com essas dimensões de temperamento.

1.3 Estudos Moleculares

Devido ao grande componente genético implicado na etiologia dos transtornos psiquiátricos, vários estudos foram e continuam sendo desenvolvidos com o intuito de identificar genes associados a estes. No caso do TDAH, a maioria dos estudos envolve genes

relacionados aos sistemas de neurotransmissão, já que há grande possibilidade destes estarem envolvidos na fisiopatologia do transtorno⁵³, dentre esses, destacam-se genes componentes do sistemas dopaminérgico⁵³. De fato, dentre os genes candidatos apoiados por resultados de meta-análises, encontram-se aqueles relacionados ao sistema dopaminérgico, mais especificamente os genes que codificam os receptores de dopamina dos tipos D4 e D5 além do seu transportador DAT⁵⁴. Por outro lado, até o momento, os estudos de associação por varreduras genômicas (GWAS, do inglês *Genome Wide Association Studies*) ainda não foram capazes de identificar polimorfismos significativamente associados ao TDAH⁵⁵.

Assim como no TDAH, estudos moleculares relacionados às características de personalidade vêm mostrando resultados conflitantes. Desde que Ebstein et al⁵⁶ publicaram o primeiro achado relacionando polimorfismos no *DRD4* com escores elevados de NS em uma amostra de alcoolistas, diversos autores dedicaram-se à desvendar as bases genéticas das dimensões de personalidade, porém meta-análises desses resultados não corroboram as associações encontradas^{57; 58; 59}. Recentemente estudos de varredura genômica também buscaram elucidar variantes genéticas envolvidas com as características de personalidade, porém assim como as meta-análises seus resultados foram inconclusivos^{60; 61}.

Os receptores de dopamina são capazes de regular diversas atividades no sistema nervoso central através de moléculas sinalizadoras, dentre essas atividades destacam-se reforço positivo ou recompensa, cognição e controle metabólico, sendo que a dopamina é o neurotransmissor que atua na regulação de atenção e nas sensações de prazer¹⁵. Assim, o sistema dopaminérgico é apontado como tendo papel central no desenvolvimento de transtornos psiquiátricos comuns, incluindo o TDAH e o TUS (revisão em Tripp e Wickens⁶²). É possível que estes genes ou outros genes relacionados ao sistema dopaminérgico estejam, na verdade, associados à endofenótipos ou características comuns a estes transtornos, como os escores de personalidade

Desta forma, focaremos mais especificamente nos genes que codificam os receptores de dopamina dos tipos D2 (*DRD2*) e D4 (*DRD4*) (revisão em Purper-Ouakil et al⁵⁴) os quais estão entre os mais investigados na psiquiatria como um todo e recebem um destaque especial nos estudos relacionados aos transtornos externalizantes.

1.3.1 O Receptor de Dopamina D2

Esse receptor de dopamina é amplamente expresso no cérebro como um todo, sendo encontrado preferencialmente em neurônios GABAérgicos e interneurônios colinérgicos no estriado e núcleo accumbens, onde sua principal função é inibir a adenilato ciclase e canais de Ca e ativar canais de K⁶³. O gene *DRD2* que codifica o receptor de dopamina do tipo D2 localiza-se na região cromossômica 11q23. Através do mecanismo de *splicing* alternativo, o gene *DRD2* codifica duas isoformas proteicas que diferem na presença de 29 aminoácidos, função e localização preferencial: a isoforma curta D2S preferencialmente pré-sináptica, onde age como um autorreceptor, enquanto a isoforma longa D2L é tipicamente pós-sináptica⁶⁴.

Polimorfismo do gene *DRD2* já foram associados a diferentes transtornos psiquiátricos. De fato, Blum et al⁶⁵ relataram a primeira descoberta de uma associação de genes relacionados à neurotransmissão e uma condição psiquiátrica, a dependência de álcool. O polimorfismo analisado então foi o rs1800497, também conhecido como Taq1A. Este SNP está realmente localizado em um gene vizinho chamado *ANKK1*, mas acredita-se estar em forte desequilíbrio de ligação com variantes do *DRD2* e, portanto, permanece considerado como um marcador de *DRD2*. Muitos outros estudos tem abordado essa associação com a dependência de álcool e até agora quatro meta-análises apoiam a sua associação^{66; 67; 68; 69}. Polimorfismos do *DRD2* também têm sido associados a fenótipos relacionados a outras drogas de abuso^{70; 71; 72}.

A presença de um SNP (polimorfismo de único nucleotídeo) funcional localizado na região intrônica do gene *DRD2*, rs2283265, altera a expressão das duas isoformas D2S e D2L ao interferir no processo de *splicing* alternativo⁷³. O alelo menos frequente desse polimorfismo, alelo T, aumenta a razão de expressão da isoforma D2L em relação a D2S ao favorecer a inclusão do 6º éxon durante o evento de *splicing*. Esse alelo foi associado com uma pior resposta em testes que avaliaram memória de trabalho e controle da atenção⁷³, além de ter sido associado também com overdose de cocaína⁷⁴. É interessante notar que, recentemente, Ford⁷⁵ mostrou que a redução na disponibilidade de D2S leva a uma maior sensibilidade ao álcool e cocaína, mas da mesma forma a falta de D2L também aumentou o consumo de álcool e cocaína. Estes resultados implicam que tanto as isoformas pré e pós-sinápticas do receptor D2, cuja taxa de expressão está diretamente relacionada com o rs2283265, podem estar envolvidos no desenvolvimento e/ou susceptibilidade ao TUS.

Meta-análises de associação do *DRD2* com TDAH tem relatado resultados conflitantes, e o papel deste gene na susceptibilidade ao transtorno permanece inconclusivo^{76;} ⁷⁷. Além disso, já foi demonstrado que vários polimorfismos do *DRD2* afetam também características de personalidade em tanto em amostras de abusadores de substâncias^{33; 35} como amostras da população adulta em geral^{30; 32; 34}.

1.3.2 O Receptor de Dopamina D4

O gene que codifica o receptor de dopamina do tipo D4 (*DRD4*) encontra-se na região 11p.15 e os receptores codificados apresentam-se nas formas pré-sináptica e pós-sináptica, sendo preferencialmente expressos no córtex pré-frontal e no estriado, locais onde podem estar co-localizados com os receptores de dopamina D2⁷⁸. Apesar de altamente polimórfico, o gene do *DRD4*, possui um polimorfismo do tipo número variável de repetições em tandem (VNTR) de 48 pb localizado no 3º éxon⁷⁹ que concentra grande parte dos estudos relacionados a esse gene. O número de repetições desse VNTR pode variar de 2 a 11, sendo os alelos de 4, 7 e 2 repetições os que apresentam maior frequência na população, respectivamente. Esse polimorfismo está localizado na região que codifica a terceira alça citoplasmática do receptor. Esta mesma região está envolvida no acoplamento e inibição de proteínas G, que culmina na inibição das cascatas de sinalização do neurônio⁸⁰. Ashgari et al⁷⁹ observam que as variantes proteicas do receptor D4 provenientes de cada alelo apresentavam funcionalidade distintas. Foi observado que o alelo de 4 repetições (*DRD4* 4R), considerado normal, teria a maior capacidade de ligação a dopamina, o alelo *DRD4* 2R seria intermediário e que o alelo *DRD4* 7R teria funcionalidade de duas a três vezes menor do que a do alelo *DRD4* 4R.

O alelo *DRD4* 7R foi repetidamente considerado como o alelo de "risco" em estudos genéticos psiquiátricos, uma vez que a sua isoforma correspondente cria uma inibição menos eficaz das proteínas G e sua sinalização, quando comparado com as isoformas não-7R⁷⁹. De fato, o alelo *DRD4* 7R tem sido implicado na susceptibilidade ao TDAH, com quatro meta-análises corroborando esta associação^{76; 81; 82; 83}. Além disso, em relação aos estudos sobre temperamento, vários grupos tem encontrado associação entre o *DRD4* 7R e maiores escores de NS^{30; 31; 36; 56; 84; 85}, enquanto outros não conseguiram reproduzir estes resultados^{32; 45; 86; 87; 88; 89}. Estudos meta-analíticos até agora não suportam tal associação, embora alguns desses

estudos tem indicado que a falta de significância possa ser devido à alta heterogeneidade entre os estudos^{57; 58; 59}.

1.3.3 Interação *DRD2/DRD4*

Recentemente as interações gene-gene entre *DRD2* e *DRD4* vem ganhando maior interesse e destaque na literatura. A partir de experimentos *in vivo* e *in vitro*, foi demonstrado que os receptores de dopamina D2 e D4 podem formar heterômeros, os quais apresentam efeitos sinérgicos^{90; 91}. Receptores heterômeros são expressos a fim de regular processos fisiológicos no tecido em que se encontram⁹². Esses receptores são formados por complexos macromoleculares compostos por duas ou mais moléculas funcionais com propriedades diferentes do que aquelas dos seus componentes individuais⁹². Além disso, Borroto-Escuela et al⁹⁰ e Gonzalez et al⁹¹ revelam que o processo de heteromerização é influenciado pelas diferentes combinações das isoformas de D2 e D4. A formação de receptores heterômeros de D2L é menos eficiente quando a variante de D4 presente é D4-7R⁹⁰, ainda González et al⁹¹ observaram que não havia formação heterômeros formados por D2S e D4-7R, somente com as variantes D4-2R e D4-4R. A avaliação de funcionalidade demonstrou que os heterômeros demonstravam reforço alostérico a partir da interação dos dois receptores (Figura 1).

Com base neste novo conjunto de evidências, Mota et al^{93; 94} avaliaram o papel da interação entre os polimorfismos dos genes *DRD2* (rs2283265) e *DRD4* (48-pb VNTR), os quais estão diretamente relacionados às isoformas analisadas nos estudos bioquímicos, na susceptibilidade à transtornos externalizantes. Os autores observaram efeito epistático significativo da interação *DRD2/DRD4* na susceptibilidade ao alcoolismo em duas amostras independentes de homens adultos (indivíduos com e sem TDAH)⁹³. Além disso, em um segundo estudo, Mota et al⁹⁴ mostram que a interação *DRD2/DRD4* está também associada ao desenvolvimento do TC em crianças/adolescentes com TDAH (Mota et al, 2013b), sugerindo mecanismo potencial que ligaria o TC na infância com o subsequente desenvolvimento de TUS na vida adulta. No entanto, apesar da interação *DRD2/DRD4* ter sido associada a transtornos externalizantes em três amostras independentes, não foi observada uma associação direta desta com a susceptibilidade ao TDAH⁹³.

