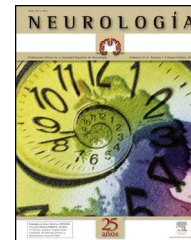




NEUROLOGÍA

www.elsevier.es/neurologia



ORIGINAL

Evidencia de asociación entre el genotipo 10/10 de *DAT1* y endofenotipos del trastorno por déficit de atención/hiperactividad[☆]



J.A. Agudelo^a, J.M. Gálvez^a, D.J. Fonseca^b, H.E. Mateus^b,
C. Talero-Gutiérrez^c y A. Velez-Van-Meerbeke^{d,*}

^a Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

^b Unidad de Genética, Grupo de Investigación GENIUIROS, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

^c Unidad de Neurociencias, Grupo de Investigación en Neurociencias NEUROS, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

^d Grupo de Investigación en Neurociencias NEUROS, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia

Recibido el 8 de julio de 2013; aceptado el 12 de diciembre de 2013

Accesible en línea el 23 de enero de 2014

PALABRAS CLAVE

DAT1;
Endofenotipo;
Función ejecutiva;
Genotipo;
Repetición en tándem
en número variable;
Trastorno por déficit
de atención e
hiperactividad

Resumen

Introducción: La variancia genética del trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es determinante para el fenotipo. La repetición en tándem en número variable (VNTR) de 40 pares de bases (pb) en la región no traducida 3' (UTR) del gen *DAT1* se ha asociado a la susceptibilidad de presentar TDAH debido al incremento de expresión del transportador de dopamina.

Objetivo: Determinar la asociación entre el VNTR del *DAT1* y el fenotipo y/o endofenotipos del TDAH en una muestra de niños de 6 a 15 años de la ciudad de Bogotá.

Sujetos y métodos: Se seleccionó a 73 pacientes con TDAH y 54 controles. En todos los individuos se realizó una prueba de WISC y se valoraron las funciones ejecutivas. Mediante reacción en cadena de la polimerasa se amplificó el VNTR de *DAT1*. Se establecieron estadísticos genético-poblacionales, análisis de asociación y correlación entre las pruebas neuropsicológicas y el genotipo.

Resultados: El polimorfismo del *DAT1* no mostró asociación con TDAH ($p=0,85$). Sin embargo, el genotipo 10/10 evidenció asociación con el índice de velocidad de procesamiento ($p < 0,05$). En el subtipo hiperactividad hubo correlación genotípica con subpruebas de la función ejecutiva (flexibilidad cognitiva) ($p \leq 0,01$). En el subgrupo mixto, el genotipo 10/10 se asoció al índice de comprensión verbal del WISC ($p < 0,05$).

[☆] Este trabajo no ha sido presentado en la reunión anual de la SEN ni en otras reuniones o congresos.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: alberto.velez@urosario.edu.co (A. Velez-Van-Meerbeke).

KEYWORDS

DAT1;
Endophenotype;
Executive function;
Genotype;
Variable number
tandem repeats;
Attention
deficit-hyperactivity
disorder

Conclusiones: Se encontró una correlación entre el genotipo del VNTR de *DAT1* con la subprueba «índice de velocidad de procesamiento» del WISC y la subprueba «flexibilidad cognitiva» de la función ejecutiva. Este es el primer reporte que evalúa el gen *DAT1* en población colombiana con TDAH.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Evidence of an association between 10/10 genotype of *DAT1* and endophenotypes of attention deficit/hyperactivity disorder

Abstract

Introduction: Genetic variance of attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD) is a strong determinant of this disorder. The 40 base pairs (bp) variable number tandem repeat (VNTR) located in the 3' untranslated region (UTR) of *DAT1* gene increases the expression of the dopamine transporter. Therefore, *DAT1* has been associated with susceptibility to ADHD.

Objective: To determine the association between the VNTR of *DAT1* and the phenotype of ADHD or its endophenotypes in a sample of children aged between 6 and 15 years from Bogotá.

Subjects and methods: We selected 73 patients with ADHD and 54 controls. WISC test was applied in all subjects and executive functions were assessed. The VNTR of *DAT1* was polymerase chain reaction-amplified. Data regarding population genetics and statistical analysis were obtained. Correlation and association tests between genotype and neuropsychological testing were performed.

Results: The *DAT1* polymorphism was not associated with ADHD ($P=.85$). Nevertheless, the 10/10 genotype was found to be correlated with the processing speed index ($P<.05$). In the hyperactivity subtype, there was a genotypic correlation with some subtests of executive function (cognitive flexibility) ($P\leq.01$). In the combined subtype, the 10/10 genotype was associated with verbal comprehension index of WISC ($P<.05$).

