

Postępy i trudności w identyfikacji biologicznych i genetycznych przyczyn zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD)

Progress and stumbling blocks in the discovery of biological and genetic basis of attention deficit hyperactivity disorder

Monika Dmitrzak-Węglarz¹, Joanna Duda¹, Agnieszka Słopień²

¹ Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra Psychiatrii, Zakład Genetyki w Psychiatrii

² Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra Psychiatrii, Klinika Psychiatrii Dzieci i Młodzieży

Summary

Attention deficit hyperactivity disorder, ADHD, is one of the most common neurodevelopmental disorders that affects up to 5% of school-aged children. Despite the defined diagnostic criteria, we are not always able to make a diagnosis as quickly as possible and to implement optimal treatment. Despite different and advanced methods and technologies used to study ADHD, we still not fully understand the biological basis of attention deficit hyperactivity disorder. Therefore, research is continuing to explain genetic and neurobiological background of the disorder. Genetic analysis focuses on the search for risk genes (e.g., mutations, CNV polymorphisms), their transcripts and proteins as well all modifying molecules (epigenetic modifications). Not without significance is the search for non-invasive, simple and cheap peripheral biomarker assays, extremely valuable in the diagnosis, prediction, and monitoring of the disorder. In this review, we summarize current knowledge on a broad range of biological processes underlying ADHD. The results of the presented molecular and neuroimaging studies indicate research challenges and the possibility of clinical application of important genetic and non-genetic biomarkers related to ADHD.

Słowa kluczowe: zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi, diagnostyka, genetyka

Key words: attention deficit hyperactivity disorder, diagnostic approach, genetics

Wprowadzenie

Zespół nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) jest jednym z najczęstszych zaburzeń neurorozwojowych występujących w dzieciństwie. Typowe

objawy (zaburzenia uwagi, nadpobudliwość/nadruchliwość i impulsywność) występują ze zmiennym nasileniem w różnych sytuacjach społecznych. W zależności od zastosowanych kryteriów diagnostycznych i badanej populacji częstość diagnozowania ADHD u dzieci w wieku szkolnym waha się między 1–2% (według ICD–10) a 3–5% (zgodnie z DSM–5) [1]. Objawy ADHD utrzymują się u ponad 70% młodzieży i 30–66% dorosłych. Obraz kliniczny ADHD różni się w zależności od wieku pacjenta. Częstość występowania ADHD w populacji pacjentów w wieku od 18 do 44 lat wynosi 2,5–4,4% [2]. Na jedną dziewczynkę z rozpoznaniem ADHD przypada od 2 do 10 chłopców, podczas gdy u dorosłych wskaźnik ten zmniejsza się i wynosi 1,6:1. Z wiekiem maleje nasilenie objawów nadpobudliwości, podczas gdy deficyty uwagi i objawy impulsywności zwykle utrzymują się [3]. U dziewcząt i kobiet objawy zaburzeń uwagi są częściej widoczne od samego początku [4]. U 50–75% pacjentów obserwujemy mieszany obraz zaburzenia, tzn. objawy deficytów uwagi i nadpobudliwość/impulsywność są jednakowo intensywne. Zaburzenia uwagi obserwowane są u 20–30% pacjentów, podczas gdy nadpobudliwość i impulsywność występuje u około 15% pacjentów [5].

Rozpoznanie ADHD stawiane jest na podstawie objawów klinicznych, przy użyciu kryteriów diagnostycznych klasyfikacji ICD–10 lub DSM–5. Klasyfikacja DSM–5 dzieli objawy na dwa obszary – deficyt uwagi i nadpobudliwość/impulsywność. W zależności od dominującego obszaru rozpoznajemy trzy podtypy ADHD, które zmieniają się wraz z wiekiem pacjenta: podtyp z przewagą zaburzeń uwagi, podtyp z przewagą nadpobudliwości i impulsywności oraz podtyp mieszany. Z kolei klasyfikacja ICD–10 dzieli objawy na trzy grupy (zaburzenia uwagi, nadpobudliwość, impulsywność) i nie rozróżnia podtypów zaburzenia, przez co obejmuje głównie pacjentów o mieszanym obrazie objawów. Upośledzenie funkcjonowania społecznego, zawodowego lub szkolnego dziecka z ADHD powinno być klinicznie istotne i występować w co najmniej dwóch sytuacjach (np. w szkole i domu). Objawy zależą od kontekstu, w którym się pojawiają. Dlatego w niektórych sytuacjach mogą nie być widoczne, np. w kontakcie indywidualnym (w gabinecie lekarskim) czy podczas zaangażowania w ciekawe zajęcia. Do rozpoznania ADHD wymagane jest utrzymywanie się objawów przez co najmniej sześć miesięcy. Według autorów klasyfikacji ICD–10 objawy powinny pojawić się przed 7. rokiem życia. W klasyfikacji DSM–5 tylko kilka z nich musi być obecnych przed 12. rokiem życia. Ponadto DSM–5 umożliwia diagnozę ADHD u młodzieży i dorosłych (17 lat i więcej). W tym przypadku wystarczy mieć mniej objawów z opisanych obszarów zaburzenia (co najmniej 5).

U większości pacjentów z ADHD (59–87%) mogą występować również inne zaburzenia: specyficzne zaburzenia rozwoju mowy oraz inne specyficzne zaburzenia rozwoju i umiejętności szkolnych. Ponadto wymienia się zaburzenia zachowania, zaburzenia opozycyjno-buntownicze, a w dorosłości antyspołeczne zaburzenia osobowości czy konflikty z prawem. Mogą też współistnieć zaburzenia lękowe, zaburzenia nastroju, zaburzenia obsesyjno-kompulsyjne, nikotynizm, nadużywanie substancji psychoaktywnych, tiki oraz zespół Tourette’a. Klasyfikacja DSM–5 umożliwia diagnozę ADHD wraz z zaburzeniami w spektrum autyzmu, w których bardzo często pojawiają się objawy zaburzeń uwagi, nadpobudliwość i impulsywność. Pacjenci z ADHD częściej podejmują próby samobójcze. Dziewczęta mają większe ryzyko współwystępowania

zaburzeń lękowych i uzależnienia od substancji psychoaktywnych, podczas gdy chłopcy są bardziej narażeni na depresję, zaburzenia zachowania i buntowniczo-opozycyjne [6].

Według niektórych doniesień w 60–90% ADHD współwystępuje z chorobą afektywną dwubiegunową o wczesnym początku (objawy przed 18. rokiem życia), w szczególności o bardzo wczesnym początku (objawy przed 13. rokiem życia) [7]. Należy pamiętać, że objawy ADHD mogą wystąpić w przebiegu wielu chorób somatycznych, jak na przykład w neurofibromatozie typu 1 (NF1), zespole uogólnionej oporności na hormony tarczycy, nadczynności tarczycy, przeroście gardła, alergii, astmie, utracie słuchu, padaczce, zespole łamliwego chromosomu X, wrodzonych chorobach metabolicznych. Objawy ADHD mogą być również wynikiem niepożądanych reakcji na leki, takie jak np.: leki przeciwhistaminowe, steroidy, β 2-blokery, teofilinę czy leki nootropowe [8, 9]. Na pojawienie się u dzieci objawów podobnych do ADHD mogą mieć również wpływ czynniki środowiskowe, wśród których najczęściej wymienia się: nudzenie się na lekcjach, narażenie na silny stres, krzywdę fizyczną lub seksualną. Ponadto wskazuje się również, że przyczyną takich objawów może być brak ustalonych zasad w domu i przyzwolenie/brak właściwej reakcji na niedopuszczalne zachowanie. Dlatego w diagnostyce dziecka z ADHD bardzo ważne jest zebranie wywiadu z różnych środowisk, w których funkcjonuje dziecko [10].

Od koncepcji neuronalnej do molekularnych podstaw ADHD

ADHD jest zaburzeniem wieloczynnikowym o złożonej psychopatologii. W badaniach diagnostycznych wykorzystuje się różne metody i technologie do oceny zmian neuronalnych. Niemniej nadal nie ma jasności, czy obserwowane zmiany neurobiologiczne są związane z objawami ADHD. Obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (MRI) jest podstawową metodą badania struktury i funkcji mózgu u dzieci i dorosłych.

