

Universidade de Vigo
Escola Internacional de Doutoramento

Bruno Bastos Vieira de Melo

TESE DE DOUTORAMENTO

Ensaio de uma nova Teoria etiológica do
Microbioma Humano na Perturbação de
Hiperactividade e Défice de Atenção

Dirigida pelos doutores:

Maria João Trigueiro e Salvador González González

Ano: 2018

Agradecimentos e considerações

À minha família.

Agradeço aos meus pais, por toda a estabilidade do meu porto seguro e que me permite voar cada vez mais alto. Ao meu irmão, pelas horas que não passamos juntos e que estão em falta. À minha mulher, pela homóloga dedicação em conduzir o nosso *navio* sempre que submergi em conceptualizações inatingíveis. Aos meus filhos, por me enriquecerem imensuravelmente. Aos meus amigos, que me acompanham sem cobrar a abdicação temporária para cumprir a expedição a este objectivo académico pessoal. À minha orientadora Professora Maria João Trigueiro, por toda a inspiração e por potenciar o meu desenvolvimento de forma inigualável. Sem ti não faria sentido. Ao meu orientador Professor Salvador González González, por toda a disponibilidade mesmo após longos períodos de retiro em que parecia impossível que fosse conseguir completar cada passo. Ao Professor Pedro Pereira Rodrigues, por toda a inspiração e pela disponibilidade em partilhar o seu conhecimento. Ao Professor Xosé Manuel e aos profissionais envolvidos no *Programa de Doutoramento en Ciencias da Educación e do Comportamento*, pela sua fiel representação das verdadeiras raízes galaico-portuguesas que sempre primam pela qualidade de trabalho nunca esquecendo o lado humano.

A todos os animais não-humanos, privados da sua liberdade ou vida em prol do conhecimento científico e nos quais os argumentos desta tese assentam.

Esta tese foi redigida com base no Acordo Ortográfico de 1945 da Língua Portuguesa. Esta tese diz "não" ao aculturado novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 1990, em que a pronúncia se assume primária em detrimento da Etimologia.

Índice

Agradecimentos e considerações.....	V
Índice	VII
Lista de Tabelas.....	XVII
Lista de Figuras	XXI
Lista de Abreviaturas	XXIII
Organização dos capítulos.....	XXIX
Resumo.....	XXXI
Resumo.....	XXXII
Abstract.....	XXXIII
Parte A - Introdução, Estado da Arte e Metodologia.....	- 1 -
1 Introdução.....	- 3 -
2 Estado da Arte: a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 9 -
2.1 Nosologia.....	- 11 -
2.1.1 Critérios de diagnóstico	- 11 -
2.1.2 Impacto na funcionalidade	- 15 -
2.2 Epidemiologia	- 17 -
2.2.1 Relação com o manual de classificação	- 17 -
2.2.2 Prevalência da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 18 -
2.2.2.1 Relação com os sexos.....	- 20 -
2.2.2.2 Relação com a idade.....	- 21 -
2.2.2.3 Relação com o contexto	- 22 -
2.3 Etiologia.....	- 24 -
2.3.1 Neurotransmissores, genética e farmacogenética.....	- 25 -
2.3.1.1 Os neurotransmissores e os seus sistemas	- 26 -
2.3.1.2 O estudo genético e farmacogenético	- 31 -
2.3.2 Neuroanatomia	- 37 -
2.3.2.1 Métodos de imagem estrutural e funcional	- 37 -
2.3.2.2 Rede de modo padrão.....	- 40 -
2.3.2.3 Rede fronto-parietal.....	- 41 -
2.3.2.4 Rede dorsal e ventral da atenção.....	- 41 -
2.3.2.5 Rede somatomotora.....	- 42 -
2.3.2.6 Rede visual	- 43 -