Conclusions: A correlation was found between *DAT1* VNTR and the subtest "processing speed index" of WISC and the subtest "cognitive flexibility" of executive functions. To our knowledge, this is the first report to assess *DAT1* gene in a Colombian population.

© 2013 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es uno de los problemas neuropsiquiátricos más frecuentes en la edad escolar, con una prevalencia mundial que oscila entre el 4 y el 19%^{1,2}. Este trastorno ocupa gran parte de la consulta de psiquiatría infantil y neurología en centros especializados, afectando principalmente al género masculino con una proporción 3:1. Además, produce alteraciones importantes en el rendimiento académico del individuo, en su forma de relacionarse con sus pares y en su vida futura debido a la persistencia de algunos síntomas hasta la edad adulta.

Se han descrito varios factores contribuyentes en la etiología del trastorno, entre los cuales se destacan factores de tipo ambiental, psicológico y genético, por lo que se considera una entidad de origen multifactorial. La heredabilidad estimada del 76% indica que la variancia genética ejerce una alta contribución al desarrollo del fenotipo, por lo que se han planteado varios estudios en la búsqueda de genes candidatos³⁻⁵. En concordancia con el mecanismo de acción de algunos fármacos utilizados para mejorar la sintomatología de este trastorno, se han postulado genes involucrados, por un lado en las vías relacionadas con los sistemas dopaminérgico, acetilcolinérgico y serotoninérgico, y por el otro en aquellos que codifican para proteínas transmembranales.

Se ha demostrado que los genes que codifican para: receptores del transportador de dopamina (*DAT1*), receptores de dopamina (*DRD2*, *DRD3*, *DRD4* y *DRD5*), el transportador de serotonina (*5HTT*), los receptores 1B y 2A para serotonina, la enzima catecol-o-metil transferasa (COMT), la enzima monoamino oxidasa (MAO) y la proteína asociada a sinaptosoma 25 (proteína SNAP25) pueden relacionarse con una mayor susceptibilidad al trastorno⁴. De hecho, en una revisión de la literatura sobre la genética del TDAH, Faraone et al- examinaron las OR de varios estudios caso-control y estudios de transmisión alélica en familias, encontrando que variantes en los genes *DRD4*, *DAT1*, *DRD5*, *DBH*, *SNAP-25* y *5HTT* efectivamente se encuentran relacionados con un incremento en la susceptibilidad al desarrollo de este trastorno⁵.

Uno de los genes candidatos más estudiados es *DAT1*, que codifica para el receptor del transportador de dopamina. Su estudio inició debido a la observación de que muchos de los medicamentos usados para el tratamiento del TDAH actúan antagonizando la acción del transportador de dopamina 1, lo que aumenta la disponibilidad de dicho neurotransmisor en la hendidura sináptica, contribuyendo así a la mejoría de los síntomas⁶⁻⁸. Diferentes estudios han demostrado que polimorfismos del gen *DAT1*, como la repetición en tándem en número variable (VNTR) de 40 pares de bases (pb) localizado en 3'UTR, pueden ser considerados como un factor de

riesgo, debido a que aumentan la expresión del transportador de dopamina⁹⁻¹⁴. Los genotipos de este VNTR están dados por el número de repeticiones de 40 pb en cada uno de los dos alelos, siendo los de mayor frecuencia a nivel mundial el alelo de 9 repeticiones (alelo 9) y el alelo de 10 repeticiones (alelo 10). El genotipo 10/10, es decir, el genotipo conformado por 2 alelos del 10 repeticiones de 40 pb, se ha encontrado asociado al TDAH. Sin embargo, esta asociación no ha sido replicada en todos los estudios que analizan esta variante genética, por lo que aún no existe un consenso con respecto a la importancia de este polimorfismo en la susceptibilidad al trastorno¹⁵⁻¹⁷.

Teniendo en cuenta la discrepancia entre los resultados de estudios que analizan genes de susceptibilidad, se ha propuesto realizar estudios de endofenotipos, que pueden representar alteraciones en la función bioquímica, neurofisiológica o cognitiva y que, indirectamente, son muestra de los procesos fisiopatológicos específicos o subfenotipos de la enfermedad¹⁸. Por ejemplo, las alteraciones en la función ejecutiva son frecuentes en pacientes con TDAH y pueden ser consideradas como un endofenotipo del trastorno¹⁹. Por este motivo, es posible considerar que su estudio podría llevar a la identificación de variantes genéticas relacionadas específicamente con las alteraciones en las funciones ejecutivas características de este trastorno.