Badania strukturalne MRI wykazały zmniejszenie objętości jąder podstawnych (*basal ganglia*) mózgu dzieci z ADHD. Zaobserwowano również trwające od 2 do 5 lat opóźnienie w uzyskiwaniu szczytowej grubości kory czołowej, ciemieniowej i skroniowej mózgu chorych dzieci [11]. Powyższe zmiany mogą wpływać na zaburzenia uwagi i funkcji wykonawczych, które są obserwowane u dzieci z ADHD. Badanie dyfuzyjne MRI (dMRI) sugeruje, że nieprawidłowa objętość obszarów korowych i podkorowych może wynikać z zaburzeń mielinizacji i rozgałęzień aksonalnych neuronów [12]. Badania z wykorzystaniem analiz dużych baz danych dowodzą, że w rozwoju dzieci z ADHD dochodzi do opóźnienia i zaburzeń mielinizacji już w trzecim trymestrze ciąży. Naukowcy powiązali zaburzenia mielinizacji z genem ST3GAL3 (*ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3*). Mutacje w tym genie zaburzają procesy glikozylacji białek, przez co są one mniej stabilne lub rozpoznawane jako obce [13]. Z kolei objętość wewnątrzczaszkowa i objętość skorupy została powiązana z genem SEMA6D, kodującym semaforynę warunkującą ukierunkowany wzrost neuronów [14].

Badania funkcjonalne (fMRI) w ADHD wskazują na udział specyficznych obwodów neuronalnych zaangażowanych np. w utrzymanie uwagi, kontrolę hamowania, motywację i regulację emocjonalną, których znaczenie w ADHD potwierdziły meta-analizy. Wymienia się trzy główne obwody:

- obwód czołowo-ciemieniowy obejmuje: płaty czołowe (w tym dodatkowe pola ruchowe i czołowe pola okoruchowe), połączenia skroniowo-ciemieniowe i dolną bruzdę ciemieniową; obwód ten bierze udział w procesach koncentracji i czujności uwagi,
- obwód grzbietowo-czołowo-prążkowy obejmuje: grzbietowo-boczną korę przedczołową, grzbietową część prążkowiec i wzgórze; obwód odpowiada za kontrolę hamowania, w tym hamowanie reakcji i kontrolę zakłóceń,
- obwód mezokortykolimbiczny obejmuje: korę oczodołowo-czołową, brzuszna część prążkowiec, jądro półleżące, brzuszna część nakrywki i przednią część hipokampa; obwód ten leży u podstaw procesów związanych z układem nagrody i regulacją emocji, w tym motywacji, tolerancji na frustrację i oczekiwania na nagrodę [15].

Badanie funkcjonalne (fMRI) w stanie spoczynku wykazało osłabioną łączność sieci aktywności bazowej (*default mode network*, DMN) u osób z ADHD. Z kolei fMRI oparte na zadaniach (*task-based fMRI*) wykazały zwiększoną aktywność DMN w trakcie odpoczynku lub zaangażowania w zadania introspekcyjne, np. odzyskiwanie wspomnień autobiograficznych [16]. W kilku niezależnych badaniach, obejmujących dzieci, młodzież i dorosłych z ADHD zarówno otrzymujących jak i nieotrzymujących leku, potwierdzono brak lub osłabienie zależności między siecią aktywności bazowej (DMN) a siecią kontroli procesów poznawczych (*cognitive control network*, CCN) [15]. Chen i wsp. [17] odkryli, że przeczaszkowa stymulacja magnetyczna sieci CCN powoduje tłumienie DMN. Badania wskazują również na zmniejszoną łączność funkcjonalną w obrębie kory przedczołowej i prążkowiec oraz DMN podczas zadań angażujących funkcje wykonawcze [18, 19]. Potrzebne są jednak dalsze badania czynnościowe w celu wyjaśnienia związku różnych regionów mózgu i ich roli w tworzeniu sieci połączeń odpowiedzialnych za funkcje wykonawcze, których zaburzenia obserwujemy u dzieci z ADHD [20, 21]. W badaniach na modelu zwierzęcym wykazano, że obniżenie stężenia transportera serotoniny w hipokampie szczura osłabia aktywność lokomotoryczną i impulsywność, co sugeruje, że zwiększona transmisja serotonergiczna w tym obszarze mózgu może łagodzić niektóre objawy ADHD [22]. Badania farmakologiczne pozwalają wnioskować, że zastosowanie leków psychostymulujących przyczynia się do normalizacji początkowych nieprawidłowości w obwodach przednich w porównaniu z placebo i że ta normalizacja jest związana z poprawą hamowania odpowiedzi [23].

Podsumowując, badania neuroobrazowe pozwoliły na wskazanie związku specyficznych obwodów neuronalnych z objawami ADHD. Zwiększenie czułości i specyficzności tych badań z wykorzystaniem np. ustrukturyzowanego protokołu bodźców/zadań pobudzających pracę mózgu czy też leków o różnych mechanizmach działania pozwoli na bardziej szczegółowe wnioskowanie dotyczące neurobiologicznych przyczyn ADHD.

Kluczowe geny ADHD

ADHD jest zaburzeniem o jednym z najwyższych wskaźników odziedziczalności, mieszczącym się w przedziale od 60 do 90% [24, 25]. Poligeniczny charakter ADHD

wskazuje, że wiele genów o małym lub umiarkowanym wpływie buduje pierwotne podłoże ADHD [26]. Badanie asocjacyjne całego genomu (*genome-wide association study*, GWAS) jest narzędziem, które pozwala na identyfikację częstych wariantów o małym wpływie na badaną cechę lub chorobę bez konieczności ustalenia z góry modelu dziedziczenia [15]. Dzięki możliwości analizy ponad miliona polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (*single nucleotide polymorphisms*, SNP) na mikromacierzach GWAS stało się popularnym narzędziem w poszukiwaniu genetycznego podłoża zaburzeń psychicznych [24]. Szczególnie obiecującym genem wyłonionym w badaniach GWAS jest gen CDH13 kodujący kadherynę 13 [15, 27]. Polimorfizmy SNP w tym genie są związane z deficytami pamięci roboczej i nadpobudliwością u osób z ADHD [28, 29]. Jednakże ze względu na konieczność analizy licznych grup badanych nadal metodą alternatywną pozostaje analiza genów kandydujących. Najczęściej analizowane warianty genetyczne w badaniach ADHD dotyczą genów kandydujących związanych z układem dopaminergicznym i serotoninergicznym [30]. W przypadku genów DRD4 (receptor dopaminy 4), jak i SLCA3 (transporter dopaminy) przeważają badania dowodzące ich związku z ADHD [31], choć istnieją również badania temu przeczące [32].

Większość dotychczasowych badań genetycznych w ADHD dotyczyła dzieci. W przypadku osób dorosłych z ADHD wykazano związek z genem BIAP2 (białko związane z mózgowo-specyficznym inhibitorem angiogenezy), którego nie udało się potwierdzić u dzieci. W przypadku genów SLC6A3, DRD4 i COMT (enzym rozkładający katecholoaminy) mamy do czynienia z sytuacją odwrotną. Gen SLC6A3 jest dobrze znanym genem, który odgrywa ważną rolę w patofizjologii różnych zaburzeń psychicznych, w tym ADHD. Jednak metaanalizy dotyczące związku tego genu z ADHD i odpowiedzią na leczenie nie potwierdziły wcześniejszych doniesień [33]. Podobnie w przypadku genu DRD4 metaanalizy nie potwierdziły wcześniejszych wyników. W przypadku funkcjonalnego polimorfizmu Val66Met genu COMT wykazano również związek u dzieci z ADHD z nadwagą [34] czy upośledzonym funkcjonowaniem społecznym [35], natomiast nie potwierdzono takiego związku u dorosłych. Brak wykrycia tych samych zależności u dzieci i dorosłych może wskazywać, że są to odrębne podtypy genetyczne choroby, które powinny być analizowane oddzielnie [36]. Jednakże biorąc pod uwagę, że produkty białkowe wyżej wymienionych genów w istotny sposób są związane z etiologią ADHD, wielu autorów wskazuje na konieczność kontynuacji badań w przypadku genów SLCA3, DRD4 i COMT [33, 34].

Badania GWAS ciągle identyfikują nowe interesujące ze względu na funkcję geny. Ostatnie doniesienia wskazują na gen tenascyny R (TNR). Gen ten koduje glikoproteinę macierzy zewnątrzkomórkowej, która odgrywa rolę w adhezji komórek nerwowych i odrostu neurytów [37]. Metaanaliza badań GWAS wykazała 12 *loci* ryzyka ADHD. Co ciekawe, tylko dwa geny (ST3GAL3 i SEMA6D) były wcześniej związane z ryzykiem ADHD w badaniach z wykorzystaniem fenotypów pośrednich [38].