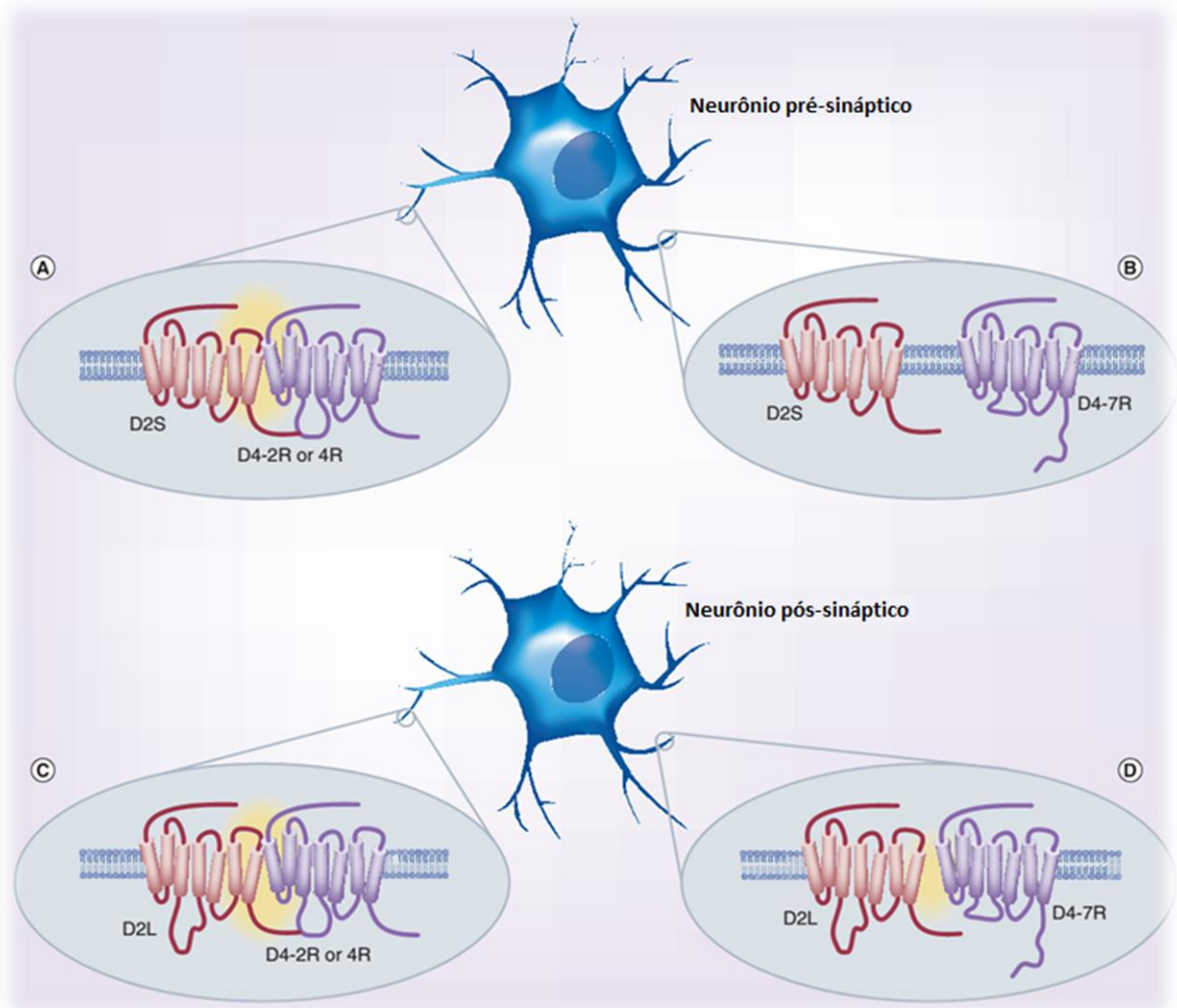


Figura 1: Diferentes padrões de heteromerização dos receptores de dopamina D2 e D4 de acordo com a isoforma presente. A variante curta pré-sináptica do D2 (D2S) é capaz de formar heterômeros com D4-2R e D4-4R (A), mas não com a variante D4-7R (B). Por outro lado, a variante pós-sináptica (D2L) é capaz de heteromerizar com as três variantes (D4-2R, D4-4R e D4-7R), no entanto, este processo parece ser mais eficaz com os D4-2R e D4-4R (C) do que com a isoforma D4-7R (D).

2 Objetivos

Objetivo Geral: verificar o papel de genes dopaminérgicos na modulação do temperamento em adultos com TDAH, o que poderia indicar uma possível via pela qual esses genes influenciam na manifestação de diferentes transtornos psiquiátricos.

Objetivos Específicos

1. Verificar a associação do polimorfismo rs2283265 do *DRD2* com as diferentes dimensões de temperamento
2. Verificar a associação do polimorfismo VNTR do *DRD4* com as diferentes dimensões de temperamento
3. Verificar se a já descrita interação *DRD2/DRD4* possa ser estar influenciando na susceptibilidade a transtornos externalizantes através das dimensões de temperamento

3 Artigo Científico

Manuscrito a ser submetido na revista: Genes, Brain and Behavior

***DRD2* AND *DRD4* GENES MODULATE DIFFERENT TEMPERAMENT TRAITS IN
ADULTS WITH ADHD**

D. B. Kappel¹, D. L. Rovaris¹, R. B. Cupertino¹, V. Contini³, G. P. Bertuzzi¹, F. Z. C. Marques¹, E. S. Vitola², R. G. Karam², C. A. I. Salgado², C. H. D. Bau¹ and N. R. Mota^{1*}

¹ Department of Genetics, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

² ProDAH - ADHD Outpatient Programme Adult Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

³ Postgraduate Program in Biotechnology, Centro Universitário UNIVATES, Brazil

*Corresponding Author

Nina Roth Mota, PhD

Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

Departamento de Genética, Instituto de Biociências,

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil.

Caixa Postal: 15053.

Email: ninarothmota@gmail.com.

Telephone: (5551) 3308-6718; Fax: (5551) 3308-7311.

Abstract

Temperament traits are substantially heritable and thus influenced by genetic variants and their interactions with other variants and the environment. Dopamine neurotransmitter systems have been associated with temperament traits; the genes encoding dopamine D2 receptor (*DRD2*) and dopamine D4 receptor (*DRD4*) are among the most studied genes in psychiatric genetics, with controversial results as to their roles in Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and temperament dimensions. Therefore, this study aimed to determine whether functional variants of dopaminergic genes *DRD2* (rs2283265) and *DRD4* (exon III VNTR), as well as their interaction are exerting a modulatory role on temperament characteristics in adults with ADHD, which could indicate a possible mechanism by which these dopaminergic genes influence the expression of different psychiatric disorders. Temperament traits scores were obtained from a sample of 535 Brazilian adults with ADHD who answered the Temperament and Character Inventory. ANOVA results suggest that the T allele of *DRD2* rs2283265 is associated with higher scores of Harm Avoidance ($P=0.004$) and lower scores of Persistence ($P=0.001$), also an association of the *DRD4* 7R variant with higher Novelty Seeking scores ($P=0.030$) was found. No interaction effect between these genes was seen in any of the temperament traits evaluated. These results are in agreement with previous reports involving genes of the dopaminergic system in the modulation of temperament. Moreover, it is possible that these findings, analyzed together with the current knowledge on the relationships between temperament and psychiatric disorders, may actually be reflecting the effect of these genes on the specific profiles of personality and temperament, which are also associated with various behaviors and psychiatric conditions related to *DRD2* and *DRD4*.

Introduction

Temperament is characterized as the individual's typical emotional and behavioral response, it is manifested early in life, keeping at least moderate stability across lifetime and is influenced by genetic factors (Cloninger, 1987). The Psychobiological Model of Personality proposes four temperament dimensions - Novelty Seeking (NS), Harm Avoidance (HA), Reward Dependence (RD) and Persistence (P) - which reflect individuals' behavioral variability in response to stimuli (Cloninger et al., 1993). Although these personality traits present heritability estimates between 30-60%, genome-wide association studies have not been able to identify association with specific genetic factors (Verweij et al., 2010; Service et al., 2012).

The dopaminergic system is one of the most studied neurotransmitter systems in personality. Many studies have evaluated the role of dopaminergic genes on different temperament and other personality characteristics, with reports mostly centered on *DRD2* and *DRD4* genes (Ebstein et al., 1996; Noble et al., 1998; Lee et al., 2003; Nyman et al., 2009).

The *DRD2* gene, located on Chr11q.23 region, encodes the Dopamine D2 Receptor (D2). This is the most widely expressed dopamine receptor in the brain, being expressed and highly active in striatum area, where it affects learning and conditioning (Graybiel, 2005; Huertas et al., 2010). *DRD2* encodes two protein isoforms through alternative splicing. The shorter isoform (D2S) is encountered mainly in the presynaptic region, where it acts as an auto receptor, and the longer isoform (D2L) is mainly expressed in the postsynaptic region (Usiello et al., 2000). The *DRD2* rs2283265 SNP is a functional polymorphism that alters the expression ratio between the two isoforms in favor of D2L. This SNP less frequent allele (T allele) was associated with significant reduced performance on working memory and attention control tests (Zhang et al., 2007). This same allele was also associated with cocaine overdose (Moyer et al., 2011). Moreover, several *DRD2* polymorphisms have been shown to affect personality traits in general population samples (Noble et al., 1998; Nyman et al., 2009; Kazantseva et al., 2011) as well as in samples of substance dependents (Teh et al., 2012; Wang et al., 2013).

Another important dopaminergic gene is the *DRD4*, mapped to the Chr11p.15 region, which encodes the Dopamine D4 Receptor (D4). The most studied *DRD4* polymorphism is a 48bp variable number of tandem repeats (VNTR) localized on its third exon, the region

encoding the third cytoplasmic loop of the receptor. This same region is involved in coupling and inhibiting G proteins, which culminates in inhibition of the inward signaling cascades in the neuron (Rondou et al., 2010). The most common alleles for this polymorphism are the 2, 4 and 7 repeat alleles (2R, 4R and 7R, respectively), which have been shown to implicate in differences in protein shape and function (Asghari et al., 1995). The *DRD4* 7R allele has been considered as the “risk” allele on most psychiatric genetic studies, since its correspondent isoform creates a less effective inhibition of the G proteins and their signaling when compared to shorter D4 isoforms (Asghari et al., 1995). Several studies have found association between the *DRD4* 7R allele and higher NS scores (Ebstein et al., 1996; Noble et al., 1998; Strobel et al., 1999; Benjamin et al., 2000; Lee et al., 2003; Becker et al., 2005), while others have failed to replicate these findings (Vandenbergh et al., 1997; De Brettes et al., 1998; Swift et al., 2000; Frank et al., 2004; Nyman et al., 2009; Müller et al., 2010). Meta-analytic studies so far do not support such association, although some of these meta-analyses have indicated that the lack of significance would be due to high heterogeneity between studies (Kluger et al., 2002; Schinka et al., 2002; Munafo et al., 2008).

Both *DRD2* and *DRD4* genes have been implicated in Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) susceptibility. ADHD is characterized by clinically important impairment due to inattention and/or hyperactivity and impulsivity symptoms and is one of the most common psychiatric disorders in children (APA, 1994). Two meta-analyses of *DRD2* association with ADHD have reported conflicting results, and its role on ADHD susceptibility remains inconclusive (Gizer et al., 2009; Wu et al., 2012). The *DRD4* 7R allele has been implicated in ADHD susceptibility, with four meta-analyses corroborating this association (Faraone et al., 2001; Li et al., 2006; Gizer et al., 2009; Smith, 2010). Studies have repeatedly shown that adults with ADHD present higher NS and HA scores than adults without ADHD (Downey et al., 1997; Anckarsater et al., 2006; Sizoo et al., 2009; Müller et al., 2010; Jacob et al., 2014). Fewer studies have also reported association of ADHD with lower P scores (Rettew et al., 2004; Faraone et al., 2009; Cho et al., 2009; Purper-Ouakil et al., 2010) and positive results regarding RD scores and ADHD are scarce (Jacob et al., 2007; Cho et al., 2008). Additionally, it has been shown that these differences in temperament may be specific to the different ADHD dimensions (Salgado et al., 2009; Gomez et al., 2012).

Analyzing phenotypic correlation data from twin-pairs, Young et al. (2000) have shown a significant association and genetic covariation between NS and ADHD, Conduct

Disorder and Substance Use behaviors. Indeed, a more recent review by Arcos-Burgos et al. (2012) suggests that the development of these externalizing phenotypes share psychological, pathophysiological and genetic predisposition mechanisms.

Some authors have previously suggested that *DRD2* and *DRD4* genes could interact and that such gene-gene interaction might be influencing phenotypes related to externalizing behavior, such as impulsivity (Eisenberg et al., 2007) and Conduct Disorder in male adolescents and antisocial behavior in adult men (Beaver et al., 2007). Recent experimental studies have shown that D2 and D4 receptors are able to form heteromers and that this heteromerization process is influenced by the involvement of different D2 and D4 isoforms (Borroto-Escuela et al., 2011; Gonzalez et al., 2012). Following such evidences, our group showed a *DRD2/DRD4* epistatic effect between genetic variants that likely reflect differences in such heteromerization pattern. This interaction was associated with alcohol dependence susceptibility in two independent samples of adult men, with and without ADHD (Mota et al., 2013b). In a subsequent study an epistatic effect of this same interaction was observed on susceptibility to Conduct Disorder in a large sample of children with ADHD (Mota et al., 2013a).