En Colombia, no se han realizado estudios que evalúen la asociación del gen *DAT1* con endofenotipos del TDAH. Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue determinar si existe asociación entre el VNTR de 40 pb de la región 3'UTR del gen *DAT1* y el fenotipo del TDAH, sus subtipos y endofenotipos (principalmente función ejecutiva) en una muestra de la población colombiana.

Sujetos y métodos

Sujetos

Se estudió a niños entre 6 y 15 años, provenientes de varios colegios públicos y privados de Bogotá, Colombia, a quienes se les aplicó la lista chequeo del Manual Diagnóstico y Estadístico IV (DSM-IV, por sus siglas en inglés), el Sistema de evaluación de la conducta de niños y adolescentes (BASC, por sus siglas en inglés) y la escala Weschler de inteligencia para niños-revisada (WISC-R, por sus siglas en inglés). Los casos fueron seleccionados de acuerdo con los resultados de la lista de chequeo del DSM-IV y la escala BASC. Aquellos niños que cumplieran 6 o más criterios de los 9 para inatención y/o hiperactividad en la lista de chequeo DSM-IV aplicada a padres o maestros y tuvieran un percentil ≥ 85 en el dominio de atención y/o hiperactividad en la escala de atención BASC aplicada a padres o maestros fueron considerados como casos. La prueba WISC-R se aplicó con el fin de excluir de la muestra de estudio a aquellos niños con una puntuación total < 70 , concluyente de discapacidad intelectual. Según los resultados, los casos fueron clasificados en subtipos de TDAH mixto, hiperactivo/impulsivo o inatento.

Como controles se tomó a niños en quienes no se sospechaba TDAH y a ellos se les aplicó igualmente la lista de chequeo del DSM-IV y la escala BASC. Para asegurar que los controles no tenían una deficiencia cognitiva se descartaron aquellos que tuvieron puntuación en el WISC-R inferiores a

70 o que tenían un rendimiento escolar bajo (para aquellos a los cuales por cuestiones operativas no se pudo realizar la prueba). Tanto a los casos como a los controles se les realizó una evaluación de las funciones ejecutivas mediante las pruebas de la Evaluación Neuropsicológica Infantil (ENI)²⁰.

Este estudio siguió los principios éticos para la investigación médica que involucra a sujetos humanos emanados de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (versión Seúl, 2008) y la Resolución N.º 008430 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud para Colombia. El protocolo del estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética en Investigaciones institucional. Todos los niños participantes (casos y controles) asintieron participar en el estudio y sus padres firmaron un consentimiento informado tanto para la participación como para el uso de sus muestras de ADN.

Extracción de ADN

Se obtuvieron 5 ml de sangre de vena periférica o muestras de mucosa oral, tanto en los casos como en los controles, dependiendo de la facilidad de la toma de muestra de sangre en los niños. La extracción de ADN fue realizada por métodos convencionales de desalamiento y su calidad fue verificada en geles de agarosa al 1,2% teñidos con bromuro de etidio. La cuantificación del ADN fue realizada utilizando un Nanodrop®. El ADN de casos y controles fue almacenado a -20°C en el banco de ADN de la unidad de genética de la Universidad del Rosario (Bogotá, Colombia) hasta su uso.

Genotipificación

Para el análisis del polimorfismo de 40 pb del VNTR situado en el extremo 3'UTR del gen *DAT1*, se realizó reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), con primers específicos previamente reportados⁹ que amplificaban un fragmento entre 160 y 640 pb, según el número de repeticiones del VNTR que tuviese cada caso o control, correspondiendo el alelo menor (2 repeticiones) a un peso molecular de 160 pb y el alelo de mayor número de repeticiones (13 repeticiones) a un peso de 640 pb.