Z przeglądu literatury wynika, że około 105 genów może być związanych z ADHD. Oznaczenia polimorfizmów SNP nie są wystarczające do oceny ich związku z ryzykiem ADHD, dlatego wykorzystuje się różne podejścia analityczne, np. interakcji produktów białkowych w celu wskazania szlaków związanych z ADHD. Zapewne zarówno lista genów, jak i szlaków biorących udział w rozwoju ADHD nie jest wyczerpana [39, 40].

Poza polimorfizmami SNP niesłabnącym zainteresowaniem cieszą się analizy wariantów liczby kopii – segmentów DNA o wielkości od 1 kpz do kilku mpz (*copy number variation*, CNV). Zwiększenie liczby kopii CNV u pacjentów z ADHD stwierdzono w genach kodujących receptory glutaminowe ADHD [41] oraz w genach CHRNA7 i NPY [42, 43]. Stergiakouli i wsp. [44] wykazali współwystępowanie polimorfizmów CNV i SNP związanych z ADHD na tych samych szlakach biologicznych. Obejmują one szlaki rozwojowe związane z cholesterolem w ośrodkowym układzie nerwowym. Dotychczasowe badania potwierdzają, że zarówno SNP, jak i CNV mają istotny wpływ na ryzyko ADHD.

Badania genów kandydujących oraz GWAS pozwoliły na wskazanie licznych genów potencjalnej predyspozycji rozwoju choroby. Nie udało się jak dotąd wytypować wśród nich wariantów jednoznacznie spełniających kryteria biomarkera genetycznego. Autorzy niniejszego artykułu mają nadzieję, że powołanie Konsorcjum Badań Genetycznych w Psychiatrii (Psychiatric Genomics Consortium, PGC), a w jego ramach grupy roboczej ADHD, skupiającej ponad 100 naukowców z 14 krajów, pozwoli zebrać dużą kohortę pacjentów i wytypować geny predyspozycji również w ADHD [45]. Jednak należy pamiętać, że wiele z tych genów i polimorfizmów ma tylko niewielki wpływ na indywidualne ryzyko choroby, jak również istnieją dowody, że te same zestawy genów mogą być związane z różnymi zaburzeniami psychicznymi [46].

Genetyka i obrazowanie

Obrazowanie genetyczne (*imaging genetics*, IG) to połączenie metodologii neuroobrazowania i analizy genetycznej, które daje możliwość zwiększenia wiedzy o biologicznych mechanizmach neurorozwojowych. Celem badań jest ujawnienie związku między określonymi wariantami genetycznymi a funkcją i strukturą mózgu [45]. Selekcja fenotypów pośrednich z danych neuroobrazowych opiera się na założeniu, że fizjologia mózgu jest etiologicznie bliższa biologii molekularnej niż fenotypy behawioralne, a zatem istnieją silniejsze korelacje między strukturą mózgu a zmiennością genetyczną [47]. Badania IG w ADHD koncentrują się na genach kandydujących w układzie dopaminergicznym i strukturze zwojów podstawy mózgu głównie z wykorzystaniem strukturalnego rezonansu magnetycznego (MRI) [48]. Zaobserwowane zmiany neurorozwojowe w przewodnictwie glutaminergicznym obwodów czołowo-prążkowych wydają się interesującym kierunkiem badań [30]. Dotychczasowe badania wykorzystywały analizy uwzględniające pojedyncze warianty genów z jednym wybranym regionem mózgu [48].

Wykorzystanie wielowymiarowych strategii analitycznych może przyczynić się do identyfikacji wariantów genetycznych wpływających na rozwój mózgu [49]. W szczególności badania uwzględniające analizę szlaków (*pathway-based analysis*, PBA) zwiększają możliwości identyfikacji czynników genetycznych związanych z ADHD [50, 51].

Pośrednie fenotypy w ADHD

Zawężenie fenotypu przez zastosowanie endofenotypu lub fenotypu pośredniego to strategia, która umożliwia w chorobach złożonych ukierunkowane poszukiwanie

markerów genetycznych. W przypadku ADHD jako potencjalne fenotypy pośrednie testowano między innymi cechy neurofizjologiczne/neuropsychologiczne, neuroobrazowe, farmakogenetyczne i biochemiczne. Do najbardziej obiecujących zaliczono stosunek fal theta/beta w badaniu elektroencefalograficznym (EEG) [52], zmienny czas reakcji [53] czy też funkcje wykonawcze [54]. Niestety, dalsze badania wykazały, że markery te mają niską czułość i swoistość w zaburzeniach klinicznych, a zatem nie spełniają warunków stawianych markerom diagnostycznym [55]. Mimo to Pinto i wsp. [55] postanowili przeanalizować wybrane fenotypy pośrednie (nadpobudliwość/impulsywność, zaburzenia uwagi, trudności z czytaniem, zmienność czasu reakcji (*reaction time variability*, RTV) i częstość popełniania błędów/pomyłek (*commission errors*, CE)), ich związek z wybranymi polimorfizmami, a następnie zidentyfikować zależności z ryzykiem ADHD. Najsilniejszy związek zaobserwowano pomiędzy polimorfizmem genu receptora serotoniny HTR2A (rs7984966) i zmiennym czasem reakcji. Autorzy przypuszczają, że w tym wypadku istnieje nałożenie się wpływu analizowanego polimorfizmu zarówno z diagnozą ADHD, jak i współwystępującym zaburzeniem RTV i CE.

W świetle wyników, którymi obecnie dysponujemy, i braku swoistości endofenotypu wymagane są dalsze badania [56].

Badania farmakogenetyczne w ADHD

Większość dotychczasowych badań farmakogenetycznych dotyczyło metylofenidatu (MPH), który pozostaje lekiem pierwszego wyboru w leczeniu dzieci z ADHD w wieku 6–17 lat. Mechanizm działania MPH w ADHD nie jest w pełni znany. Prawdopodobnie działa przez stymulację korową oraz pobudzanie aktywującego tworów siatkowatego. Metylofenidat hamuje wychwyt zwrotny noradrenaliny i dopaminy i w ten sposób zwiększa uwalnianie tych monoamin do przestrzeni synaptycznej. Około 35% pacjentów z ADHD nie reaguje na leczenie MPH lub doznaje działań niepożądanych. Badania farmakogenetyczne wykazały związek objawów niepożądanych z niektórymi polimorfizmami, np.: zmniejszenie apetytu i smutek (CES1 rs12443580); mimowolne wysuwanie języka i drażliwość (SNAP25 rs3746544), rozkurczowe ciśnienie krwi (ADRA2A rs1800544), dolegliwości emocjonalne i somatyczne (SLC6A3/DAT1 48bp VNTR), wycofanie społeczne (DRD4 48bp VNTR), objawy wegetatywne (SLC6A4/5-HTTLPR), tiki (SLC6A4/5-HTTLPR, SNAP25 rs3746544). Niemniej zastosowanie różnych protokołów badawczych nie pozwala na jednoznaczne wnioskowanie [57]. Gomez-Sanchez i wsp. [57] przeanalizowali związek 34 wariantów genetycznych z odpowiedzią na leczenie MPH. Potwierdzili jedynie umiarkowany wpływ 4 genów (SLC6A3/DAT1, DRD4, SNAP25, ADGRL3) na wynik leczenia MPH oraz związek 2 genów (SLC6A3/DAT, DRD2) z odpowiedzią na leczenie w ciągu 12 miesięcy. Analizowane polimorfizmy pozwoliły wyjaśnić około 20% wariancji/zmienności odpowiedzi na leczenie MPH, co potwierdza znaczny udział innych czynników, których odkrycie wymaga dalszych badań [58]. Wskazuje się również, że genotyp C/C polimorfizmu rs2284411 genu GRIN2B jest związany ze znacznie lepszą odpowiedzią na leczenie MPH, a zatem może być ważnym predykatorem [59].