2.3.2.7 Sistema de processamento de recompensa	- 43 -
2.3.2.8 Inibição de resposta	- 44 -
2.3.2.9 Rede límbica e de regulação emocional.....	- 44 -
2.3.2.10 Outros argumentos emergentes.....	- 45 -
2.3.2.11 Conclusão da evidência neuroanatômica.....	- 47 -
2.3.3 Factores de risco	- 48 -
2.3.3.1 Factores contextuais	- 48 -
2.3.3.2 Factores familiares	- 49 -
2.3.3.3 Factores escolares.....	- 51 -
2.3.3.4 Factores alimentares	- 52 -
2.3.3.5 Sono e descanso	- 53 -
2.3.3.6 Gravidez e parto.....	- 55 -
2.3.3.7 Exposição química	- 56 -
2.3.4 Comorbilidade.....	- 59 -
2.3.4.1 Perturbação <i>Disruptiva</i> , do Controlo de Impulsos e da Conduta.....	- 60 -
2.3.4.2 Perturbações da Personalidade	- 61 -
2.3.4.3 Perturbação Bipolar	- 62 -
2.3.4.4 Perturbações Relacionadas com Substâncias e Perturbações Aditivas.....	- 62 -
2.3.4.5 Perturbações Depressivas	- 64 -
2.3.4.6 Perturbações do Neurodesenvolvimento	- 64 -
2.3.4.7 Obesidade	- 65 -
2.3.4.8 Conclusão da evidência da comorbilidade	- 66 -
2.3.5 Teorias e Modelos etiológicos	- 67 -
Modelo dos múltiplos limiares poligénéticos	- 67 -
Modelo da variabilidade constitucional	- 67 -
Modelo da imunorreactividade.....	- 67 -
Hipótese das origens desenvolvimentais da saúde e doença.....	- 68 -
Hipótese da disfunção cerebral mínima.....	- 68 -
A hipótese da excitotoxicidade.....	- 68 -
Mito.....	- 68 -
Predisposição diagnóstica	- 68 -
Lesão cerebral.....	- 69 -
Modelo da auto-regulação e atenção mantida (via única).....	- 69 -
Modelo de inibição comportamental (via única).....	- 69 -
Modelo das duplas vias.....	- 69 -
Modelo das triplas vias	- 70 -
Modelo da rede de modo padrão.....	- 70 -
Modelo da rede de atenção	- 70 -
Três redes neurais	- 70 -
Hipótese da disfunção dos neurotransmissores.....	- 70 -

Teoria dos baixos níveis de alerta e vigiância (hiporresponsividade frontal).....	- 71 -
Modelo do déficit subcortical.....	- 71 -
Hiporresponsividade da porção ventral do estriado	- 71 -
Modelo do desenvolvimento dinâmico.....	- 72 -
Modelo da aversão ao atraso de recompensa	- 72 -
Modelo da variabilidade de características	- 72 -
Modelo da memória de trabalho.....	- 73 -
Modelo cognitivo neuroenergético e teoria comportamental neuroenergética.....	- 73 -
Teoria da imaturidade cortical ou atraso do desenvolvimento cortical	- 74 -
Modelos dos traços da personalidade	- 74 -
Açúcar e níveis glicémicos.....	- 75 -
Hipótese da Monoamina Oxidase	- 75 -
Teoria do caçador-agricultor	- 76 -
Conclusão do subcapítulo das Teorias e Modelos	- 76 -
2.4 Competências.....	- 77 -
2.4.1 Competências cognitivas e funções executivas.....	- 77 -
2.4.1.1 Controlo inibitório – inibição de resposta.....	- 79 -
2.4.1.2 Controlo inibitório – controlo de interferência.....	- 81 -
2.4.1.3 Memória de trabalho	- 81 -
2.4.1.4 Planeamento e fluência.....	- 82 -
2.4.1.5 Desempenho intelectual.....	- 82 -
2.4.1.6 Atenção, nível de alerta e de vigiância	- 82 -
2.4.1.7 Impulsividade e o processamento temporal e de recompensa	- 83 -
2.4.2 Competências de regulação emocional	- 84 -
2.4.3 Competências motoras.....	- 85 -
2.4.4 Competências sensório-perceptivas.....	- 86 -
2.4.5 Competências sociais	- 87 -
2.5 Intervenção	- 89 -
2.5.1 Intervenção farmacológica	- 90 -
2.5.2 Intervenção não-farmacológica	- 92 -
2.5.3 Comparação entre intervenções.....	- 98 -
2.5.4 Resultados a curto e a longo prazo.....	- 100 -
2.6 Conclusão do capítulo.....	- 102 -
3 Metodologia	- 105 -
3.1 Perguntas de investigação.....	- 107 -
3.2 Perspectiva filosófica: Ontologia	- 109 -
3.2.1 Pós-Positivismo	- 110 -
3.2.2 Construtivismo.....	- 110 -
3.2.3 Transformativo	- 110 -