La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: Máster Mix (6,25 μL Promega®), Primers forward 0,5 μL y reverse 0,5 μL (10 pm/ μl), ADN 150 ng, agua ultrapura 5,25 μL , 2 μL de dimetil sulfóxido al 10%. El programa de termociclador utilizado consistió en: desnaturalización a 94°C por 5 min, seguido de 30 ciclos de: desnaturalización a 94°C por 45 s, anillamiento a 61°C por 45 s y extensión a 72°C por 45 s, seguidos por una extensión final de 10 min a 72°C (termociclador Agilent®). En cada montaje de PCR se utilizó un control negativo de amplificación para descartar posibles contaminaciones y como controles positivos se usaron muestras previamente tipificadas en la región 3'UTR del gen *DAT1*. Todos los productos amplificados se analizaron en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio al 3%, utilizando un marcador de peso molecular de 50 pb. La genotipificación fue realizada mediante visualización directa del producto amplificado en el gel, por conteo directo de los alelos y por 2 coinvestigadores en evaluaciones independientes. La asignación del genotipo fue realizada por comparación

de la banda de amplificación obtenida con el patrón de peso molecular, teniendo en cuenta que el alelo de menor número de repeticiones (2 repeticiones) tiene un peso de 160 pb.

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SNPStats²¹ para determinar los estadísticos genético-poblacionales de frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas y equilibrio de Hardy-Weinberg. Se calcularon las OR del genotipo vs. fenotipo y subtipos de TDAH. Usando el programa estadístico SPSS20, se realizaron análisis bivariados mediante pruebas de correlación entre el genotipo del VNTR situado en el extremo 3'UTR del gen *DAT1* y los resultados obtenidos en las subpruebas del WISC y de las funciones ejecutivas de la ENI (fluidez, fluidez gráfica, flexibilidad cognitiva, planificación y organización), las pruebas de memoria y el test de la figura humana. Los resultados se evaluaron con una tasa de error del 5% (valor de $p < 0,05$).

Resultados

Se analizó a 73 niños con diagnóstico de TDAH cuyas edades se encontraban entre los 6 y los 13 años (DE = 1,64) y 54 controles sanos, con edades entre los 6 y los 15 años (DE = 2,31). Los casos fueron clasificados en 3 diferentes subtipos, de acuerdo con los resultados en la clasificación DSM-IV y el BASC. La mayoría de los casos correspondió al subtipo mixto. La relación entre hombres y mujeres en el grupo de casos fue de ~ 4:1 (tabla 1).

No fue posible la genotipificación de 4 de las muestras obtenidas (debido a bajas concentraciones del ADN disponible), correspondientes a un control y 3 casos, 2 de ellos del subtipo inatento y uno del subtipo hiperactivo.

No hubo diferencias significativas en frecuencias alélicas y genotípicas de casos y controles ($p=0,26$ y $p=0,39$, respectivamente) (tabla 2). La población se encontró en equilibrio de Hardy Weinberg ($p=0,78$). El genotipo más frecuente, tanto en los casos como en los controles, fue

Tabla 1 Comparación demográfica de casos y controles

Variable	Casos (n = 73)	Controles (n = 54)
Edad (años)	6-13 (DE = 1,64)	6-15 (DE = 2,31)
Género		
Femenino	15 (20,5%)	22 (40,6%)
Masculino	58 (79,5%)	32 (59,4%)
Subtipos TDAH		
Inatención	26 (35,6%)	
Hiperactividad-impulsividad	10 (13,7%)	
Mixto	37 (50,7%)	

10/10 (2 alelos de 10 repeticiones), con frecuencias del 62,8 y el 62,2%, respectivamente.

No se obtuvo una asociación entre el genotipo del VNTR del 3'UTR del gen *DAT1* y el fenotipo de TDAH ($p=0,85$). Tampoco se encontró asociación con los subtipos de inatención, hiperactividad/impulsividad, mixto ($p=0,83$, $p=0,40$ y $p=0,44$, respectivamente).

Al realizar el estudio de correlación entre las subpruebas tanto del estudio del WISC como de las funciones ejecutivas con el genotipo del VNTR del 3'UTR del gen *DAT1*, se evidenció solo una correlación estadísticamente significativa entre el genotipo y el índice de velocidad de procesamiento del WISC ($p=0,043$) (tabla 3). Se determinó que los casos portadores del genotipo 10/10 tienen medias más bajas en este índice, comparado con otros genotipos (media del genotipo 10/10 = 88; media del genotipo 9/9 y 9/10 = 95).