Atomoksetyna była pierwszym niestymulującym lekiem stosowanym w leczeniu ADHD. Atomoksetyna jest selektywnym inhibitorem wychwytu zwrotnego noradrenaliny metabolizowanym przez CYP2D6. Osoby wolno metabolizujące lek (z dwiema niefunkcjonalnymi kopiami genu) mają wyższe stężenia atomoksetyny w osoczu. Takim osobom można podać standardową dawkę atomoksetyny, pod warunkiem monitorowania działań niepożądanych. Wobec osób z ultraszybkim metabolizmem, które mają więcej niż trzy funkcjonalne kopie genu, lekarze powinni być wyczuleni na zmniejszoną efektywność leku i w razie potrzeby zastosować inny lek [60]. Jest to jak na razie jedyny wynik o znaczeniu praktycznym. W leczeniu ADHD stosuje się również leki z innych grup, np.: trójpierścieniowe leki przeciwdepresyjne (imipramina, amitryptylina, dezypramina, klomipramina), alfa-mimetyki (klonidyna, guanfacyna) i inne leki przeciwdepresyjne (bupropion, moklobemid, reboksetyna, wenlafaksyna), jednak obecnie nie ma dostępnych wyników badań farmakogenetycznych w ADHD.

Badania farmakogenetyczne mają istotne znaczenie dla prawidłowej i bezpiecznej farmakoterapii dzieci z ADHD. Jednakże dotychczasowe nieliczne analizy uzasadniają konieczność dalszych badań.

Profilowanie ekspresji genów

Profilowanie ekspresji genów w korze przedczołowej pozwoliło na identyfikację 21 genów o zwiększonej ekspresji na modelu zwierzęcym ADHD. Wśród tych genów siedem ma znaną funkcję biologiczną: *Atxn7*, *Kcna2*, *Pbld*, *Per2*, *Rtel1*, *Zfp317* oraz *Zfp 597*. Kolejne 36 genów charakteryzowało się obniżoną ekspresją, niemniej tylko w przypadku 14 z nich ustalono związek z konkretnymi procesami biologicznymi. Badania replikacyjne potwierdziły zwiększoną ekspresję genów *Atxn7* i *Per2*, które są zaangażowane odpowiednio w procesy transkrypcji i rytmu okołodobowego. Zastosowanie amfetaminy u zwierząt modelowych spowodowało skuteczne obniżenie ekspresji tych genów. Uzyskane wyniki wydają się potwierdzać rolę obu genów z hiperaktywnym fenotypem ADHD [61]. Z kolei w badaniu pilotażowym Grunblatt i wsp. [61] zidentyfikowali zwiększoną ekspresję 5 genów (*SLC6A3*, *DRD4*, *DRD5*, *SNAP-25*, *TPH1*) oraz obniżenie ekspresji genu *CRHBP* we krwi obwodowej pacjentów z ADHD w porównaniu z grupą kontrolną [62].

Proces ekspresji genów kodujących białka zachodzi w kilkunastu etapach, z których każdy podlega różnym mechanizmom regulacji. Z tego względu są to najtrudniejsze badania od strony metodologicznej i interpretacyjnej.

Biomarkery obwodowe w diagnostyce ADHD

Biomarkery są wskaźnikami biologicznymi, których badanie pozwala na jakościowe lub ilościowe oceny różnych stanów, zjawisk lub cech biologicznych [63]. W psychiatrii biomarker powinien dodatkowo umożliwiać badania przesiewowe, diagnostyczne, przewidywanie rozwoju choroby i odpowiedź na leczenie. Pomimo testowania licznych cech neuropsychologicznych, neurofizjologicznych, neuroobrazowych, farmakologicznych lub biochemicznych nadal nie dysponujemy uznanymi markerami. Obecnie najbardziej

obiecującym polem badań jest analiza proteomu surowicy, moczu lub śliny. Dysponujemy nielicznymi wynikami badań w ADHD. Zaobserwowano obniżony poziom enzymów MAOA i DBH w surowicy krwi pacjentów z ADHD w porównaniu z grupą kontrolną. Wymienione enzymy biorą udział w metabolizmie dopaminy, serotoniny i noradrenaliny [64]. Wyższe stężenia w surowicy pacjentów z ADHD dotyczyły również adiponektyny i białek stresu oksydacyjnego, takich jak malondialdehyd (MAD), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), paraoksonaza (PON1) czy arylesteraza (ARES). Wyższy był też poziom całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS), statusu oksydacyjnego (TOS) oraz wskaźnik stresu oksydacyjnego (OSI) [65]. Duże nadzieje wiązano z białkami biorącymi udział w rozwoju mózgu, takimi jak BDNF, NGF lub NO, ale sprzeczne wyniki z różnych badań nie pozwalają na jednoznaczne wnioski. Podobnie w przypadku szlaku przemiany tryptofanu – szlaku kinureninowego (tryptofan, kinurenina, kwas kinureninowy, 3-hydroksykinurenina) – nie uzyskano jednoznacznych wyników. W przypadku biomarkerów niebiałkowych, takich jak kwas arachidonowy (AA), kwas dokozaheksaenowy (DHA) i kwas eikozapentaenowy (EPA), oraz kortyzol, obserwowano niższe stężenia w surowicy pacjentów z ADHD w porównaniu z grupą kontrolną [64]. Stężenie norepinefryny (NE) było wyższe w surowicy krwi pacjentów z ADHD, podczas gdy stężenie głównego metabolitu (3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikol, MHPG) w moczu pacjentów z ADHD było niższe niż w grupie kontrolnej [64]. Cynk jako niezbędny kofaktor metabolizmu neuroprzekazników wykazywał obniżone stężenie w surowicy, osoczu i moczu pacjentów z ADHD.

Dotychczasowe nieliczne i często niejednoznaczne wyniki analizy biomarkerów obwodowych wymagają dalszych badań [66].

Epigenetyka – związek między genami a czynnikami środowiskowymi

Epigenetyka jest związana z procesami molekularnymi, które zmieniają ekspresję genów bez modyfikowania ich sekwencji. Modyfikacje epigenetyczne można dziedziczyć, ale uważa się je za elastyczne i odwracalne. Jeśli jednak zmiany epigenetyczne wystąpią w krytycznych stadiach rozwoju, mogą być nieodwracalne i powodować chorobę [67]. Dlatego ich znaczenie jest szczególnie podkreślane w chorobach neuropsychiatrycznych. Fakt istnienia interakcji czynników genetycznych i środowiskowych w etiologii ADHD potwierdza brak pełnej zgodności we współzachorowalności na ADHD bliźniąt monozygotycznych. Ta niezgodność sugeruje, że oprócz predyspozycji genetycznych ekspozycja na czynniki środowiskowe wpływa na rozwój choroby. Łącznikiem między środowiskiem a ekspresją genów są właśnie mechanizmy epigenetyczne. W badaniach udowodniono, że ekspozycja na czynniki toksyczne, stres matki w czasie ciąży, niska masa urodzenia czy problemy psychospołeczne są istotnymi czynnikami ryzyka ADHD. Za dowód wpływu czynników środowiska za pośrednictwem epigenetyki uznaje się złagodzenie objawów nadruchliwości i impulsywności postępujące z wiekiem pacjentów z ADHD.

Mechanizmy epigenetyczne obejmują kilka poziomów: modyfikację chromatyny poprzez modyfikację histonów (potranslacyjne modyfikacje histonów, w tym fosforylację, acetylację, metylację i ubikwitynację) oraz metylację cytozyny w dinukleotydach CpG. Mechanizmy epigenetyczne obejmują również regulację ekspresji genów opartą

na miRNA. Dotychczas modyfikacje histonów zaobserwowano tylko w badaniach na modelu zwierzęcym ADHD. Zwiększony poziom acetylacji histonów obserwowano w hipokampie szczura po przewlekłej ekspozycji na ołów. Wyniki te wskazują, że acetylacja histonów może odgrywać istotną rolę w patogenezie ADHD związanej z substancjami toksycznymi. Co ciekawe, nie stwierdzono istotnych zmian w ekspresji białek szlaku dopaminergicznego związanych z etiologią ADHD. Większość badań koncentruje się na profilach metylacji promotorów genów związanych z etiologią ADHD.