The present study investigates the effect of *DRD2* and *DRD4* variants, as well as their interaction, on temperament dimensions in adults with ADHD. Our goal is to contribute to the current knowledge regarding the role of these dopaminergic genes in modulating personality in ADHD patients and ultimately indicate a possible mechanism by which they influence the development of different psychiatric disorders.

Methods

Our sample was composed of 535 individuals with ADHD recruited from an outpatient program at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) from 2003 to 2013. All individuals included in this study are white native Brazilians (i.e., of primarily European descent), aged 18 years or older, which have fulfilled clinical diagnosis of ADHD according to DSM-IV criteria, both currently and during childhood (retrospectively). Individuals were excluded if they presented clinically significant neurological disease history (e.g. e.g., delirium, dementia, epilepsy, head trauma, multiple sclerosis) past or present symptoms of psychosis and/or an estimated IQ < 70. All participants signed an informed consent form approved by the Ethics Committee of HCPA.

Diagnostic procedures for ADHD and comorbid disorders followed DSM-IV criteria and were carried out by trained psychiatrists and psychologists through semi structured interviews with the following instruments: (i) Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children–Epidemiologic version (K-SADS-E) for assessing ADHD and Oppositional Defiant Disorder; (ii) Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID-IV-R) for assessing Axis I psychiatric disorders; and (iii) Mini-International Psychiatric Interview for the diagnoses of Conduct Disorder and Anti-Social Personality Disorder. K-SADS-E protocols were adapted to better suit the adult life context. A comprehensive protocol was also applied in order to assess sociodemographical data and medical history.

The Temperament and Character Inventory (TCI) was used to assess temperament dimensions scores (Cloninger et al., 1993). It is an instrument created to evaluate Cloninger's personality theory (Cloninger et al., 1993) and differential TCI profiles have been associated to many psychiatric disorders (Cloninger, 2006). TCI employs a list of 240 sentences to be read and rated as true/false. This scale is subdivided in 4 temperament dimensions (NS, HA, RD and P) and 3 other character dimensions (Self-directedness, Cooperativeness, and Self-transcendence). For the purpose of this study, only the four temperament dimensions were analyzed since they are considered to be more stable throughout lifetime and have a higher estimated heritability (Cloninger et al., 1993; Keller et al., 2005).

DNA extraction was performed from peripheral blood by the salting out method (Lahiri & Nurnemberger, 1991). The studied genetic polymorphisms are the same as in Mota et al (2013a; 2013b), which were chosen based on the premise that they indirectly (*DRD2*) or directly (*DRD4*) reflect the protein variants used to evaluate heteromerization process in previous experimental studies (Borroto-Escuela et al., 2011; Gonzalez et al., 2012). *DRD2* rs2283265 SNP was genotyped by Taqman allelic discrimination assay (Applied Biosystems) and genotypes were obtained for 503 individuals (94% of total sample). Polymerase chain reaction (PCR) amplification of the *DRD4* VNTR polymorphism was performed using primers and conditions described by Roman et al. (1999), followed by agarose gel electrophoresis for genotyping. Subjects were classified according to the presence of the *DRD2* and *DRD4* risk alleles (T and 7R, respectively) and when the presence of *DRD4* rare alleles (non 2R, 4R or 7R) was detected, subjects were excluded from the analyses involving *DRD4* genotype because so far there is no information regarding rare allele's

heteromerization pattern. After excluding subjects with rare *DRD4* alleles, 464 individuals were included in the *DRD4* analyses.

Analyses of Variance (ANOVA) were used to compare mean temperament scores in each genotype group. General Linear Models were used to assess possible gene-gene interactions affecting temperament scores. Analyses of Covariance (ANCOVA) were performed to compare the different mean temperament scores to each genotype when covariates were included. Variables that were associated at a level of $p < 0.1$ with both outcome and genotype were considered as covariates. Analyses were also performed excluding subjects with Alcohol Abuse/Dependence in order to avoid a false positive result. All analyses were performed with SPSS statistical software (version 21, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) and significance level was established at $p < 0.05$.

Results

Sample characteristics such as sex, mean age and temperament scores and *DRD2* (rs2283265) and *DRD4* (48bp VNTR) allelic frequencies are shown in Table 1. The major comorbidities from this sample of adults with ADHD were smoking (42.7%), Major Depressive Disorder (36.5%), Generalized Anxiety Disorder (20.6%), Conduct Disorder (18.5%), Alcohol Abuse/Dependence (15.3%) and Anti-Social Personality Disorder (6.8%).

Association results are displayed in Table 2. As depicted in Figure 1, individuals who carried the *DRD2* T allele (T+) had significantly higher HA and lower P scores than individuals without this allele (i.e. GG homozygotes). Moreover, *DRD4* 7R carriers (7R+) presented higher NS scores than 7R non-carriers (i.e. 2R/2R, 4R/4R and 2R/4R) (Figure 1). Analyses were performed both with and without adjusting for possible covariates effects. The inclusion of such covariates did not result in major changes in the *DRD2* main results as i) it remained associated with HA ($P_{adj}=0.006$) when controlling for sex and Major Depressive Disorder diagnosis; ii) there was still no significant association to NS ($P_{adj}=0.361$) and RD ($P_{adj}=0.354$) traits. According to the adopted criteria, there were no covariates to be included in the *DRD2* analyses of P scores neither on any *DRD4* analyses.

Similarly, results did not differ significantly when excluding subjects with Alcohol Abuse/Dependence. Additionally, results from the interaction analyses revealed no significant epistatic effects on any temperament measures (NS: $P=0.277$; HA: $P=0.811$; RD: $P=0.527$; P: $P=0.396$).

Discussion

We report a significant association between the presence of the T allele of the functional polymorphism *DRD2* rs2283265 with higher HA scores and lower P scores in adults with ADHD. We also show an association between the *DRD4* allele with high NS temperament trait scores. These results reinforce the role of the dopaminergic system in the modulation of temperament dimensions. Additionally, although there is robust evidence that *DRD4* 7R allele is associated with ADHD, and that subjects with ADHD present higher NS scores, to the best of our knowledge this is the first time that such *DRD4* allele is shown to be associated with higher NS scores in a sample of adults with ADHD.

***DRD2* and Harm Avoidance (and Persistence): an internalizing pull?**

Although extensively associated to Alcohol Dependence and externalizing behaviors since 1990 (Blum et al., 1990; Comings et al., 1991; Noble et al., 1993), *DRD2* polymorphisms have also been shown to influence internalizing phenotypes (Lawford et al., 2006; Hayden et al., 2010). Elevated HA scores have been reported in patients of diverse psychiatric disorders, including alcoholism (Cloninger et al., 1996), ADHD (Faraone et al., 2009), Major Depressive and Bipolar disorders (Miettunen and Raevuori, 2012).

One possible mechanism by which *DRD2* gene could be affecting internalizing behaviors and avoidant related traits is through the effect of D2 on striatum. Striatum is classically known as the brain region responsible for modulating locomotor behavior as well as reward cascades. In this region, D2 is mainly expressed in neurons that act in the indirect striatal pathway, which is responsible for inhibiting locomotor behavior and mediating punishment and learning related to aversive stimuli (Hikida et al., 2010; Kravitz and Kreitzer, 2012). It is possible that such pathway may also play a key role in HA dimension, a closely related trait (Cloninger, 1987), and, consequently, variation on *DRD2* expression levels may affect HA temperament modulation.

In this context, the evidence mentioned above support the observed association between the *DRD2* rs2283265 functional polymorphism and HA dimension. This SNP affects the D2S/D2L isoforms expression rates, with the minor T allele favoring the expression of the postsynaptic D2L in detriment of the presynaptic D2S autoreceptor (Zhang et al., 2007). Reduced D2S autoreceptor levels have been shown to lead to higher pre-synaptic dopamine release and a greater activation of striatum neurons and their cascades (Laakso et al 2005).

Increased dopamine availability in the striatum has been extensively reported in various psychiatric disorders, such as ADHD (Ernst et al., 1999), Schizophrenia (Dao-Castellana et al., 1997), psychosis (Egerton et al., 2013) and Substance Use Disorders, (Tiihonen et al., 1998; Salokangas et al., 2000; Tai et al., 2011). Moreover, it has been shown that individuals with these psychiatric disorders present elevated HA scores (Sizoo et al., 2009; Müller et al., 2010; Etter, 2010; Miettunen and Raevuori, 2012). Therefore, the abnormal dopamine signaling caused by the presence of *DRD2* rs2283265 T allele might reflect one possible mechanism by which *DRD2* could be influencing internalizing behavior and personality characteristics, as seen here.

Overall, the observed association between *DRD2* and HA temperament is well supported by previous studies and one possible mechanism by which D2 could affect such personality trait could even be suggested, as depicted above. Its effect on P, however, is much less clear. Although the genetic association of *DRD2* rs2283265 SNP and P scores seems to be fairly robust ($P=0.001$), it is yet to be investigated whether the underlying physiological mechanism and pathways involved are unique or the same as for HA trait.

DRD4 and Novelty Seeking: an externalizing push?

The association between *DRD4* 7R allele and higher NS scores in a sample of adults with ADHD may contribute to the understanding of the high heterogeneity observed in previous personality meta-analyses (Kluger et al., 2002; Schinka et al., 2002; Munafò et al., 2008) since the presence of psychiatric disorders such as ADHD might modulate the *DRD4* effect on personality (i.e. association could be dependent on the psychiatric profile of the sample). In this sense, this finding may provide clues to better understand the genetic heterogeneity of temperament as well as of ADHD itself.

The neurobiological mechanism underlying the association of *DRD4* 7R to either NS or ADHD has not been fully elucidated, but it appears to be related to a differential function between the D4 isoforms. The presence of the *DRD4* 7R allele leads to impaired post-synaptic neuron inhibition, since its isoform of the D4 protein is less capable to inhibit signaling cascades, leading to higher glutamate activation of the next neurons (Asghari et al., 1995; Rubinstein et al., 2001; Gonzalez et al., 2012; Thomas et al., 2008). Studies with knockout *DRD4* mice revealed that D4 modulates cortical excitability by playing an inhibitory role and that the absence of D4 leads to higher glutamate activity (Rubinstein et al., 2001), especially

in the striatum area (Thomas et al., 2008). Interestingly, patients with ADHD also present increased levels of glutamate in the striatum (Carrey et al., 2007). Therefore, it is possible that the deficient D4-dependent glutamatergic inhibition caused by the *DRD4* 7R allele is modulating NS and related behaviors, and is also playing a role in ADHD susceptibility.

Additionally, it is possible that the presence of the *DRD4* 7R allele is not only playing a role in modulating NS, but has a more general scope being evolutionary selected to predispose to externalizing and exploratory behaviors. Wang et al. (2004) showed that the *DRD4* 7R allele was subjected to strong positive selection during the last major out-of-Africa exodus. The presence of this allele appears to have contributed to human migration in the past, since 7R carriers were risk-takers, more efficient on problem solving and responded better and less emotionally in face of adversity (Wang et al., 2004). In this study, the authors suggested that the same variant responsible for an evolutionary adaptation might now, combined with other risk variants, be influencing on traits that could be classified as detrimental (e.g. ADHD).

In this context, the association of the *DRD4* 7R allele and higher NS scores in individuals with ADHD shown here, together with its evolutionary history and previous evidence of association to a more liberal thinking and having more friendships (Settle et al., 2010), a more promiscuous sexual behavior (Ben Zion et al., 2006; Garcia et al., 2010) and even longevity in humans (Grady et al., 2013) seem to corroborate *DRD4* 7R association with exploratory behaviors in general.

DRD2 and *DRD4* interaction – could it affect temperament traits?