En el subtipo de inatención no se evidenció correlación entre el genotipo y las subpruebas analizadas. Sin embargo, en algunas subpruebas, como la fluidez verbal fonémica total y la fluidez gráfica semántica, se hallaron valores de p cercanos a la significación ($p=0,062$ y $p=0,084$, respectivamente). Con respecto al subtipo de hiperactividad-impulsividad, el genotipo de *DAT1* se encontró asociado al número de respuestas correctas ($p=0,011$) y el total de errores ($p=0,015$) de la subprueba de flexibilidad cognitiva y con el número de respuestas perseverativas

Tabla 2 Valores observados y proporción de las frecuencias alélicas y frecuencias genotípicas de casos y controles

	Frecuencia alélica (proporción)			Frecuencia genotípica (proporción)				NG	HWE (p^*)
	Alelo 9	Alelo 10	Alelo 13	9/9	9/10	10/10	10/13		
Población total	50 (0,203)	194 (0,788)	2 (0,008)	6 (0,048)	38 (0,308)	77 (0,626)	2 (0,016)	4	0,78
Controles (n = 54)	21 (0,198)	83 (0,783)	2 (0,018)	3 (0,056)	15 (0,283)	33 (0,622)	2 (0,037)	1	0,69
Casos (n = 73)	29 (0,207)	111 (0,792)	0 (0)	3 (0,042)	23 (0,328)	44 (0,628)	0 (0)	3	1
Subtipos									
Inatención (n = 26)	9 (0,187)	39 (0,812)	0 (0)	1 (0,041)	7 (0,291)	16 (0,666)	0 (0)	2	0,76
Hiperactividad/impulsividad (n = 10)	2 (0,111)	16 (0,888)	0 (0)	0	2 (0,222)	7 (0,777)	0 (0)	1	1
Mixto (n = 37)	18 (0,243)	56 (0,756)	0 (0)	2 (0,054)	14 (0,378)	21 (0,567)	0 (0)	0	1

HWE: equilibrio de Hardy Weinberg; NG: no genotipificación.

* $p < 0,05$.

Tabla 3 Correlaciones de endofenotipos y genotipo del VNTR en 3'UTR del gen *DAT1* que presentaron significación estadística

Fenotipo	Prueba/endofenotipo	R ² ajustado	p*
TDAH Hiperactivo-impulsivo	Índice de velocidad de procesamiento (WISC)	0,046	0,043
	Número de respuestas correctas (flexibilidad cognitiva)	0,623	0,011
	Total de errores (flexibilidad cognitiva)	0,596	0,015
	Número de respuestas perseverativas (flexibilidad cognitiva)	0,753	0,001
Mixto	Índice de velocidad de comprensión (WISC)	0,096	0,037

* p < 0,05.

(p=0,001). En el subtipo mixto, solo la subprueba índice de comprensión verbal del WISC se asoció significativamente con el genotipo (p=0,037).

Adicionalmente, se realizó un análisis por subgrupos genotípicos con el fin de evaluar la influencia alélica en los endofenotipos. Se agruparon entonces aquellos genotipos que contenían el alelo de 9 repeticiones (es decir, el genotipo 9/9 y el 9/10) y, por otro lado, aquellos genotipos sin el alelo de 9 repeticiones (genotipo 10/10 y 10/13). Mediante este análisis se encontró una relación con la subprueba INVP del WISC (p=0,033), y se demostró una media más alta en este índice (94 vs. 88) en aquellos casos portadores del alelo de 9 repeticiones. No se encontraron otras correlaciones.

Discusión

El transportador de dopamina, localizado en la región presináptica en las neuronas dopaminérgicas, regula la recaptación de dopamina dentro de los terminales presinápticos²². El gen *DAT1* que codifica para esta proteína ha sido sujeto a numerosos estudios de asociación con TDAH, ya que exhibe varias características para ser un buen candidato: ratones «knockout» exhiben un incremento en la actividad motora con residuos de dopamina 100 veces mayores a lo normal en la hendidura sináptica⁸; estudios de tomografía computarizada de emisión de fotones y positrones, realizados en afectados, revelan mayor densidad de *DAT1* a nivel del núcleo estriado²³ y es blanco del medicamento metilfenidato, cuyo mecanismo de acción incluye el bloqueo de más del 50% de los transportadores de dopamina a nivel de la neurona presináptica^{6,24}.

Los hallazgos de nuestro estudio indican una relación del genotipo 10/10 en los casos de TDAH con el índice de velocidad de procesamiento, prueba que da una medida acerca de la capacidad de rastrear y discriminar información visual, e informa sobre la atención y la memoria visual a corto plazo. En portadores de este genotipo, se encontraron medias del índice de velocidad de procesamiento más bajas que indican que estos individuos presentan alteraciones en estas habilidades. Igualmente, el análisis por alelos permitió confirmar la correlación de homocigotos para el alelo 10 con el índice de velocidad de procesamiento, lo que indica que este alelo es el que confiere susceptibilidad en la alteración de este endofenotipo, así como lo señalan los hallazgos del estudio de Bellgrove et al., que indican que el alelo de 10 repeticiones puede ser mediador de una alteración neuropsicológica²⁵.