W prospektywnym badaniu u dzieci tuż po urodzeniu van Mil i wsp. [67] zaobserwowali niższe poziomy metylacji w przypadku siedmiu genów (DRD4, 5-HTT, IGF, 2DMR, H19, KCNQ1OT1, MTHFR, NR3C1). Niższy poziom metylacji tych genów był związany z cięższymi objawami ADHD ocenianymi u dzieci w wieku sześciu lat. Xu i wsp. [68] zaobserwowali odmienny wzorzec metylacji genu DRD4 u dzieci z ADHD w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Z kolei Perroud i wsp. [69] odnotowali korelację pomiędzy odmiennym wzorem metylacji genu HTR3A u pacjentów z ADHD a przeżyciem traumy dziecięcej i większym nasileniem objawów choroby. W jednym z ostatnich badań [70] wskazano, że stres matki w ciąży może zaburzać metylację genu DRD4 u dziecka. Poziom metylacji przekłada się na poziom produktu białkowego, tzn. gęstość receptorów DRD4, który bezpośrednio wiąże się ze skutecznością leczenia MPH i poprawą funkcji wykonawczych. Niestety, na tym etapie badań nie udało się wyjaśnić mechanizmu stwierdzonych zależności.

Badania asocjacyjne metylomu (*methylome extensive associations study*, MWAS) u dzieci z ADHD wykazały obniżony poziom metylacji CpG genu VIPR2. Jak dotąd VIPR2 (wazoaktywny receptor peptydu jelitowego 2) nie był związany z etiologią ADHD [71], choć jego duplikacja łączyła się ze zwiększonym ryzykiem schizofrenii [72]. Druga analiza metylomu dzieci z ADHD przeprowadzona przez Waltona i wsp. [73] nie potwierdziła wcześniejszych wyników. Należy podkreślić, że nieliczne badania metylomu u pacjentów z ADHD i rozbieżne wyniki wynikające z zastosowania odmiennej metodologii, materiału biologicznego i grupy etnicznej nie pozwalają na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków.

Baykal i wsp. [74] zastosowali dość oczywiste, aczkolwiek wcześniej niewykorzystywane podejście do analizy interakcji genów i środowiska w ocenie ryzyka rozwoju ADHD. Dowiedli oni związku funkcjonalnego polimorfizmu rs1801133 (C677T) reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) matek z ryzykiem rozwoju ADHD. Warunkowanie polimorfizmu, czyli zredukowanego enzymu u matek, powodowało, że dzieci w trakcie ciąży były narażone na niedobory kwasu foliowego pomimo właściwej suplementacji. Badanie to wskazuje nowy kierunek w poszukiwaniu zarówno genetycznych, jak i środowiskowych czynników ryzyka ADHD.

Badania epigenetyczne pozwalają na odkrycie mechanizmów kontroli ekspresji genów przy pomocy czynników środowiskowych (zdrowy styl życia). Stanowi to niewyobrażalny potencjał „zarządzania” objawami choroby, który czeka na dalsze odkrycia.

Rola mikroRNA w etiologii ADHD

Na poziomie epigenetycznym, oprócz modyfikacji histonów i metylacji DNA, regulacja ekspresji mRNA jest istotnym mechanizmem, którego niewłaściwe działanie

może wpływać na rozwój zaburzeń psychicznych [75]. W szczególności miRNA jest uważany za ważny filar epigenetycznej regulacji ekspresji genów. Odkrycie mikroRNA (miRNA) nastąpiło w latach 90. XX wieku podczas badań nad rozwojem larw nicienia *caenorhabditis elegans*. miRNA są krótkimi (18–25 nukleotydów) niekodującymi sekwencjami RNA. Geny kodujące miRNA mogą być zlokalizowane zarówno w intronach i eksonach genów kodującego białka, jak i w sekwencjach pozagenowych [76]. miRNA mają zdolność wiązania się do wybranych mRNA, przez co powodują zahamowanie lub ograniczenie translacji [77]. Prawdopodobnie pod kontrolą jednego miRNA istnieją setki sekwencji docelowych, co w praktyce oznacza, że większość genów kodujących białka znajduje się pod ich kontrolą. Tym samym każdy proces biologiczny jest zależny od działania miRNA. Uważa się, że niewielkie obniżenie ekspresji genów pod wpływem miRNA ma funkcje regulacyjne, może być dobrze tolerowane przez organizm i nie przejawiać się fenotypowo. Jednakże badania na modelach zwierzęcych dowodzą, że w pewnych przypadkach nawet słaba represja ekspresji, ale za to wielu genów, może mieć poważne konsekwencje fenotypowe. Przykładem jest delecja genu miR-128 u myszy, prowadząca do śmiertelnej padaczki. Dlatego w ostatnich latach prowadzone są intensywne badania nad użytecznością miRNA jako markerów molekularnych różnych chorób.

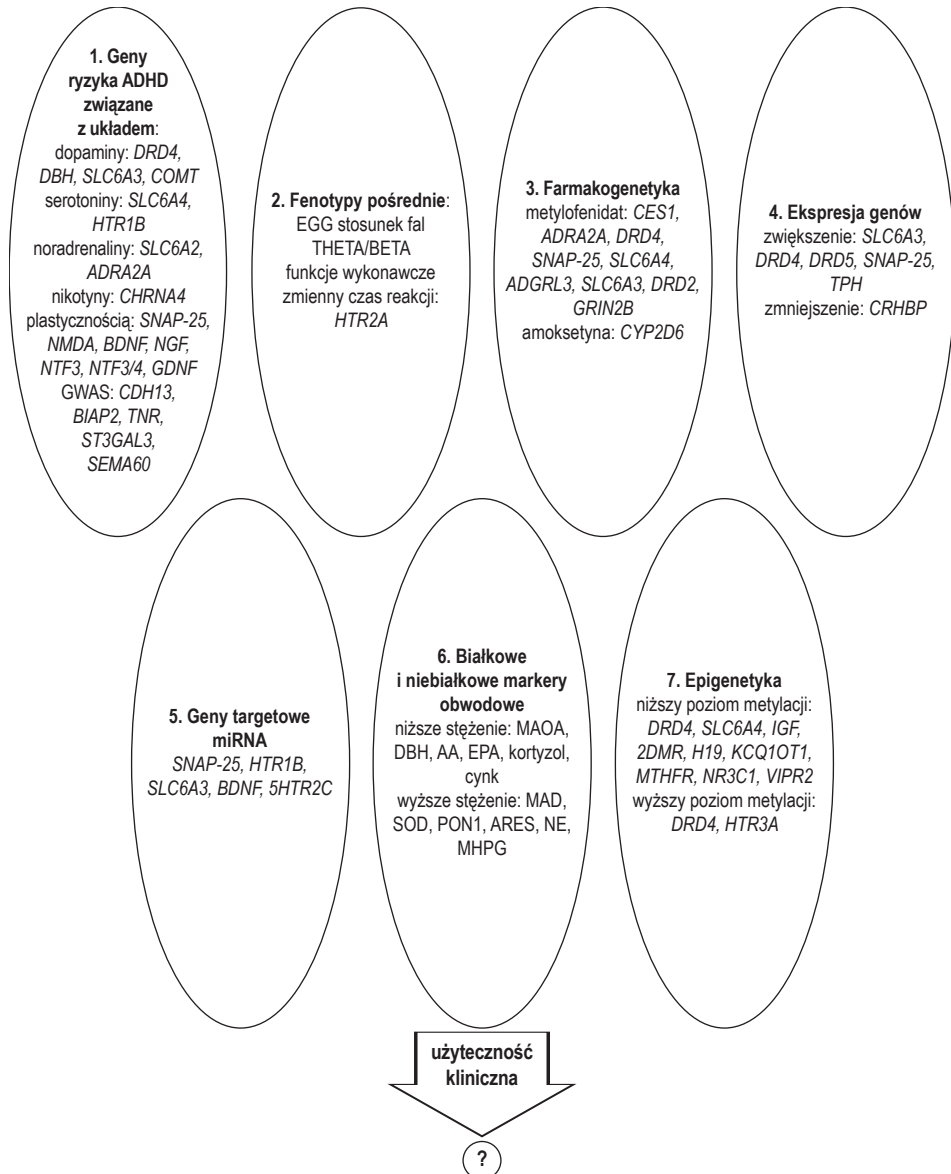
W zaburzeniach neuropsychiatrycznych również zwrócono uwagę na potencjał epigenetyczny miRNA po udowodnieniu, że biorą udział w rozwoju mózgu [78]. 70% znanych miRNA zidentyfikowano w mózgu, gdzie odgrywają znaczącą rolę w regulacji procesów strukturalnych, rozwojowych i funkcjonalnych zarówno na poziomie komórkowym, jak i tkankowym [79]. Systematyczny przegląd literatury autorstwa Srivastawa pozwolił na identyfikację 14 miRNA o zmienionej ekspresji u pacjentów z ADHD [80, 81]. Wśród docelowych genów regulowanych przez miRNA znalazły się geny wcześniej wiązane z etiologią ADHD, takie jak: SNAP-25 (miR-641), HTR1B (miR-96), DAT1 (miR-30b-5p, miR-1301 i miR-6070), BDNF (miR-138-1, miR-34c, miR-296 i miR-494) i HTR2C (miR-34c-3p i miR-34b-3p). Wymienione geny biorą udział w różnych procesach, takich jak plastyczność neuronalna, migracja, adhezja i sygnalizacja komórkowa. Ponadto wśród zidentyfikowanych miRNA są również potencjalnie zaangażowane w procesy regulacji, takie jak: uszkodzenie DNA (miR-18a-5p), stres oksydacyjny (miR-24-3p, miR-106b-5p), niedotlenienie (miR125b-5p) lub strukturalne (miR-107) czy funkcjonalne (miR-155-5p) zmiany w OUN [80, 81].