This study did not find a direct association of *DRD2/DRD4* gene-gene interaction on any of the specific temperament dimensions evaluated. However, the main effects found on *DRD2* and *DRD4* genes may modulate overall personality characteristics, which in turn may have an influence on the susceptibility and development of psychiatric disorders in general. Previous studies indicated that the interaction between the evaluated *DRD2* and *DRD4* polymorphism affects the susceptibility to Alcohol Dependence and Conduct Disorder, with the concomitant presence of the risk alleles (T and 7R) having a protective effect (Mota et al., 2013a; 2013b). Since these disorders (especially alcoholism) have both externalizing (Zernicke et al., 2010; Weiland et al., 2014) and internalizing characteristics (Hussong et al., 2011; Kushner et al., 2012), one possible interpretation could be that either *DRD2* and high

HA (via an internalizing pathway) or *DRD4* and high NS (through an externalizing pathway) may be underlying the increased risk of developing psychiatric disorders. However, when both risk alleles are present the externalizing and internalizing traits are counterbalanced, promoting a personality profile with a protective effect regarding these disorders.

Limitations

Statistical power is usually a limitation in genetic association studies. This study has not reported any gene-gene interactions and although our sample is one of the largest samples of adults with ADHD, the expected effect size for these interactions is small, thus it is still premature to completely rule out this association. Despite this study not having a case-control design, population stratification is always an issue to be considered in genetic association studies as well. However, population stratification was considered unlikely since it has been shown that the southern Brazilian population of European descent presents predominantly European ancestry (94%) and there is no apparent population structure in this group (Zembruski et al, 2006; Santos et al, 2010).

Conclusion

In conclusion, this study reports associations between *DRD2* rs2283265 T allele with higher HA and lower P scores, and of *DRD4* 7R allele and higher NS scores. No interaction effect between these genes was found but their main effects might be modulating Alcohol Dependence through overall personality characteristics. Neurobiological underpinnings are discussed. Moreover, the findings reported here, together with the current state-of-the art on the relationships between temperament and psychiatric disorders, suggest that changes in HA and NS possibly influenced by polymorphisms in *DRD2* and *DRD4*, might be involved in pathways to various disorders.

Table 1: Temperament characteristics and *DRD2* and *DRD4* information of a sample of adults with ADHD (total N=535)

		N (%)
Sex	Male	287 (53.6)
	Female	248 (46.4)
<i>DRD2</i> rs2283265 SNP	GG	366 (72.8)
	T+	137 (27.2)
<i>DRD4</i> 48bp VNTR	2R/4R	266 (57.3)
	7R+	198 (42.7)
		Mean (S.E.)
Age (years)		33.86 (0.47)
Novelty Seeking		24.27 (0.27)
Harm Avoidance		20.06 (0.30)
Reward Dependence		14.74 (0.17)
Persistence		4.20 (0.83)

Both *DRD2* rs2283265 SNP and *DRD4* 48bp VNTR genotypes were not obtained for all individuals included in the sample. Thus, the full sample temperament scores were used in order to include subjects with either one or both polymorphisms genotyped in the analyses.

DRD2 T+ includes all T allele carriers, while GG represents the GG homozygotes. *DRD4* 7R+ includes all individuals with the *DRD4* 7R allele and 2R/4R includes 7R non-carriers (i.e. 2R/2R, 4R/4R and 2R/4R). Individuals with *DRD4* rare alleles (non 2R, 4R or 7R) were excluded.

Table 2: Mean scores for temperament dimensions in adults with ADHD according to *DRD2* (rs2283265) and *DRD4* (48bp VNTR) genotype.

	<i>DRD2</i> (N=503)				<i>DRD4</i> (N=464)		
	GG N=366	T+ N=137	P	P _{adj}	2R4R N=266	7R+ N=198	P
Novelty Seeking	24.21 (0.34)	24.61 (0.50)	0.522	0.361 ^a	23.72 (0.38)	25.00 (0.45)	0.030
Harm Avoidance	19.45 (0.37)	21.46 (0.55)	0.004	0.006^b	20.28 (0.43)	19.69 (0.52)	0.372
Reward Dependence	14.91 (0.21)	14.42 (0.34)	0.223	0.354 ^c	14.84 (0.26)	14.46 (0.28)	0.325
Persistence	4.360 (0.10)	3.75 (0.15)	0.001	–	4.12 (0.12)	4.33 (0.13)	0.234

Scores are represented by mean values and standard errors are in parentheses.

P values correspond to analyses not adjusted for any covariates.

P_{adj} correspond to analyses adjusted for ^a: Major Depressive Disorder, ^b: Sex and Major Depressive Disorder, and c: Sex.

For *DRD2* analyses of Persistence and all *DRD4* analyses there were no covariates to be included, as none of the tested variables were associated with both outcome and genotype at P<0.1

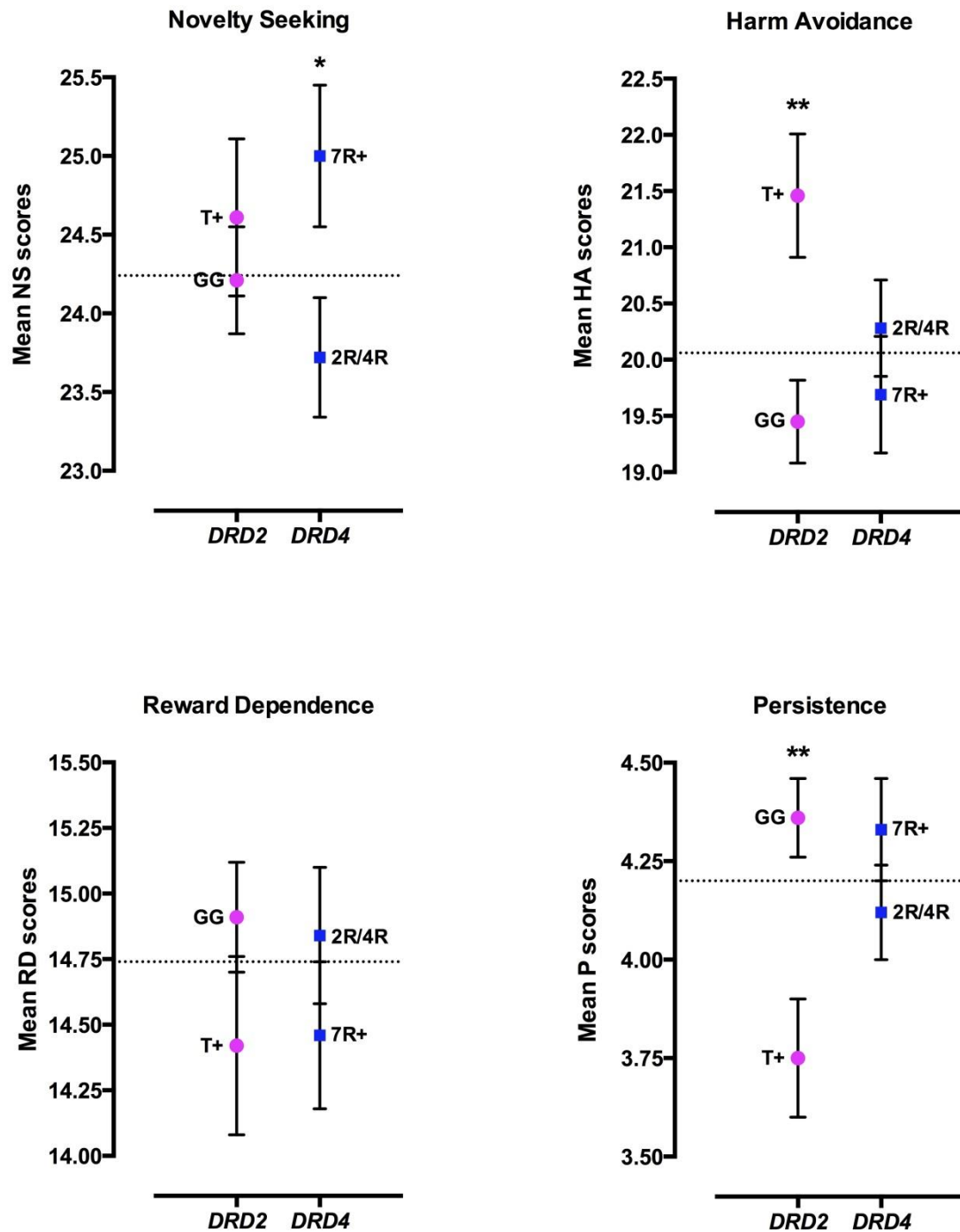


Figure 1: Mean temperament scores according to the *DRD2* rs2283265 SNP (pink circles) and *DRD4* 48bp VNTR (blue squares) genotype in adults with ADHD. Bars represent the 95% confidence intervals and the dotted line represents the mean score for each temperament dimension in the whole ADHD sample. *DRD2* T+ includes all T allele carriers, while GG represents the GG homozygotes. *DRD4* 7R+ includes all individuals with the *DRD4* 7R allele and 2R/4R includes 7R non-carriers (i.e. 2R/2R, 4R/4R and 2R/4R). Individuals with *DRD4* rare alleles (non 2R, 4R or 7R) were excluded.

* $P < 0.05$

** $P < 0.005$

References

- Anckarsater, H., Stahlberg, O., Larson, T., Hakansson, C., Jutblad, S. B., Niklasson, L., Nyden, A., Wentz, E., Westergren, S., Cloninger, C. R., Gillberg, C. & Rastam, M. 2006. The impact of ADHD and autism spectrum disorders on temperament, character, and personality development. *Am J Psychiatry*, **163**(7), pp 1239-44.
- Arcos-Burgos, M., Velez, J. I., Solomon, B. D. & Muenke, M. 2012. A common genetic network underlies substance use disorders and disruptive or externalizing disorders. *Hum Genet*, **131**(6), pp 917-29.
- Asghari, V., Sanyal, S., Buchwaldt, S., Paterson, A., Jovanovic, V. & Van Tol, H. H. 1995. Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. *J Neurochem*, **65**(3), pp 1157-65.
- Beaver, K. M., Wright, J. P., DeLisi, M., Walsh, A., Vaughn, M. G., Boisvert, D. & Vaske, J. 2007. A gene x gene interaction between DRD2 and DRD4 is associated with conduct disorder and antisocial behavior in males. *Behav Brain Funct*, **3**(30).
- Becker, K., Laucht, M., El-Faddagh, M. & Schmidt, M. H. 2005. The dopamine D4 receptor gene exon III polymorphism is associated with novelty seeking in 15-year-old males from a high-risk community sample. *J Neural Transm*, **112**(6), pp 847-58.
- Ben Zion, I. Z., Tessler, R., Cohen, L., Lerer, E., Raz, Y., Bachner-Melman, R., Gritsenko, I., Nemanov, L., Zohar, A. H., Belmaker, R. H., Benjamin, J. & Ebstein, R. P. 2006. Polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene (DRD4) contribute to individual differences in human sexual behavior: desire, arousal and sexual function. *Mol Psychiatry*, **11**(8), pp 782-6.
- Benjamin, J., Osher, Y., Kotler, M., Gritsenko, I., Nemanov, L., Belmaker, R. H. & Ebstein, R. P. 2000. Association between tridimensional personality questionnaire (TPQ) traits and three functional polymorphisms: dopamine receptor D4 (DRD4), serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) and catechol O-methyltransferase (COMT). *Mol Psychiatry*, **5**(1), pp 96-100.
- Blum, K., Noble, E. P., Sheridan, P. J., Montgomery, A., Ritchie, T., Jagadeeswaran, P., Nogami, H., Briggs, A. H. & Cohn, J. B. 1990. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA*, **263**(15), pp 2055-60.
- Borroto-Escuela, D. O., Van Craenenbroeck, K., Romero-Fernandez, W., Guidolin, D., Woods, A. S., Rivera, A., Haegeman, G., Agnati, L. F., Tarakanov, A. O. & Fuxe, K. 2011. Dopamine D2 and D4 receptor heteromerization and its allosteric receptor-receptor interactions. *Biochem Biophys Res Commun*, **404**(4), pp 928-34.