Así mismo, el análisis por subtipos de TDAH permitió evidenciar, en el subtipo de hiperactividad-impulsividad, una relación del genotipo 10/10 con peores resultados en el número de respuestas correctas, el total de errores en la prueba de las cartas y el número de respuestas perseverativas. Estas pruebas en conjunto brindan información sobre la capacidad de anticipación y establecimiento de metas, la autorregulación en las tareas y la capacidad de llevarlas a cabo eficientemente. Además, proporcionan información sobre la capacidad del individuo para adaptarse a los requerimientos del medio ambiente. La alteración en estos endofenotipos estaría en relación con la susceptibilidad de este subtipo a la mala adaptación a los medios que exigen finalización eficaz de tareas y adaptación a medios cambiantes como podrían ser los de un salón de clases.

Por otro lado, el análisis del subgrupo mixto identificó que individuos con genotipo 10/10 en este polimorfismo presentan índices de comprensión verbal más bajos que otros genotipos. Esto indica que el genotipo 10/10 se relaciona con alteraciones en la capacidad verbal de niños con TDAH subtipo mixto. Capilla et al. reportaron que este subtipo presenta alteraciones en la flexibilidad cognitiva a través de evaluaciones con magneto-encefalografía (MEG) mientras realizaban tareas que valoraban esta función²⁶.

De manera similar, otros grupos han encontrado asociación entre el genotipo 10/10 de este polimorfismo y alteración en las pruebas neuropsicológicas. Loo, et al. reportaron una asociación entre el genotipo 10/10 del gen *DAT1* y un aumento en el total de errores, además de un incremento en respuestas impulsivas y variabilidad en el tiempo de respuesta²⁷. Bellgrove encontró relación de este genotipo con un pobre rendimiento en las tareas de atención a través de un estudio caso-control, en el que se demostró que los homocigotos para el alelo 10 mostraban mayor variabilidad de respuesta en el test de atención sostenida a las tareas de respuesta e indica que el alelo de 10-repeticiones de *DAT1* podría mediar el compromiso neuropsicológico en el TDAH²⁵. En conjunto, estos estudios demuestran la importancia de este polimorfismo en la alteración de las funciones ejecutivas producidas por el TDAH y resaltan la importancia de conocer el trasfondo genético de este desorden, si bien no del trastorno con todos sus criterios, sí de algunas alteraciones neuropsicológicas (endofenotipos) que se podrían ver afectadas en estos pacientes.

En concordancia con nuestros resultados, y como lo hemos expuesto previamente, se ha establecido una asociación de endofenotipos del TDAH con el genotipo 10/10 del VNTR de *DAT1*. Sin embargo, en algunas poblaciones se han descrito otros alelos del mismo VNTR asociados a TDAH,

como el alelo de 7 y 9 repeticiones. Barkley et al. identificaron una relación del genotipo 9/10 con una mayor expresión de los síntomas de TDAH que los portadores del genotipo 10/10²⁸. Adicionalmente, este estudio evidenció que los portadores del genotipo 9/10 tenían peor rendimiento escolar, mayores alteraciones en la relación madre-hijo y mayores alteraciones comportamentales. También Kim et al. encontraron que el genotipo 9/10 era más frecuente en los sujetos con TDAH y las frecuencias alélicas del alelo 9 repeticiones eran significativamente más altas en los sujetos con TDAH²⁹. El autor indica que los sujetos portadores del alelo de 9 repeticiones cometen más errores por omisión en las tareas de vigilancia continua. Por su parte, Oh et al. encontró que los individuos con el genotipo 10/10 cometen menos errores de omisión en el test de variables de atención que los de genotipo 10/* en el primer cuarto del test, lo que indicaría un factor protector para los individuos con el genotipo 10/10³⁰.

Estas observaciones que asocian genotipos diferentes del 10/10 con el TDAH en diferentes poblaciones podrían ser explicadas por varios aspectos: diferencias en el valor de heredabilidad entre las poblaciones; impacto del ambiente psicosocial como factor importante de riesgo; desequilibrio de ligamiento entre el VNTR analizado y otros polimorfismos funcionalmente responsables del fenotipo; influencia de haplotipos más que de polimorfismos únicos en la susceptibilidad al fenotipo y tipo de análisis realizado, ya que en estudios caso-control se puede presentar estratificación de población y en los análisis de test de desequilibrio de transmisión puede influir la homocigocidad de los padres y la fenotipificación de pacientes. Se ha establecido también que, dada la cantidad de estudios que no demuestran asociación de *DAT1* con TDAH, a pesar de ser biológica y fisiológicamente un candidato óptimo, este gen podría corresponder más a un modulador de fenotipo de acción dependiente de la interacción con otros polimorfismos de vías dopaminérgicas como *DRD4*^{15,17}.