Przedstawione wyniki podkreślają ważną rolę miRNA w etiologii ADHD i potwierdzają kluczową rolę genów kandydujących związanych z ADHD. Jednak niektóre miRNA związane z ADHD są również związane z zaburzeniami takimi jak schizofrenia, depresja, zaburzenia ze spektrum autyzmu czy choroba Alzheimera, co utrudnia wnioskowanie na obecnym etapie badań.

Wyzwania badawcze

Biorąc pod uwagę wnioski naukowców zajmujących się badaniami ADHD, w dalszych analizach należy zwrócić uwagę na:

1. Zastosowanie rygorystycznych kryteriów doboru pacjentów z ADHD (kryteria włączenia i wykluczenia z badania), które powinny być opracowane odpowiednio dla dzieci, młodzieży i dorosłych.



Rycina. Podsumowanie istotnych genetycznych i niegenetycznych biomarkerów ADHD (wyjaśnienie akronimów genów zamieszczone w tekście)

2. Przestrzeganie ustalonego protokołu, uwzględniającego czas trwania badania, rodzaj materiału biologicznego i stosowanego leczenia farmakologicznego.
3. Uwzględnienie odpowiednio licznych grup pacjentów dla wykrycia interakcji czynników genetycznych i środowiskowych.
4. Wykonywanie oznaczeń genetycznych w laboratoriach biorących udział w wewnętrznej i zewnętrznej kontroli jakości.
5. Pochodzenie etniczne badanych ze względu na efekt stratyfikacji.
6. Wybór analizowanych genów, który powinien być poprzedzony analizami przesiewowymi, np. z wykorzystaniem metod GWAS, a następnie zreplikowany innymi metodami.
7. Użycie zintegrowanych analiz danych pochodzących z badań GWAS, ekspresji genów i ich metylacji w celu optymalnej priorytetyzacji genów związanych z ryzykiem ADHD.

Zastosowania kliniczne

Badanie biomarkerów neuropsychiatrycznych jest złożone ze względu na niejednorodny obraz kliniczny zaburzeń psychicznych. Dlatego wydaje się, że nie jest możliwe znalezienie jednego biomarkera, który pozwoli na jednoznaczną identyfikację choroby, predykcję jej rozwoju czy odpowiedzi na leczenie. Bardziej prawdopodobna wydaje się identyfikacja zestawu biomarkerów dla poszczególnych podtypów zaburzeń, cech lub objawów, z których każdy opiera się na swoistych szlakach biologicznych, a tym samym może wiązać się z bardziej skuteczną odpowiedzią na leczenie. Faraone i wsp. [55] zaproponowali hipotetyczną piramidę biomarkerów o potencjale diagnostycznym w ADHD. Na szczycie piramidy znalazły się warianty genów transportera dopaminy (DAT1, SLC6A3) oraz receptora dopaminy D4 (DRD4) ze względu na ich najlepiej udokumentowany związek z procesami neuropsychologicznymi, aktywacją w określonych obszarach mózgu, odpowiedzią na metylofenidat i zmienioną ekspresję obserwowaną u pacjentów z ADHD. Kolejny poziom jest reprezentowany przez układ noradrenergiczny (transporter noradrenaliny (NET1, SLC6A2), noradrenalina (NE), glikol 3-metoksy-4-hydroksyfenylowy (MHPG), monoaminoooksydaza (MAO), neuropeptyd Y (NPY)) ze względu na możliwość obserwacji zmian obwodowych oraz ich związek z procesami neuropsychologicznymi, objawami ADHD, działaniem leków i funkcjonowaniem mózgu. Kolejny poziom reprezentują biomarkery genetyczne: hydroksylaza dopaminy (DBH) i katechol-O-metylotransferaza (COMT). Pomimo pierwotnie obiecujących wyników z szerokiego zakresu badań molekularnych oraz licznych modeli predykcyjnych nadal nie dysponujemy uznanymi biomarkerami, które pozwoliłyby na potwierdzenie diagnozy czy prognozowanie indywidualnej odpowiedzi na leczenie w przypadku ADHD.

Piśmiennictwo

1. Polanczyk G, de Lima MS, Horta BL, Biederman J, Rohde LA. *The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and meta-regression analysis*. Am. J. Psychiatry 2007; 164(6): 942-948.
2. Kessler RC, Adler L, Barkley R, Biederman J, Conners CK, Demler O i wsp. *The prevalence and correlates of adult ADHD in the United States: results from the National Comorbidity Survey Replication*. Am. J. Psychiatry 2006; 163(4): 716-723.
3. Larsson H, Lichtenstein P, Larsson JO. *Genetic contributions to the development of ADHD subtypes from childhood to adolescence*. J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 2006; 45(8): 973-981.
4. Pastor PN, Reuben CA. *Diagnosed attention deficit hyperactivity disorder and learning disability: United States, 2004-2006*. Vital Health Stat. 10 2008; (237): 1-14.
5. Mick E, Neale B, Middleton FA, McGough JJ, Faraone SV. *Genome-wide association study of response to methylphenidate in 187 children with attention-deficit/hyperactivity disorder*. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2008; 147B(8): 1412-1418.
6. McGough JJ, Smalley SL, McCracken JT, Yang M, Del'Homme M, Lynn DE i wsp. *Psychiatric comorbidity in adult attention deficit hyperactivity disorder: findings from multiplex families*. Am. J. Psychiatry 2005; 162(9): 1621-1627.
7. Biederman J, Mick E, Faraone SV, Spencer T, Wilens TE, Wozniak J. *Pediatric mania: a developmental subtype of bipolar disorder?* Biol. Psychiatry 2000; 48(6): 458-466.
8. Elkins RM, Carpenter AL, Pincus DB, Comer JS. *Inattention symptoms and the diagnosis of comorbid attention-deficit/hyperactivity disorder among youth with generalized anxiety disorder*. J. Anxiety Disord. 2014; 28(8): 754-760.
9. Faraone SV, Larsson H. *Genetics of attention deficit hyperactivity disorder*. Mol. Psychiatry 2019; 24(4): 562-575.
10. Brahmabhatt K, Hilty DM, Hah M, Han J, Angkustsiri K, Schweitzer JB. *Diagnosis and Treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder During Adolescence in the Primary Care Setting: A Concise Review*. J. Adolesc. Health 2016; 59(2): 135-143.
11. Shaw P, Eckstrand K, Sharp W, Blumenthal J, Lerch JP, Greenstein D i wsp. *Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation*. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2007; 104(49): 19649-19654.
12. Cha J, Fekete T, Siciliano F, Biezonski D, Greenhill L, Pliszka SR i wsp. *Neural Correlates of Aggression in Medication-Naive Children with ADHD: Multivariate Analysis of Morphometry and Tractography*. Neuropsychopharmacology 2015; 40(7): 1717-1725.
13. Lesch KP. *Editorial: Can dysregulated myelination be linked to ADHD pathogenesis and persistence?* J. Child. Psychol. Psychiatry 2019; 60(3): 229-231.
14. Klein M, Walters RK, Demontis D, Stein JL, Hibar DP, Adams HH i wsp. *Genetic Markers of ADHD-Related Variations in Intracranial Volume*. Am. J. Psychiatry 2019; 176(3): 228-238.
15. Gallo EF, Posner J. *Moving towards causality in attention-deficit hyperactivity disorder: overview of neural and genetic mechanisms*. Lancet Psychiatry 2016; 3(6): 555-567.
16. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. *The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease*. Ann. N Y Acad. Sci. 2008; 1124: 1-38.
17. Chen AC, Oathes DJ, Chang C, Bradley T, Zhou ZW, Williams LM i wsp. *Causal interactions between fronto-parietal central executive and default-mode networks in humans*. Proc. Natl. Acad. Sci U S A 2013; 110(49): 19944-19949.
18. Peterson BS, Potenza MN, Wang Z, Zhu H, Martin A, Marsh R i wsp. *An FMRI study of the effects of psychostimulants on default-mode processing during Stroop task performance in youths with ADHD*. Am. J. Psychiatry 2009; 166(11): 1286-1294.