- Carrey, N. J., MacMaster, F. P., Gaudet, L. & Schmidt, M. H. 2007. Striatal creatine and glutamate/glutamine in attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Child Adol Psychop*, **17**(1), pp 11-17.
- Cho, S.-C., Kim, B.-N., Kim, J.-W., Rohde, L. A., Hwang, J.-W., Chungh, D.-S., Shin, M.-S., Lyoo, I. K., Go, B.-J. & Lee, S.-E. 2009. Full syndrome and subthreshold attention-deficit/hyperactivity disorder in a Korean community sample: comorbidity and temperament findings. *Eur Child Adolet Psy*, **18**(7), pp 447-457.
- Cho, S. C., Hwang, J. W., Lyoo, I. K., Yoo, H. J., Kin, B. N. & Kim, J. W. 2008. Patterns of temperament and character in a clinical sample of Korean children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*, **62**(2), pp 160-166.
- Cloninger, C. R. 1987. A systematic method for clinical description and classification of personality variants. A proposal. *Arch Gen Psychiatry*, **44**(6), pp 573-88.
- Cloninger, C. R. 2006. The science of well-being: an integrated approach to mental health and its disorders. *World Psychiatry*, **5**(2), pp 71.
- Cloninger, C. R., Sigvardsson, S. & Bohman, M. 1996. Type I and type II alcoholism: An update. *Alcohol Health Res W*, **20**(1), pp 18-23.
- Cloninger, C. R., Svrakic, D. M. & Przybeck, T. R. 1993. A psychobiological model of temperament and character. *Arch Gen Psychiatry*, **50**(12), pp 975-90.
- Comings, D. E., Comings, B. G., Muhleman, D., Dietz, G., Shahbahrani, B., Tast, D., Knell, E., Kocsis, P., Baumgarten, R., Kovacs, B. W. & et al. 1991. The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA*, **266**(13), pp 1793-800.
- Dao-Castellana, M. H., Paillere-Martinot, M. L., Hantraye, P., Attar-Levy, D., Remy, P., Crouzel, C., Artiges, E., Feline, A., Syrota, A. & Martinot, J. L. 1997. Presynaptic dopaminergic function in the striatum of schizophrenic patients. *Schizophr Res*, **23**(2), pp 167-74.
- De Brettes, B., Berlin, I., Laurent, C., Lépine, J., Mallet, J. & Puech, A. 1998. The dopamine D2 receptor gene T< i> aq</i> IA polymorphism is not associated with Novelty Seeking, Harm Avoidance and Reward Dependence in healthy subjects. *Eur Psychiatry*, **13**(8), pp 427-430.
- Downey, K. K., Stelson, F. W., Pomerleau, O. F. & Giordani, B. 1997. Adult attention deficit hyperactivity disorder: psychological test profiles in a clinical population. *J Nerv Ment Dis*, **185**(1), pp 32-8.
- Ebstein, R. P., Novick, O., Umansky, R., Priel, B., Osher, Y., Blaine, D., Bennett, E. R., Nemanov, L., Katz, M. & Belmaker, R. H. 1996. Dopamine D4 receptor (D4DR) exon

- III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. *Nat Genet*, **12**(1), pp 78-80.
- Egerton, A., Chaddock, C. A., Winton-Brown, T. T., Bloomfield, M. A., Bhattacharyya, S., Allen, P., McGuire, P. K. & Howes, O. D. 2013. Presynaptic striatal dopamine dysfunction in people at ultra-high risk for psychosis: findings in a second cohort. *Biol Psychiatry*, **74**(2), pp 106-12.
- Eisenberg, D. T., Mackillop, J., Modi, M., Beauchemin, J., Dang, D., Lisman, S. A., Lum, J. K. & Wilson, D. S. 2007. Examining impulsivity as an endophenotype using a behavioral approach: a DRD2 TaqI A and DRD4 48-bp VNTR association study. *Behav Brain Funct*, **3**(2).
- Ernst, M., Zametkin, A. J., Matochik, J. A., Pascualvaca, D., Jons, P. H. & Cohen, R. M. 1999. High midbrain [18F]DOPA accumulation in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry*, **156**(8), pp 1209-15.
- Etter, J. F. 2010. Smoking and Cloninger's Temperament and Character Inventory. *Nicotine Tob Res*, **12**(9), pp 919-26.
- Faraone, S., Kunwar, A., Adamson, J. & Biederman, J. 2009. Personality traits among ADHD adults: implications of late-onset and subthreshold diagnoses. *Psychol Med*, **39**(04), pp 685-693.
- Faraone, S. V., Doyle, A. E., Mick, E. & Biederman, J. 2001. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Psychiatry*, **158**(7), pp 1052-1057.
- Frank, Y., Pergolizzi, R. G. & Perilla, M. J. 2004. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatr Neur*, **31**(5), pp 345-348.
- Garcia, J. R., MacKillop, J., Aller, E. L., Merriwether, A. M., Wilson, D. S. & Lum, J. K. 2010. Associations between dopamine D4 receptor gene variation with both infidelity and sexual promiscuity. *PLoS One*, **5**(11), pp e14162.
- Gizer, I. R., Ficks, C. & Waldman, I. D. 2009. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet*, **126**(1), pp 51-90.
- Gomez, R., Woodworth, R., Waugh, M. & Corr, P. J. 2012. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder symptoms in an adult sample: Associations with Cloninger's temperament and character dimensions. *Pers Individl Dif*, **52**(3), pp 290-294.
- Gonzalez, S., Rangel-Barajas, C., Peper, M., Lorenzo, R., Moreno, E., Ciruela, F., Borycz, J., Ortiz, J., Lluís, C., Franco, R., McCormick, P. J., Volkow, N. D., Rubinstein, M., Floran, B. & Ferre, S. 2012. Dopamine D4 receptor, but not the ADHD-associated D4.7 variant, forms functional heteromers with the dopamine D2S receptor in the brain. *Mol Psychiatry*, **17**(6), pp 650-62.

- Grady, D. L., Thanos, P. K., Corrada, M. M., Barnett, J. C., Ciobanu, V., Shustarovich, D., Napoli, A., Moyzis, A. G., Grandy, D. & Rubinstein, M. 2013. DRD4 genotype predicts longevity in mouse and human. *J Neurosci*, **33**(1), pp 286-291.
- Graybiel, A. M. 2005. The basal ganglia: learning new tricks and loving it. *Curr Opin Neurobiol*, **15**(6), pp 638-644.
- Hayden, E. P., Klein, D. N., Dougherty, L. R., Olino, T. M., Lappook, R. S., Dyson, M. W., Bufferd, S. J., Durbin, C. E., Sheikh, H. I. & Singh, S. M. 2010. The dopamine D2 receptor gene and depressive and anxious symptoms in childhood: associations and evidence for gene-environment correlation and gene-environment interaction. *Psychiatr Genet*, **20**(6), pp 304-10.
- Hikida, T., Kimura, K., Wada, N., Funabiki, K. & Nakanishi, S. 2010. Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. *Neuron*, **66**(6), pp 896-907.
- Huertas, E., Ponce, G., Koenke, M. A., Poch, C., Espana-Serrano, L., Palomo, T., Jimenez-Arriero, M. A. & Hoenicka, J. 2010. The D2 dopamine receptor gene variant C957T affects human fear conditioning and aversive priming. *Genes Brain Behav*, **9**(1), pp 103-9.
- Hussong, A. M., Jones, D. J., Stein, G. L., Baucom, D. H. & Boeding, S. 2011. An internalizing pathway to alcohol use and disorder. *Psychol Addict Behav*, **25**(3), pp 390-404.
- Jacob, C., Gross-Lesch, S., Jans, T., Geissler, J., Reif, A., Dempfle, A. & Lesch, K. P. 2014. Internalizing and externalizing behavior in adult ADHD. *Atten Defic Hyperact Disord*, **6**(2), pp 101-10.
- Jacob, C. P., Romanos, J., Dempfle, A., Heine, M., Windemuth-Kieselbach, C., Kruse, A., Reif, A., Walitza, S., Romanos, M., Strobel, A., Brocke, B., Schafer, H., Schmidtke, A., Boning, J. & Lesch, K. P. 2007. Co-morbidity of adult attention-deficit/hyperactivity disorder with focus on personality traits and related disorders in a tertiary referral center. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **257**(6), pp 309-17.
- Kazantseva, A., Gaysina, D., Malykh, S. & Khusnutdinova, E. 2011. The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **35**(4), pp 1033-40.
- Keller, M. C., Coventry, W. L., Heath, A. C. & Martin, N. G. 2005. Widespread evidence for non-additive genetic variation in Cloninger's and Eysenck's personality dimensions using a twin plus sibling design. *Behav Genet*, **35**(6), pp 707-21.
- Kluger, A. N., Siegfried, Z. & Ebstein, R. P. 2002. A meta-analysis of the association between DRD4 polymorphism and novelty seeking. *Mol Psychiatry*, **7**(7), pp 712-7.

- Kravitz, A. V. & Kreitzer, A. C. 2012. Striatal mechanisms underlying movement, reinforcement, and punishment. *Physiology*, **27**(3), pp 167-177.
- Kushner, M. G., Wall, M. M., Krueger, R. F., Sher, K. J., Maurer, E., Thuras, P. & Lee, S. 2012. Alcohol dependence is related to overall internalizing psychopathology load rather than to particular internalizing disorders: evidence from a national sample. *Alcohol Clin Exp Res*, **36**(2), pp 325-31.
- Lahiri, D. K. & Nurnberger Jr, J. I. 1991. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*, **19**(19), pp 5444.
- Lawford, B. R., Young, R., Noble, E. P., Kann, B. & Ritchie, T. 2006. The D2 dopamine receptor (DRD2) gene is associated with co-morbid depression, anxiety and social dysfunction in untreated veterans with post-traumatic stress disorder. *Eur Psychiatry*, **21**(3), pp 180-5.
- Lee, H. J., Lee, H. S., Kim, Y. K., Kim, L., Lee, M. S., Jung, I. K., Suh, K. Y. & Kim, S. 2003. D2 and D4 dopamine receptor gene polymorphisms and personality traits in a young Korean population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **121B**(1), pp 44-9.
- Li, D., Sham, P. C., Owen, M. J. & He, L. 2006. Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Hum Mol Genet*, **15**(14), pp 2276-84.
- Miettunen, J. & Raevuori, A. 2012. A meta-analysis of temperament in axis I psychiatric disorders. *Compr Psychiatry*, **53**(2), pp 152-66.
- Mota, N. R., Bau, C. H., Banaschewski, T., Buitelaar, J. K., Ebstein, R. P., Franke, B., Gill, M., Kuntsi, J., Manor, I., Miranda, A., Mulas, F., Oades, R. D., Roeyers, H., Rothenberger, A., Sergeant, J. A., Sonuga-Barke, E. J., Steinhausen, H. C., Faraone, S. V. & Asherson, P. 2013a. Association between DRD2/DRD4 interaction and conduct disorder: a potential developmental pathway to alcohol dependence. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **162B**(6), pp 546-9.
- Mota, N. R., Rovaris, D. L., Bertuzzi, G. P., Contini, V., Vitola, E. S., Grevet, E. H., Roman, T., Callegari-Jacques, S. M., Hutz, M. H. & Bau, C. H. 2013b. DRD2/DRD4 heteromerization may influence genetic susceptibility to alcohol dependence. *Mol Psychiatry*, **18**(4), pp 401-2.
- Moyer, R. A., Wang, D., Papp, A. C., Smith, R. M., Duque, L., Mash, D. C. & Sadee, W. 2011. Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. *Neuropsychopharmacology*, **36**(4), pp 753-62.