Los hallazgos reportados en este estudio demuestran la importancia de conocer el genotipo del VNTR localizado en la región 3'UTR del gen *DAT1* en poblaciones colombianas, ya que los individuos portadores del genotipo 10/10 se relacionan con un peor desempeño en pruebas neuropsicológicas.

El presente estudio tiene algunas limitaciones referentes al reducido tamaño de muestra, lo que influye en la generalización y la validez externa de los resultados, y a que la población de estudio se ubicó en algunos colegios de ciudad de Bogotá, por lo que estos resultados deben ser tomados cuidadosamente en otras poblaciones. En estudios futuros se recomienda ampliar el tamaño de la muestra, tanto local como regionalmente, especialmente en aquellas con datos de una mayor prevalencia del trastorno, lo que permitiría la identificación de alelos de baja frecuencia, que son difíciles de detectar en bajos tamaños poblacionales²; evaluar otras variantes genéticas del gen *DAT1* y otros genes implicados que podrían estar enmascarando relaciones reportadas en estudios previos y, finalmente, realizar estudios funcionales que permitan dilucidar con mayor claridad el papel biológico que cumple este polimorfismo en la alteración de las pruebas neuropsicológicas mencionadas.

Financiación

Este proyecto fue financiado por el Fondo de Investigaciones de la Universidad del Rosario (FIUR).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Agradecemos a las instituciones educativas participantes de este proyecto y a la red de colegios de Colsubsidio, por su disposición e interés en el buen desarrollo del mismo.

Bibliografía

- Vélez-van-Meerbeke A, Talero-Gutiérrez C, Gonzalez-Reyes R, Ibañez-Pinilla M. Prevalencia del trastorno por déficit de atención con hiperactividad en estudiantes de escuelas de Bogotá. Colombia Acta Neurol Colomb. 2008;24:6–12.
- Pineda DA, Lopera F, Palacio JD, Ramirez D, Henao GC. Prevalence estimations of attention-deficit/hyperactivity disorder: Differential diagnoses and comorbidities in a Colombian sample. Int J Neurosci. 2003;113:49–71.
- Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. Lancet. 2005;366:237–48.
- Gizer IR, Ficks C, Waldman ID. Candidate gene studies of ADHD: A meta-analytic review. Hum Genet. 2009;126:51–90.
- Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, Smoller JW, Goralnick JJ, Holmgren MA, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. Biol Psychiatry. 2005;57:1313–23.
- Elia J, Borcharding BG, Rapoport JL, Keysor CS. Methylphenidate and dextroamphetamine treatments of hyperactivity: Are there true nonresponders? Psychiatry Res. 1991;36:141–55.
- Spencer T, Biederman J, Wilens T. Pharmacotherapy of attention deficit hyperactivity disorder. Child Adolesc Psychiatr Clin N Am. 2000;9:77–97.
- Gainetdinov RR, Jones SR, Caron MG. Functional hyperdopaminergia in dopamine transporter knock-out mice. Biol psychiatry. 1999;46:303–11.
- Cook EH, Stein MA, Krasowski MD, Cox NJ, Olkon DM, Kieffer JE, et al. Association of attention-deficit disorder and the dopamine transporter gene. Am J Hum Genet. 1995;56:993–8.
- Cornish KM, Manly T, Savage R, Swanson J, Morisano D, Butler N, et al. Association of the dopamine transporter (*DAT1*) 10/10-repeat genotype with ADHD symptoms and response inhibition in a general population sample. Mol Psychiatry. 2005;10:686–98.
- Chen C-K, Chen S-L, Mill J, Huang Y-S, Lin S-K, Curran S, et al. The dopamine transporter gene is associated with attention deficit hyperactivity disorder in a Taiwanese sample. Mol Psychiatry. 2003;8:393–6.
- Curran S, Mill J, Tahir E, Kent L, Richards S, Gould A, et al. Association study of a dopamine transporter polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder in UK and Turkish samples. Mol Psychiatry. 2001;6:425–8.
- Blum K, Braverman ER, Wu S, Cull JG, Chen TJ, Gill J, et al. Association of polymorphisms of dopamine D2 receptor (*DRD2*), and dopamine transporter (*DAT1*) genes with schizoid/avoidant behaviors (SAB). Mol Psychiatry. 1997;2:239–46.
- Gill M, Daly G, Heron S, Hawi Z, Fitzgerald M. Confirmation of association between attention deficit hyperactivity