19. Rubia K, Halari R, Cubillo A, Mohammad AM, Brammer M, Taylor E. *Methylphenidate normalises activation and functional connectivity deficits in attention and motivation networks in medication-naïve children with ADHD during a rewarded continuous performance task*. *Neuropharmacology* 2009; 57(7-8): 640-652.
20. Hoogman M, Muetzel R, Guimaraes JP, Shumskaya E, Mennes M, Zwiers MP i wsp. *Brain Imaging of the Cortex in ADHD: A Coordinated Analysis of Large-Scale Clinical and Population-Based Samples*. *Am. J. Psychiatry* 2019: appiajp201918091033.
21. van Hulst BM, de Zeeuw P, Rijks Y, Neggers SFW, Durston S. *What to expect and when to expect it: an fMRI study of expectancy in children with ADHD symptoms*. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry* 2017; 26(5): 583-590.
22. Zoratto F, Tringali AL, Bellenchi G, Speranza L, Travaglini D, di Porzio U i wsp. *Impulsivity and home-cage activity are decreased by lentivirus-mediated silencing of serotonin transporter in the rat hippocampus*. *Neurosci Lett*. 2013; 548: 38-43.
23. Rubia K, Alegria AA, Cubillo AI, Smith AB, Brammer MJ, Radua J. *Effects of stimulants on brain function in attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis*. *Biol. Psychiatry* 2014; 76(8): 616-628.
24. Geschwind DH, Flint J. *Genetics and genomics of psychiatric disease*. *Science* 2015; 349(6255): 1489-1494.
25. Pettersson E, Lichtenstein P, Larsson H, Song J, Attention Deficit/Hyperactivity Disorder Working Group of the iPsych-Broad-Pgc Consortium ASDWGoti-B-PGCCBDWG, Tourette Syndrome Working Group of the Pgc SCSUDWGotPGC i wsp. *Genetic influences on eight psychiatric disorders based on family data of 4 408 646 full and half-siblings, and genetic data of 333 748 cases and controls – CORRIGENDUM*. *Psychol. Med.* 2019; 49(2): 351.
26. Tripp G, Wickens JR. *Neurobiology of ADHD*. *Neuropharmacology* 2009; 57(7-8): 579-589.
27. Rivero O, Selten MM, Sich S, Popp S, Bacmeister L, Amendola E i wsp. *Cadherin-13, a risk gene for ADHD and comorbid disorders, impacts GABAergic function in hippocampus and cognition*. *Transl. Psychiatry* 2015; 5: e655.
28. Mavroconstanti T, Johansson S, Winge I, Knappskog PM, Haavik J. *Functional properties of rare missense variants of human CDH13 found in adult attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) patients*. *PLoS One* 2013; 8(8): e71445.
29. Salatino-Oliveira A, Genro JP, Polanczyk G, Zeni C, Schmitz M, Kieling C i wsp. *Cadherin-13 gene is associated with hyperactive/impulsive symptoms in attention/deficit hyperactivity disorder*. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 2015; 168B(3): 162-169.
30. Klein M, Onnink M, van Donkelaar M, Wolfers T, Harich B, Shi Y i wsp. *Brain imaging genetics in ADHD and beyond – Mapping pathways from gene to disorder at different levels of complexity*. *Neurosci Biobehav. Rev* 2017; 80: 115-155.
31. Brookes K, Xu X, Chen W, Zhou K, Neale B, Lowe N i wsp. *The analysis of 51 genes in DSM-IV combined type attention deficit hyperactivity disorder: association signals in DRD4, DAT1 and 16 other genes*. *Mol. Psychiatry* 2006; 11(10): 934-953.
32. Johansson S, Hallelund H, Halmoy A, Jacobsen KK, Landaas ET, Dramsdahl M i wsp. *Genetic analyses of dopamine related genes in adult ADHD patients suggest an association with the DRD5-microsatellite repeat, but not with DRD4 or SLC6A3 VNTRs*. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet* 2008; 147B(8): 1470-1475.
33. Bonvicini C, Faraone SV, Scassellati C. *Attention-deficit hyperactivity disorder in adults: A systematic review and meta-analysis of genetic, pharmacogenetic and biochemical studies*. *Mol. Psychiatry* 2016; 21(7): 872-884.

34. Zhang L, Chang S, Li Z, Zhang K, Du Y, Ott J i wsp. *ADHDgene: a genetic database for attention deficit hyperactivity disorder*. Nucleic Acids Res. 2012; 40(Database issue): D1003-1009.
35. Millenet SK, Nees F, Heintz S, Bach C, Frank J, Vollstadt-Klein S i wsp. *COMT Val158Met Polymorphism and Social Impairment Interactively Affect Attention-Deficit Hyperactivity Symptoms in Healthy Adolescents*. Front Genet. 2018; 9: 284.
36. Palladino VS, McNeill R, Reif A, Kittel-Schneider S. *Genetic risk factors and gene-environment interactions in adult and childhood attention-deficit/hyperactivity disorder*. Psychiatr. Genet. 2019; 29(3): 63-78.
37. Hawi Z, Yates H, Pinar A, Arnatkeviciute A, Johnson B, Tong J i wsp. *A case-control genome-wide association study of ADHD discovers a novel association with the tenascin R (TNR) gene*. Transl. Psychiatry 2018; 8(1): 284.
38. Demontis D, Walters RK, Martin J, Mattheisen M, Als TD, Agerbo E i wsp. *Discovery of the first genome-wide significant risk loci for attention deficit/hyperactivity disorder*. Nat. Genet. 2019; 51(1): 63-75.
39. Fahira A, Li Z, Liu N, Shi Y. *Prediction of causal genes and gene expression analysis of attention-deficit hyperactivity disorder in the different brain region, a comprehensive integrative analysis of ADHD*. Behav. Brain Res. 2019; 364: 183-192.
40. Hayman V, Fernandez TV. *Genetic Insights Into ADHD Biology*. Front Psychiatry 2018; 9: 251.
41. Akutagava-Martins GC, Salatino-Oliveira A, Genro JP, Contini V, Polanczyk G, Zeni C i wsp. *Glutamatergic copy number variants and their role in attention-deficit/hyperactivity disorder*. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2014; 165B(6): 502-509.
42. Lesch KP, Selch S, Renner TJ, Jacob C, Nguyen TT, Hahn T i wsp. *Genome-wide copy number variation analysis in attention-deficit/hyperactivity disorder: association with neuropeptide Y gene dosage in an extended pedigree*. Mol. Psychiatry 2011; 16(5): 491-503.
43. Williams NM, Franke B, Mick E, Anney RJ, Freitag CM, Gill M i wsp. *Genome-wide analysis of copy number variants in attention deficit hyperactivity disorder: the role of rare variants and duplications at 15q13.3*. Am. J. Psychiatry 2012; 169(2): 195-204.
44. Stergiakouli E, Hamshere M, Holmans P, Langley K, Zaharieva I, de CG i wsp. *Investigating the contribution of common genetic variants to the risk and pathogenesis of ADHD*. Am. J. Psychiatry 2012; 169(2): 186-194.
45. Glahn DC, Paus T, Thompson PM. *Imaging genomics: mapping the influence of genetics on brain structure and function*. Hum. Brain Mapp. 2007; 28(6): 461-463.
46. Hammerschlag AR, de Leeuw CA, Middeldorp CM, Polderman TJC. *Synaptic and brain-expressed gene sets relate to the shared genetic risk across five psychiatric disorders*. Psychol. Med. 2020; 50(10): 1695-1705.
47. Zayed A, Robinson GE. *Understanding the relationship between brain gene expression and social behavior: lessons from the honey bee*. Annu. Rev. Genet. 2012; 46: 591-615.
48. Vilor-Tejedor N, Caceres A, Pujol J, Sunyer J, Gonzalez JR. *Imaging genetics in attention-deficit/hyperactivity disorder and related neurodevelopmental domains: state of the art*. Brain Imaging Behav. 2017; 11(6): 1922-1931.
49. Liu J, Calhoun VD. *A review of multivariate analyses in imaging genetics*. Front Neuroinform. 2014; 8: 29.
50. Bralten J, Franke B, Waldman I, Rommelse N, Hartman C, Asherson P i wsp. *Candidate genetic pathways for attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) show association to hyperactive/impulsive symptoms in children with ADHD*. J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 2013; 52(11): 1204-1212 e1201.