- Müller, D. J., Chiesa, A., Mandelli, L., Luca, V. D., Ronchi, D. D., Jain, U., Serretti, A. & Kennedy, J. L. 2010. Correlation of a set of gene variants, life events and personality features on adult ADHD severity. *J Psychiat Res*, **44**(9), pp 598-604.
- Munafò, M. R., Yalcin, B., Willis-Owen, S. A. & Flint, J. 2008. Association of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene and approach-related personality traits: meta-analysis and new data. *Biol Psychiatry*, **63**(2), pp 197-206.
- Noble, E. P., Blum, K., Khalsa, M. E., Ritchie, T., Montgomery, A., Wood, R. C., Fitch, R. J., Ozkaragoz, T., Sheridan, P. J., Anglin, M. D. & et al. 1993. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with cocaine dependence. *Drug Alcohol Depend*, **33**(3), pp 271-85.
- Noble, E. P., Ozkaragoz, T. Z., Ritchie, T. L., Zhang, X., Belin, T. R. & Sparkes, R. S. 1998. D2 and D4 dopamine receptor polymorphisms and personality. *Am J Med Genet*, **81**(3), pp 257-67.
- Nyman, E. S., Loukola, A., Varilo, T., Ekelund, J., Veijola, J., Joukamaa, M., Taanila, A., Pouta, A., Miettunen, J., Freimer, N., Jarvelin, M. R. & Peltonen, L. 2009. Impact of the dopamine receptor gene family on temperament traits in a population-based birth cohort. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **150B**(6), pp 854-65.
- Purper-Ouakil, D., Cortese, S., Wohl, M., Aubron, V., Orejarena, S., Michel, G., Asch, M., Mouren, M. C. & Gorwood, P. 2010. Temperament and character dimensions associated with clinical characteristics and treatment outcome in attention-deficit/hyperactivity disorder boys. *Compr Psychiatry*, **51**(3), pp 286-92.
- Rettew, D. C., Copeland, W., Stanger, C. & Hudziak, J. J. 2004. Associations between temperament and DSM-IV externalizing disorders in children and adolescents. *J Dev Behav Pediatr*, **25**(6), pp 383-91.
- Roman, T., Bau, C. H., Almeida, S. & Hutz, M. H. 1999. Lack of association of the dopamine D4 receptor gene polymorphism with alcoholism in a Brazilian population. *Addict Biol*, **4**(2), pp 203-7.
- Rondou, P., Haegeman, G. & Van Craenenbroeck, K. 2010. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. *Cell Mol Life Sci*, **67**(12), pp 1971-1986.
- Rubinstein, M., Cepeda, C., Hurst, R. S., Flores-Hernandez, J., Ariano, M. A., Falzone, T. L., Kozell, L. B., Meshul, C. K., Bunzow, J. R. & Low, M. J. 2001. Dopamine D4 receptor-deficient mice display cortical hyperexcitability. *J Neurosci*, **21**(11), pp 3756-3763.
- Salgado, C. A., Bau, C. H., Grevet, E. H., Fischer, A. G., Victor, M. M., Kalil, K. L., Sousa, N. O., Garcia, C. R. & Belmonte-de-Abreu, P. 2009. Inattention and hyperactivity dimensions of ADHD are associated with different personality profiles. *Psychopathology*, **42**(2), pp 108-12.

- Salokangas, R. K., Vilkmann, H., Ilonen, T., Taiminen, T., Bergman, J., Haaparanta, M., Solin, O., Alanen, A., Syvalahti, E. & Hietala, J. 2000. High levels of dopamine activity in the basal ganglia of cigarette smokers. *Am J Psychiatry*, **157**(4), pp 632-4.
- Schinka, J. A., Letsch, E. A. & Crawford, F. C. 2002. DRD4 and novelty seeking: results of meta-analyses. *Am J Med Genet*, **114**(6), pp 643-8.
- Service, S. K., Verweij, K. J., Lahti, J., Congdon, E., Ekelund, J., Hintsanen, M., Raikkonen, K., Lehtimäki, T., Kahonen, M., Widen, E., Taanila, A., Veijola, J., Heath, A. C., Madden, P. A., Montgomery, G. W., Sabatti, C., Jarvelin, M. R., Palotie, A., Raitakari, O., Viikari, J., Martin, N. G., Eriksson, J. G., Keltikangas-Jarvinen, L., Wray, N. R. & Freimer, N. B. 2012. A genome-wide meta-analysis of association studies of Cloninger's Temperament Scales. *Transl Psychiatry*, **2**(e116).
- Settle, J. E., Dawes, C. T., Christakis, N. A. & Fowler, J. H. 2010. Friendships moderate an association between a dopamine gene variant and political ideology. *J Polit*, **72**(04), pp 1189-1198.
- Sizoo, B., van den Brink, W., Gorissen van Eenige, M. & van der Gaag, R. J. 2009. Personality characteristics of adults with autism spectrum disorders or attention deficit hyperactivity disorder with and without substance use disorders. *J Nerv Ment Dis*, **197**(6), pp 450-4.
- Smith, T. F. 2010. Meta-analysis of the heterogeneity in association of DRD4 7-repeat allele and AD/HD: stronger association with AD/HD combined type. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **153B**(6), pp 1189-99.
- Strobel, A., Wehr, A., Michel, A. & Brocke, B. 1999. Association between the dopamine D4 receptor (DRD4) exon III polymorphism and measures of Novelty Seeking in a German population. *Mol Psychiatry*, **4**(4), pp 378-384.
- Swift, G., Larsen, B., Hawi, Z. & Gill, M. 2000. Novelty seeking traits and D4 dopamine receptors. *Am J Med Genet*, **96**(2), pp 222-223.
- Tai, Y. F., Hoshi, R., Brignell, C. M., Cohen, L., Brooks, D. J., Curran, H. V. & Piccini, P. 2011. Persistent nigrostriatal dopaminergic abnormalities in ex-users of MDMA ('Ecstasy'): an 18F-dopa PET study. *Neuropsychopharmacology*, **36**(4), pp 735-43.
- Teh, L. K., Izuddin, A. F., M, H. F., Zakaria, Z. A. & Salleh, M. Z. 2012. Tridimensional personalities and polymorphism of dopamine D2 receptor among heroin addicts. *Biol Res Nurs*, **14**(2), pp 188-96.
- Thomas, T. C., Grandy, D. K., Gerhardt, G. A. & Glaser, P. E. 2008. Decreased dopamine D4 receptor expression increases extracellular glutamate and alters its regulation in mouse striatum. *Neuropsychopharmacology*, **34**(2), pp 436-445.

- Tiihonen, J., Vilkmann, H., Rasanen, P., Ryyanen, O. P., Hakko, H., Bergman, J., Hamalainen, T., Laakso, A., Haaparanta-Solin, M., Solin, O., Kuoppamaki, M., Syvalahti, E. & Hietala, J. 1998. Striatal presynaptic dopamine function in type 1 alcoholics measured with positron emission tomography. *Mol Psychiatry*, **3**(2), pp 156-61.
- Usiello, A., Baik, J. H., Rouge-Pont, F., Picetti, R., Dierich, A., LeMeur, M., Piazza, P. V. & Borrelli, E. 2000. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature*, **408**(6809), pp 199-203.
- Vandenbergh, D., Zonderman, A., Wang, J., Uhl, G. & Costa Jr, P. 1997. No association between novelty seeking and dopamine D4 receptor (D4DR) exon III seven repeat alleles in Baltimore Longitudinal Study of Aging participants. *Mol Psychiatry*, **2**(5), pp 417-419.
- Verweij, K. J., Zietsch, B. P., Medland, S. E., Gordon, S. D., Benyamin, B., Nyholt, D. R., McEvoy, B. P., Sullivan, P. F., Heath, A. C., Madden, P. A., Henders, A. K., Montgomery, G. W., Martin, N. G. & Wray, N. R. 2010. A genome-wide association study of Cloninger's temperament scales: implications for the evolutionary genetics of personality. *Biol Psychol*, **85**(2), pp 306-17.
- Wang, E., Ding, Y. C., Flodman, P., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Grady, D. L., Ryder, O. A., Spence, M. A., Swanson, J. M. & Moyzis, R. K. 2004. The genetic architecture of selection at the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene locus. *Am J Hum Genet*, **74**(5), pp 931-44.
- Wang, T. Y., Lee, S. Y., Chen, S. L., Huang, S. Y., Chang, Y. H., Tzeng, N. S., Wang, C. L., Hui Lee, I., Yeh, T. L., Yang, Y. K. & Lu, R. B. 2013. Association between DRD2, 5-HTTLPR, and ALDH2 genes and specific personality traits in alcohol- and opiate-dependent patients. *Behav Brain Res*, **250**(285-92).
- Weiland, B. J., Korycinski, S. T., Soules, M., Zubieta, J. K., Zucker, R. A. & Heitzeg, M. M. 2014. Substance abuse risk in emerging adults associated with smaller frontal gray matter volumes and higher externalizing behaviors. *Drug Alcohol Depend*, **137**(68-75).
- Wu, J., Xiao, H., Sun, H., Zou, L. & Zhu, L. Q. 2012. Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. *Mol Neurobiol*, **45**(3), pp 605-20.
- Young, S. E., Stallings, M. C., Corley, R. P., Krauter, K. S. & Hewitt, J. K. 2000. Genetic and environmental influences on behavioral disinhibition. *Am J Med Genet*, **96**(5), pp 684-95.
- Zernicke, K. A., Cantrell, H., Finn, P. R. & Lucas, J. 2010. The association between earlier age of first drink, disinhibited personality, and externalizing psychopathology in young adults. *Addict Behav*, **35**(5), pp 414-8.

Zhang, Y., Bertolino, A., Fazio, L., Blasi, G., Rampino, A., Romano, R., Lee, M. L., Xiao, T., Papp, A., Wang, D. & Sadee, W. 2007. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**(51), pp 20552-7.

4 Conclusão e Perspectivas

Dada a ampla gama de comportamentos e características neuropsicológicas que já foram associadas a genes dopaminérgicos como *DRD2* e *DRD4*, variações nestes genes provavelmente exercem um efeito pleiotrópico, modulando os comportamentos normais, bem como influenciando na susceptibilidade a doenças psiquiátricas. Entretanto, um outro possível cenário é que estas associações possam estar de fato refletindo o efeito desses genes sobre os perfis específicos de personalidade, os quais por sua vez estão associados aos diversos comportamentos e condições psiquiátricas relacionados com *DRD2* e *DRD4*.

Pontuações altas na escala de HA são consideradas uma característica comum subjacente aos transtornos internalizantes⁹⁵, no entanto escores elevados de HA foram também associados com alguns transtornos externalizantes⁹⁶. Por isso, é possível que altos escores de HA possam ser na verdade uma característica subjacente aos transtornos psiquiátricos em geral. Dessa forma, a associação do *DRD2* com HA mostrada no presente estudo pode estar retratando esse efeito subjacente de HA que poderia também estar influenciando nas associações prévias do *DRD2* com transtornos externalizantes e internalizantes.

Além disso, Hink et al⁴⁰ demonstraram que altos escores de NS estão associados com transtornos externalizantes. O gene *DRD4* tem sido associado a vários fenótipos externalizantes como tendências políticas mais liberais e ter mais amigos⁹⁷, comportamento sexual mais promíscuo^{98; 99} e até mesmo a longevidade em humanos¹⁰⁰. Portanto, nossos resultados mostrando uma associação do VNTR do *DRD4* com NS podem também estar na verdade retratando o efeito de NS sobre as várias associações prévias de *DRD4*.

Adicionalmente, é possível que os efeitos das variações de *DRD2* e *DRD4* dependam também do contexto genético, ambiental e de possíveis interações com esses fatores. Por exemplo, o nosso grupo demonstrou recentemente que a interação entre variantes do *DRD4* com o polimorfismo rs2283265 do *DRD2* está relacionada à susceptibilidade a dependência do álcool em adultos com e sem TDAH⁹³. Além disso, foi demonstrado que essa interação também parece influenciar na susceptibilidade ao TC em crianças e adolescentes com TDAH⁹⁴. Neste contexto, um possível aspecto relacionado é que o efeito dessas variantes é dependente do perfil clínico e comportamental dos indivíduos, como por exemplo, a presença

de transtornos psiquiátricos. Nesse sentido, parece muito plausível que as variantes de *DRD2* e *DRD4* possam ter um efeito diferente em indivíduos com e sem TDAH ou outro transtorno psiquiátrico, e tal efeito dependente do contexto clínico pode explicar, em parte, a heterogeneidade observada nos estudos de meta-análise.