- disorder and a dopamine transporter polymorphism. *Mol Psychiatry*. 1997;2:311–3.
15. Holmes J, Payton A, Barrett JH, Hever T, Fitzpatrick H, Trumper AL, et al. A family-based and case-control association study of the dopamine D4 receptor gene and dopamine transporter gene in attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*. 2000;5:523–30.
 16. Palmer CG, Bailey JN, Ramsey C, Cantwell D, Sinsheimer JS, del'Homme M, et al. No evidence of linkage or linkage disequilibrium between DAT1 and attention deficit hyperactivity disorder in a large sample. *Psychiatr Genet*. 1999;9:157–60.
 17. Roman T, Schmitz M, Polanczyk G, Eizirik M, Rohde LA, Hutz MH. Attention-deficit hyperactivity disorder: A study of association with both the dopamine transporter gene and the dopamine D4 receptor gene. *Am J Med Genet A*. 2001;105:471–8.
 18. Cannon TD, Gasperoni TL, Van Erp TG, Rosso IM. Quantitative neural indicators of liability to schizophrenia: Implications for molecular genetic studies. *Am J Med Genet A*. 2001;105:16–9.
 19. Vélez-van-Meerbeke A, Zamora IP, Guzmán G, Figueroa B, López Cabra CA, Talero-Gutiérrez C. Evaluating executive function in schoolchildren with symptoms of attention deficit hyperactivity disorder. *Neurologia*. 2013;28:348–55.
 20. Rosselli Cock M, Matute Villaseñor E, Ardila Ardila A, Botero Gómez VE, Tangarife Salazar GA, Echevarría Pulido SE, et al. [Neuropsychological Assessment of Children: a test battery for children between 5 and 16 years of age. A Colombian normative study]. *Rev Neurol*. 2004;38:720–31.
 21. Solé X, Guinó E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22:1928–9.
 22. Ross SB. Synaptic concentration of dopamine in the mouse striatum in relationship to the kinetic properties of the dopamine receptors and uptake mechanism. *J Neurochem*. 1991;56:22–9.
 23. Fusar-Poli P, Rubia K, Rossi G, Sartori G, Balottin U. Striatal dopamine transporter alterations in ADHD: Pathophysiology or adaptation to psychostimulants? A meta-analysis. *Am J Psychiatry*. 2012;169:264–72.
 24. Volkow ND, Fowler JS, Wang G, Ding Y, Gatley SJ. Mechanism of action of methylphenidate: Insights from PET imaging studies. *J Atten Disord*. 2002;6(Suppl 1):S31–43.
 25. Bellgrove MA, Barry E, Johnson KA, Cox M, Dáibhis A, Daly M, et al. Spatial attentional bias as a marker of genetic risk, symptom severity, and stimulant response in ADHD. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33:2536–45.
 26. Capilla Gonzalez A, Etchepareborda MC, Fernandez Gonzalez S, Mulas F, Campo P, Maestu F, et al. [The neurofunctional foundation of cognitive rigidity in attention deficit hyperactivity disorder: Some preliminary findings]. *Rev Neurol*. 2004;38(Suppl 1):S145–8.
 27. Loo SK, Specter E, Smolen A, Hopfer C, Teale PD, Reite ML. Functional effects of the DAT1 polymorphism on EEG measures in ADHD. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2003;42:986–93.
 28. Barkley RA, Smith KM, Fischer M, Navia B. An examination of the behavioral and neuropsychological correlates of three ADHD candidate gene polymorphisms (DRD4 7+, DBH TaqI A2, and DAT1 40bp VNTR) in hyperactive and normal children followed to adulthood. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2006;141B:487–98.
 29. Kim J, Kim B, Cho S. The dopamine transporter gene and the impulsivity phenotype in attention deficit hyperactivity disorder: A case-control association study in a Korean sample. *J Psychiatr Res*. 2006;40:730–7.
 30. Oh KS, Shin DW, Oh GT, Noh KS. Dopamine transporter genotype influences the attention deficit in Korean boys with ADHD. *Yonsei Med J*. 2003;44:787–92.