51. Mous SE, Hammerschlag AR, Polderman TJ, Verhulst FC, Tiemeier H, van der Lugt A i wsp. *A Population-Based Imaging Genetics Study of Inattention/Hyperactivity: Basal Ganglia and Genetic Pathways*. J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 2015; 54(9): 745-752.
52. Yener GG, Basar E. *Brain oscillations as biomarkers in neuropsychiatric disorders: following an interactive panel discussion and synopsis*. Suppl. Clin. Neurophysiol. 2013; 62: 343-363.
53. Kofler MJ, Rapport MD, Sarver DE, Raiker JS, Orban SA, Friedman LM i wsp. *Reaction time variability in ADHD: a meta-analytic review of 319 studies*. Clin. Psychol. Rev. 2013; 33(6): 795-811.
54. Lange KW, Hauser J, Lange KM, Makulska-Gertruda E, Takano T, Takeuchi Y i wsp. *Utility of cognitive neuropsychological assessment in attention-deficit/hyperactivity disorder*. Atten. Defic. Hyperact. Disord. 2014; 6(4): 241-248.
55. Faraone SV, Bonvicini C, Scassellati C. *Biomarkers in the diagnosis of ADHD — promising directions*. Curr. Psychiatry Rep. 2014; 16(11): 497.
56. Pinto R, Asherson P, Iliot N, Cheung CH, Kuntsi J. *Testing for the mediating role of endophenotypes using molecular genetic data in a twin study of ADHD traits*. Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 2016; 171(7): 982-992.
57. Joensen B, Meyer M, Aagaard L. *Specific Genes Associated with Adverse Events of Methylphenidate Use in the Pediatric Population: A Systematic Literature Review*. J. Res. Pharm. Pract. 2017; 6(2): 65-72.
58. Gomez-Sanchez CI, Carballo JJ, Riveiro-Alvarez R, Soto-Insuga V, Rodrigo M, Mahillo-Fernandez I i wsp. *Pharmacogenetics of methylphenidate in childhood attention-deficit/hyperactivity disorder: long-term effects*. Sci. Rep. 2017; 7(1): 10391.
59. Kim JI, Kim JW, Park JE, Park S, Hong SB, Han DH i wsp. *Association of the GRIN2B rs2284411 polymorphism with methylphenidate response in attention-deficit/hyperactivity disorder*. J. Psychopharmacol. 2017; 31(8): 1070-1077.
60. Dean L. *Atomoxetine Therapy and CYP2D6 Genotype*. In: Pratt V, McLeod H, Rubinstein W, Dean L, Kattman B, Malheiro A, editors. *Medical Genetics Summaries*. Bethesda (MD): 2012.
61. Dela Pena IJI, Dela Pena I, de la Pena JB, Kim HJ, Sohn A, Shin CY i wsp. *Transcriptional profiling of SHR/NCrl prefrontal cortex shows hyperactivity-associated genes responsive to amphetamine challenge*. Genes. Brain Behav. 2017; 16(7): 664-674.
62. Grunblatt E, Geissler J, Jacob CP, Renner T, Muller M, Bartl J i wsp. *Pilot study: potential transcription markers for adult attention-deficit hyperactivity disorder in whole blood*. Atten. Defic. Hyperact. Disord. 2012; 4(2): 77-84.
63. Biomarkers Definitions Working G. *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. Clin. Pharmacol. Ther. 2001; 69(3): 89-95.
64. Scassellati C, Bonvicini C, Faraone SV, Gennarelli M. *Biomarkers and attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analyses*. J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry 2012; 51(10): 1003-1019 e1020.
65. Mavroconstantin T, Halmoy A, Haavik J. *Decreased serum levels of adiponectin in adult attention deficit hyperactivity disorder*. Psychiatry Res. 2014; 216(1): 123-130.
66. Bonvicini C, Faraone SV, Scassellati C. *Common and specific genes and peripheral biomarkers in children and adults with attention-deficit/hyperactivity disorder*. World J. Biol. Psychiatry 2018; 19(2): 80-100.
67. Scheen AJ, Junien C. *[Epigenetics, interface between environment and genes: role in complex diseases]*. Rev. Med. Liege 2012; 67(5-6): 250-257.

68. Xu Y, Chen XT, Luo M, Tang Y, Zhang G, Wu D i wsp. *Multiple epigenetic factors predict the attention deficit/hyperactivity disorder among the Chinese Han children.* J. Psychiatr. Res. 2015; 64: 40-50.
69. Perroud N, Zewdie S, Stenz L, Adouan W, Bavamian S, Prada P i wsp. *Methylation of Serotonin Receptor 3a in Adhd, Borderline Personality, and Bipolar Disorders: Link with Severity of the Disorders and Childhood Maltreatment.* *Depress. Anxiety* 2016; 33(1): 45-55.
70. Kim JI, Kim JW, Shin I, Kim BN. *Effects of Interaction Between DRD4 Methylation and Prenatal Maternal Stress on Methylphenidate-Induced Changes in Continuous Performance Test Performance in Youth with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder.* J. Child Adolesc. Psychopharmacol. 2018; 28(8): 562-570.
71. Wilmot B, Fry R, Smeester L, Musser ED, Mill J, Nigg JT. *Methylomic analysis of salivary DNA in childhood ADHD identifies altered DNA methylation in VIPR2.* J. Child Psychol. Psychiatry 2016; 57(2): 152-160.
72. Yuan J, Jin C, Sha W, Zhou Z, Zhang F, Wang M i wsp. *A competitive PCR assay confirms the association of a copy number variation in the VIPR2 gene with schizophrenia in Han Chinese.* Schizophr. Res. 2014; 156(1): 66-70.
73. Walton E, Pingault JB, Cecil CA, Gaunt TR, Relton CL, Mill J i wsp. *Epigenetic profiling of ADHD symptoms trajectories: a prospective, methylome-wide study.* Mol. Psychiatry 2017; 22(2): 250-256.
74. Baykal S, Batar B, Nalbantoglu A, Albayrak Y, Hanci H, Potas N i wsp. *Altered methyltetrahydrofolate reductase gene polymorphism in mothers of children with attention deficit and hyperactivity disorder.* Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2019; 88: 215-221.
75. Mostafavi Abdolmaleky H. *Horizons of psychiatric genetics and epigenetics: where are we and where are we heading?* Iran J. Psychiatry Behav. Sci. 2014; 8(3): 1-10.
76. Ebert MS, Neilson JR, Sharp PA. *MicroRNA sponges: competitive inhibitors of small RNAs in mammalian cells.* Nat. Methods 2007; 4(9): 721-726.
77. Kim VN, Nam JW. *Genomics of microRNA.* Trends Genet. 2006; 22(3): 165-173.
78. Rogaev EI. *Small RNAs in human brain development and disorders.* Biochemistry (Mosc). 2005; 70(12): 1404-1407.
79. Sun E, Shi Y. *MicroRNAs: Small molecules with big roles in neurodevelopment and diseases.* Exp. Neurol. 2015; 268: 46-53.
80. Sanchez-Mora C, Soler Artigas M, Garcia-Martinez I, Pagerols M, Rovira P, Richarte V i wsp. *Epigenetic signature for attention-deficit/hyperactivity disorder: identification of miR-26b-5p, miR-185-5p, and miR-191-5p as potential biomarkers in peripheral blood mononuclear cells.* Neuropsychopharmacology 2019; 44(5): 890-897.
81. Srivastav S, Walitza S, Grunblatt E. *Emerging role of miRNA in attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review.* Atten. Defic. Hyperact. Disord. 2018; 10(1): 49-63.

Adres: Joanna Duda
Centrum Biologii Medycznej
60-806 Poznań, Rokietnicka 8
e-mail: joanna.duda91@gmail.com

Otrzymano: 4.06.2019
Zrecenzowano: 9.10.2019
Otrzymano po poprawie: 17.12.2019
Przyjęto do druku: 22.01.2020