Temos como perspectivas continuar aumentando o tamanho amostral, a fim de aumentar o poder das nossas análises, e ainda explorar como o efeito de outras variáveis, como os diferentes subtipos do TDAH, por exemplo, poderiam estar influenciando nos achados aqui reportados.

Referências Bibliográficas

- ¹ REEVES, W. C. et al. **Mental Illness Surveillance Among Adults in the United States**. Atlanta, GA: Office of Surveillance, Epidemiology, and Laboratory Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), U.S. Department of Health and Human Services,. MMWR 2011;60(Suppl) 2011.
- ² DOS SANTOS, É. G.; DE SIQUEIRA, M. M. Prevalência dos transtornos mentais na população adulta brasileira: uma revisão sistemática de 1997 a 2009. **J Bras Psiquiatr**, v. 59, n. 3, p. 238-246, 2010.
- ³ KESSLER, R. C.; PETUKHOVA, M.; ZASLAVSKY, A. M. The role of latent internalizing and externalizing predispositions in accounting for the development of comorbidity among common mental disorders. **Curr Opin Psychiatry**, v. 24, n. 4, p. 307, 2011.
- ⁴ APA, A. P. A., Ed. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV)**. American Psychiatric Association, American Psychiatric Associationed. 1994.
- ⁵ APA, A. P. A., Ed. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-III)**. American Psychiatric Association, American Psychiatric Associationed. 1980.
- ⁶ POLANCZYK, G. et al. The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. **Am J Psychiatry**, v. 164, n. 6, p. 942-8, Jun 2007. ISSN 0002-953X (Print)
- ⁷ KESSLER, R. C. et al. The prevalence and correlates of adult ADHD in the United States: results from the National Comorbidity Survey Replication. **Am J Psychiatry**, v. 163, n. 4, p. 716-23, Apr 2006. ISSN 0002-953X (Print)
- ⁸ SIMON, V. et al. Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. **Br J Psychiatry**, v. 194, n. 3, p. 204-11, Mar 2009. ISSN 1472-1465 (Electronic)
- ⁹ APA, A. P. A., Ed. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM 5)**: American Psychiatric Associationed. 2013.
- ¹⁰ WILENS, T. E.; SPENCER, T. J. Understanding attention-deficit/hyperactivity disorder from childhood to adulthood. **Postgrad Med**, v. 122, n. 5, p. 97-109, Sep 2010. ISSN 1941-9260 (Electronic)
- ¹¹ STERGIAKOULI, E.; THAPAR, A. Fitting the pieces together: current research on the genetic basis of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 6, p. 551-60, 2010. ISSN 1178-2021 (Electronic)

- 12 FARAONE, S. V.; MICK, E. Molecular genetics of attention deficit hyperactivity disorder. **Psychiatr Clin North Am**, v. 33, n. 1, p. 159-80, Mar 2010. ISSN 1558-3147 (Electronic)
- 13 FARAONE, S. V. et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**, v. 57, n. 11, p. 1313-23, Jun 1 2005. ISSN 0006-3223 (Print)
- 14 CHANG, Z. et al. Developmental twin study of attention problems: high heritabilities throughout development. **JAMA Psychiatry**, v. 70, n. 3, p. 311-8, Mar 2013. ISSN 2168-6238 (Electronic)
- 15 BLUM, K. et al. Attention-deficit-hyperactivity disorder and reward deficiency syndrome. **Neuropsychiatr Dis Treat**, v. 4, n. 5, p. 893-918, Oct 2008. ISSN 1176-6328 (Print)
- 16 GOTTESMAN, I. I.; GOULD, T. D. The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. **Am J Psychiatry**, v. 160, n. 4, p. 636-645, 2003. ISSN 0002-953X.
- 17 GLANNON, W. Key Concepts: Endophenotypes. **Philos Psychiatr Psychol**, v. 10, n. 3, p. 277-284, 2003. ISSN 1086-3303.
- 18 LYNN, D. E. et al. Temperament and character profiles and the dopamine D4 receptor gene in ADHD. **Am J Psychiatry**, v. 162, n. 5, p. 906-913, 2005. ISSN 0002-953X.
- 19 ELIA, J. et al. ADHD latent class clusters: DSM-IV subtypes and comorbidity. **Psychiatry Res**, v. 170, n. 2-3, p. 192-8, Dec 30 2009. ISSN 0165-1781 (Print)
- 20 EBEJER, J. L. et al. Attention deficit hyperactivity disorder in Australian adults: prevalence, persistence, conduct problems and disadvantage. **PLoS One**, v. 7, n. 10, p. e47404, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic)
- 21 ARCOS-BURGOS, M. et al. A common genetic network underlies substance use disorders and disruptive or externalizing disorders. **Hum Genet**, v. 131, n. 6, p. 917-29, Jun 2012. ISSN 1432-1203 (Electronic)
- 22 COMINGS, D. E. et al. The dopamine D2 receptor locus as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. **JAMA**, v. 266, n. 13, p. 1793-800, Oct 2 1991. ISSN 0098-7484 (Print)
- 23 LEE, S. S. et al. Prospective association of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and substance use and abuse/dependence: a meta-analytic review. **Clin Psychol Rev**, v. 31, n. 3, p. 328-41, Apr 2011. ISSN 1873-7811 (Electronic)

- 24 TUITHOF, M. et al. The role of conduct disorder in the association between ADHD and alcohol use (disorder). Results from the Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study-2. **Drug Alcohol Depend**, v. 123, n. 1-3, p. 115-21, Jun 1 2012. ISSN 1879-0046 (Electronic)
- 25 ALLPORT, G. W. **Personality: a psychological interpretation**. Oxford, England: Holt, 1937. xiv, 588
- 26 CLONINGER, C. R. A systematic method for clinical description and classification of personality variants. A proposal. **Arch Gen Psychiatry**, v. 44, n. 6, p. 573-88, Jun 1987. ISSN 0003-990X (Print)
- 27 CLONINGER, C. R.; SVRAKIC, D. M.; PRZYBECK, T. R. A psychobiological model of temperament and character. **Arch Gen Psychiatry**, v. 50, n. 12, p. 975-90, Dec 1993. ISSN 0003-990X (Print)
- 28 KELLER, M. C. et al. Widespread evidence for non-additive genetic variation in Cloninger's and Eysenck's personality dimensions using a twin plus sibling design. **Behav Genet**, v. 35, n. 6, p. 707-21, Nov 2005. ISSN 0001-8244 (Print)
- 29 GILLESPIE, N. A. et al. The genetic and environmental relationship between Cloninger's dimensions of temperament and character. **Pers Individ Dif**, v. 35, n. 8, p. 1931-1946, 2003. ISSN 0191-8869.
- 30 NOBLE, E. P. et al. D2 and D4 dopamine receptor polymorphisms and personality. **Am J Med Genet**, v. 81, n. 3, p. 257-67, May 8 1998. ISSN 0148-7299 (Print)
- 31 BECKER, K. et al. The dopamine D4 receptor gene exon III polymorphism is associated with novelty seeking in 15-year-old males from a high-risk community sample. **J Neural Transm**, v. 112, n. 6, p. 847-58, Jun 2005. ISSN 0300-9564 (Print)
- 32 NYMAN, E. S. et al. Impact of the dopamine receptor gene family on temperament traits in a population-based birth cohort. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 150B, n. 6, p. 854-65, Sep 5 2009. ISSN 1552-485X (Electronic)
- 33 WANG, T. Y. et al. Association between DRD2, 5-HTTLPR, and ALDH2 genes and specific personality traits in alcohol- and opiate-dependent patients. **Behav Brain Res**, v. 250, p. 285-92, Aug 1 2013. ISSN 1872-7549 (Electronic)
- 34 KAZANTSEVA, A. et al. The role of dopamine transporter (SLC6A3) and dopamine D2 receptor/ankyrin repeat and kinase domain containing 1 (DRD2/ANKK1) gene polymorphisms in personality traits. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 35, n. 4, p. 1033-40, Jun 1 2011. ISSN 1878-4216 (Electronic)
- 35 TEH, L. K. et al. Tridimensional personalities and polymorphism of dopamine D2 receptor among heroin addicts. **Biol Res Nurs**, v. 14, n. 2, p. 188-96, Apr 2012. ISSN 1552-4175 (Electronic)

- 36 BENJAMIN, J. et al. Association between tridimensional personality questionnaire (TPQ) traits and three functional polymorphisms: dopamine receptor D4 (DRD4), serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) and catechol O-methyltransferase (COMT). **Mol Psychiatry**, v. 5, n. 1, p. 96-100, Jan 2000. ISSN 1359-4184 (Print)
- 37 HECK, A. et al. Investigation of 17 candidate genes for personality traits confirms effects of the HTR2A gene on novelty seeking. **Genes Brain Behav**, v. 8, n. 4, p. 464-72, Jun 2009. ISSN 1601-183X (Electronic)
- 38 CLONINGER, C. R. Biology of personality dimensions. **Curr Opin Psychiatry**, v. 13, n. 6, p. 611-616, 2000. ISSN 0951-7367.
- 39 YOUNG, S. E. et al. Genetic and environmental influences on behavioral disinhibition. **Am J Med Genet**, v. 96, n. 5, p. 684-95, Oct 9 2000. ISSN 0148-7299 (Print)
- 40 HINK, L. K. et al. Personality dimensions as common and broadband-specific features for internalizing and externalizing disorders. **J Abnorm Child Psychol**, v. 41, n. 6, p. 939-57, Aug 2013. ISSN 1573-2835 (Electronic)
- 41 DOWNEY, K. K. et al. Adult attention deficit hyperactivity disorder: psychological test profiles in a clinical population. **J Nerv Ment Dis**, v. 185, n. 1, p. 32-8, Jan 1997. ISSN 0022-3018 (Print)
- 42 ANCKARSATER, H. et al. The impact of ADHD and autism spectrum disorders on temperament, character, and personality development. **Am J Psychiatry**, v. 163, n. 7, p. 1239-44, Jul 2006. ISSN 0002-953X (Print)
- 43 SIZOO, B. et al. Personality characteristics of adults with autism spectrum disorders or attention deficit hyperactivity disorder with and without substance use disorders. **J Nerv Ment Dis**, v. 197, n. 6, p. 450-4, Jun 2009. ISSN 1539-736X (Electronic)
- 44 CHO, S.-C. et al. Full syndrome and subthreshold attention-deficit/hyperactivity disorder in a Korean community sample: comorbidity and temperament findings. **Eur Child Adoles Psy**, v. 18, n. 7, p. 447-457, 2009. ISSN 1018-8827.
- 45 MÜLLER, D. J. et al. Correlation of a set of gene variants, life events and personality features on adult ADHD severity. **J Psychiatr Res**, v. 44, n. 9, p. 598-604, 2010. ISSN 0022-3956.
- 46 PURPER-OUAKIL, D. et al. Temperament and character dimensions associated with clinical characteristics and treatment outcome in attention-deficit/hyperactivity disorder boys. **Compr Psychiatry**, v. 51, n. 3, p. 286-92, May-Jun 2010. ISSN 1532-8384 (Electronic)
- 47 JACOB, C. et al. Internalizing and externalizing behavior in adult ADHD. **Atten Defic Hyperact Disord**, v. 6, n. 2, p. 101-10, Jun 2014. ISSN 1866-6647 (Electronic)

- 48 RETTEW, D. C. et al. Associations between temperament and DSM-IV externalizing disorders in children and adolescents. **J Dev Behav Pediatr**, v. 25, n. 6, p. 383-91, Dec 2004. ISSN 0196-206X (Print)
- 49 FARAONE, S. et al. Personality traits among ADHD adults: implications of late-onset and subthreshold diagnoses. **Psychological Medicine**, v. 39, n. 04, p. 685-693, 2009. ISSN 1469-8978.
- 50 JACOB, C. P. et al. Co-morbidity of adult attention-deficit/hyperactivity disorder with focus on personality traits and related disorders in a tertiary referral center. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, v. 257, n. 6, p. 309-17, Sep 2007. ISSN 0940-1334 (Print)
- 51 CHO, S. C. et al. Patterns of temperament and character in a clinical sample of Korean children with attention-deficit hyperactivity disorder. **Psychiatry Clin Neurosci**, v. 62, n. 2, p. 160-166, 2008. ISSN 1440-1819.
- 52 MERWOOD, A.; ASHERSON, P.; LARSSON, H. Genetic associations between the ADHD symptom dimensions and Cloninger's temperament dimensions in adult twins. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 23, n. 6, p. 416-25, Jun 2013. ISSN 1873-7862 (Electronic)
- 53 FARAONE, S. V.; BIEDERMAN, J. Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**, v. 44, n. 10, p. 951-8, Nov 15 1998. ISSN 0006-3223 (Print)
- 54 PURPER-OUAKIL, D. et al. Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. **Pediatr Res**, v. 69, n. 5 Pt 2, p. 69R-76R, May 2011. ISSN 1530-0447 (Electronic)
- 55 AKUTAGAVA-MARTINS, G. C. et al. Genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder: current findings and future directions. **Expert Rev Neurother**, v. 13, n. 4, p. 435-45, Apr 2013. ISSN 1744-8360 (Electronic)
- 56 EBSTEIN, R. P. et al. Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. **Nat Genet**, v. 12, n. 1, p. 78-80, Jan 1996. ISSN 1061-4036 (Print)
- 57 SCHINKA, J. A.; LETSCH, E. A.; CRAWFORD, F. C. DRD4 and novelty seeking: results of meta-analyses. **Am J Med Genet**, v. 114, n. 6, p. 643-8, Aug 8 2002. ISSN 0148-7299 (Print)
- 58 KLUGER, A. N.; SIEGFRIED, Z.; EBSTEIN, R. P. A meta-analysis of the association between DRD4 polymorphism and novelty seeking. **Mol Psychiatry**, v. 7, n. 7, p. 712-7, 2002. ISSN 1359-4184 (Print)

- 59 MUNAFO, M. R. et al. Association of the dopamine D4 receptor (DRD4) gene and approach-related personality traits: meta-analysis and new data. **Biol Psychiatry**, v. 63, n. 2, p. 197-206, Jan 15 2008. ISSN 1873-2402 (Electronic)
- 60 VERWEIJ, K. J. et al. A genome-wide association study of Cloninger's temperament scales: implications for the evolutionary genetics of personality. **Biol Psychol**, v. 85, n. 2, p. 306-17, Oct 2010. ISSN 1873-6246 (Electronic)
- 61 SERVICE, S. K. et al. A genome-wide meta-analysis of association studies of Cloninger's Temperament Scales. **Transl Psychiatry**, v. 2, p. e116, 2012. ISSN 2158-3188 (Electronic)
- 62 TRIPP, G.; WICKENS, J. R. Neurobiology of ADHD. **Neuropharmacology**, v. 57, n. 7-8, p. 579-89, Dec 2009. ISSN 1873-7064 (Electronic)
- 63 ALCANTARA, A. A. et al. Localization of dopamine D2 receptors on cholinergic interneurons of the dorsal striatum and nucleus accumbens of the rat. **Brain research**, v. 986, n. 1, p. 22-29, 2003. ISSN 0006-8993.
- 64 USIELLO, A. et al. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 199-203, Nov 9 2000. ISSN 0028-0836 (Print)
- 65 BLUM, K. et al. Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. **JAMA**, v. 263, n. 15, p. 2055-60, Apr 18 1990. ISSN 0098-7484 (Print)
- 66 MUNAFO, M. R.; MATHESON, I. J.; FLINT, J. Association of the DRD2 gene Taq1A polymorphism and alcoholism: a meta-analysis of case-control studies and evidence of publication bias. **Mol Psychiatry**, v. 12, n. 5, p. 454-61, May 2007. ISSN 1359-4184 (Print)
- 67 SMITH, L. et al. Meta-analysis of the association of the Taq1A polymorphism with the risk of alcohol dependency: a HuGE gene-disease association review. **Am J Epidemiol**, v. 167, n. 2, p. 125-38, Jan 15 2008. ISSN 1476-6256 (Electronic)
- 68 LE FOLL, B. et al. Genetics of dopamine receptors and drug addiction: a comprehensive review. **Behav Pharmacol**, v. 20, n. 1, p. 1-17, Feb 2009. ISSN 1473-5849 (Electronic)
- 69 WANG, F. et al. A large-scale meta-analysis of the association between the ANKK1/DRD2 Taq1A polymorphism and alcohol dependence. **Hum Genet**, v. 132, n. 3, p. 347-58, Mar 2013. ISSN 1432-1203 (Electronic)
- 70 NOBLE, E. P. et al. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with cocaine dependence. **Drug Alcohol Depend**, v. 33, n. 3, p. 271-85, Oct 1993. ISSN 0376-8716 (Print)

- 71 LI, M. D.; MA, J. Z.; BEUTEN, J. Progress in searching for susceptibility loci and genes for smoking-related behaviour. **Clin Genet**, v. 66, n. 5, p. 382-92, Nov 2004. ISSN 0009-9163 (Print)
- 72 PEREZ DE LOS COBOS, J. et al. Allelic and genotypic associations of DRD2 TaqI A polymorphism with heroin dependence in Spanish subjects: a case control study. **Behav Brain Funct**, v. 3, p. 25, 2007. ISSN 1744-9081 (Electronic)
- 73 ZHANG, Y. et al. Polymorphisms in human dopamine D2 receptor gene affect gene expression, splicing, and neuronal activity during working memory. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 51, p. 20552-7, Dec 18 2007. ISSN 1091-6490 (Electronic)
- 74 MOYER, R. A. et al. Intronic polymorphisms affecting alternative splicing of human dopamine D2 receptor are associated with cocaine abuse. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 4, p. 753-62, Mar 2011. ISSN 1740-634X (Electronic)
- 75 FORD, C. P. The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. **Neuroscience**, v. 282C, p. 13-22, Jan 23 2014. ISSN 1873-7544 (Electronic)
- 76 GIZER, I. R.; FICKS, C.; WALDMAN, I. D. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. **Hum Genet**, v. 126, n. 1, p. 51-90, Jul 2009. ISSN 1432-1203 (Electronic)
- 77 WU, J. et al. Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. **Mol Neurobiol**, v. 45, n. 3, p. 605-20, Jun 2012. ISSN 1559-1182 (Electronic)
- 78 DE ALMEIDA, J.; MENGOD, G. D2 and D4 dopamine receptor mRNA distribution in pyramidal neurons and GABAergic subpopulations in monkey prefrontal cortex: implications for schizophrenia treatment. **Neuroscience**, v. 170, n. 4, p. 1133-9, Nov 10 2010. ISSN 1873-7544 (Electronic)
- 79 ASGHARI, V. et al. Modulation of intracellular cyclic AMP levels by different human dopamine D4 receptor variants. **J Neurochem**, v. 65, n. 3, p. 1157-65, Sep 1995. ISSN 0022-3042 (Print)
- 80 RONDOU, P.; HAEGEMAN, G.; VAN CRAENENBROECK, K. The dopamine D4 receptor: biochemical and signalling properties. **Cell Mol Life Sci**, v. 67, n. 12, p. 1971-1986, 2010. ISSN 1420-682X.
- 81 FARAONE, S. V. et al. Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. **Am J Psychiatry**, v. 158, n. 7, p. 1052-1057, 2001. ISSN 0002-953X.

- 82 LI, D. et al. Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Hum Mol Genet**, v. 15, n. 14, p. 2276-84, Jul 15 2006. ISSN 0964-6906 (Print)
- 83 SMITH, T. F. Meta-analysis of the heterogeneity in association of DRD4 7-repeat allele and AD/HD: stronger association with AD/HD combined type. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 153B, n. 6, p. 1189-99, Sep 2010. ISSN 1552-485X (Electronic)
- 84 STROBEL, A. et al. Association between the dopamine D4 receptor (DRD4) exon III polymorphism and measures of Novelty Seeking in a German population. **Mol Psychiatry**, v. 4, n. 4, p. 378-384, 1999. ISSN 1359-4184.
- 85 LEE, H. J. et al. D2 and D4 dopamine receptor gene polymorphisms and personality traits in a young Korean population. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 121B, n. 1, p. 44-9, Aug 15 2003. ISSN 1552-4841 (Print)
- 86 VANDENBERGH, D. et al. No association between novelty seeking and dopamine D4 receptor (D4DR) exon III seven repeat alleles in Baltimore Longitudinal Study of Aging participants. **Mol Psychiatry**, v. 2, n. 5, p. 417-419, 1997. ISSN 1359-4184.
- 87 DE BRETTESS, B. et al. The dopamine D2 receptor gene TaqI A polymorphism is not associated with Novelty Seeking, Harm Avoidance and Reward Dependence in healthy subjects. **Eur Psychiatry**, v. 13, n. 8, p. 427-430, 1998. ISSN 0924-9338.
- 88 SWIFT, G. et al. Novelty seeking traits and D4 dopamine receptors. **Am J Med Genet**, v. 96, n. 2, p. 222-223, 2000. ISSN 1096-8628.
- 89 FRANK, Y.; PERGOLIZZI, R. G.; PERILLA, M. J. Dopamine D4 receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder. **Pediatr Neurol**, v. 31, n. 5, p. 345-348, 2004. ISSN 0887-8994.
- 90 BORROTO-ESCUELA, D. O. et al. Dopamine D2 and D4 receptor heteromerization and its allosteric receptor-receptor interactions. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 404, n. 4, p. 928-34, Jan 28 2011. ISSN 1090-2104 (Electronic)
- 91 GONZALEZ, S. et al. Dopamine D4 receptor, but not the ADHD-associated D4.7 variant, forms functional heteromers with the dopamine D2S receptor in the brain. **Mol Psychiatry**, v. 17, n. 6, p. 650-62, Jun 2012. ISSN 1476-5578 (Electronic)
- 92 FERRE, S. et al. Building a new conceptual framework for receptor heteromers. **Nat Chem Biol**, v. 5, n. 3, p. 131-4, Mar 2009. ISSN 1552-4469 (Electronic)
- 93 MOTA, N. R. et al. DRD2/DRD4 heteromerization may influence genetic susceptibility to alcohol dependence. **Mol Psychiatry**, v. 18, n. 4, p. 401-2, Apr 2013. ISSN 1476-5578 (Electronic)

- ⁹⁴ MOTA, N. R. et al. Association between DRD2/DRD4 interaction and conduct disorder: a potential developmental pathway to alcohol dependence. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet**, v. 162B, n. 6, p. 546-9, Sep 2013. ISSN 1552-485X (Electronic)
- ⁹⁵ GRIFFITH, J. W. et al. Neuroticism as a common dimension in the internalizing disorders. **Psychol Med**, v. 40, n. 7, p. 1125-36, Jul 2010. ISSN 1469-8978 (Electronic)
- ⁹⁶ MIETTUNEN, J.; RAEVUORI, A. A meta-analysis of temperament in axis I psychiatric disorders. **Compr Psychiatry**, v. 53, n. 2, p. 152-66, Feb 2012. ISSN 1532-8384 (Electronic)
- ⁹⁷ SETTLE, J. E. et al. Friendships moderate an association between a dopamine gene variant and political ideology. **J Polit**, v. 72, n. 04, p. 1189-1198, 2010. ISSN 1468-2508.
- ⁹⁸ BEN ZION, I. Z. et al. Polymorphisms in the dopamine D4 receptor gene (DRD4) contribute to individual differences in human sexual behavior: desire, arousal and sexual function. **Mol Psychiatry**, v. 11, n. 8, p. 782-6, Aug 2006. ISSN 1359-4184 (Print)
- ⁹⁹ GARCIA, J. R. et al. Associations between dopamine D4 receptor gene variation with both infidelity and sexual promiscuity. **PLoS One**, v. 5, n. 11, p. e14162, 2010. ISSN 1932-6203 (Electronic)
- ¹⁰⁰ GRADY, D. L. et al. DRD4 genotype predicts longevity in mouse and human. **J Neurosci**, v. 33, n. 1, p. 286-291, 2013. ISSN 0270-6474.