3.2.4 Pragmatismo.....	- 111 -
3.2.5 Escolha da perspectiva filosófica	- 111 -
3.3 Desenho de investigação: Epistemologia.....	- 113 -
3.3.1 Desenho quantitativo.....	- 113 -
3.3.2 Desenho qualitativo	- 114 -
3.3.3 Métodos mistos.....	- 114 -
3.3.4 Escolha do desenho de investigação.....	- 114 -
3.3.5 Definição metodológica.....	- 115 -
3.3.6 Método de construção teórica	- 116 -
3.3.7 Organização metodológica.....	- 119 -
3.4 Metodologia de investigação	- 121 -
3.4.1 Fase <i>Emergente</i> , primeira <i>personagem</i> : Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas	- 121 -
3.4.1.1 Objectivo	- 123 -
3.4.1.2 Critérios de inclusão	- 124 -
3.4.1.3 Método de pesquisa.....	- 124 -
3.4.1.4 Recolha e análise	- 125 -
Seleccção das revisões.....	- 125 -
Extracção e gestão da informação.....	- 125 -
Avaliação da qualidade metodológica das revisões incluídas	- 126 -
Síntese dos resultados.....	- 126 -
3.4.2 Fase <i>Emergente</i> , segunda <i>personagem</i> : revisão do tipo <i>Scoping Review</i>	- 126 -
3.4.2.1 Etapa preliminar: identificação da área de estudo	- 127 -
3.4.2.2 Etapa 1: objectivo da investigação.....	- 129 -
3.4.2.3 Etapa 2: identificação dos estudos incluídos.....	- 129 -
3.4.2.4 Etapa 3: selecção dos estudos incluídos.....	- 129 -
3.4.2.5 Etapa 4: extracção da informação	- 129 -
3.4.2.6 Etapa 5: agregação dos resultados.....	- 130 -
3.4.3 Fase <i>Construtiva</i> : conceptualização	- 130 -
3.5 Conclusão do capítulo.....	- 133 -
Parte B - Fase <i>Emergente</i>: estruturação com revisões.....	- 135 -
4 Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatómicas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 137 -
4.1 Resultados	- 139 -
4.1.1 Processo de tomada de decisão para exclusão das revisões analisadas.....	- 140 -
4.1.1.1 Critérios usados no processo de tomada de decisão para exclusão das revisões analisadas	- 141 -

4.1.1.2 Exclusão de revisões com o método de Imagem por Ressonância Magnética.....	- 141 -
4.1.1.3 Exclusão de revisões com o método de Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear	- 142 -
4.1.1.4 Exclusão de revisões com o método de Imagem por Ressonância Magnética Funcional	- 143 -
4.1.1.5 Descrição das revisões excluídas.....	- 143 -
4.1.2 Descrição das revisões incluídas.....	- 144 -
4.1.3 Qualidade metodológica das revisões incluídas.....	- 145 -
4.1.4 Diferenças neuroanatômicas observadas	- 146 -
4.1.4.1 Diferenças neuroanatômicas observadas em crianças	- 146 -
4.1.4.2 Diferenças neuroanatômicas observadas em adultos.....	- 147 -
4.1.4.3 Diferenças neuroanatômicas observadas em crianças e adultos	- 148 -
4.2 Discussão	- 149 -
Os níveis metabólicos podem indicar uma implicação da rede de modo padrão e fronto-parietal de controlo cognitivo	- 149 -
A interpretação adicional dos resultados em repouso da Electroencefalografia, não mostra coerência com os níveis metabólicos.....	- 152 -
A interpretação adicional dos resultados por Electroencefalografia e Potenciais de Eventos Relacionados com Imagem por Ressonância Magnética Funcional contribui para a implicação da rede de modo padrão e fronto-parietal de controlo cognitivo.....	- 154 -
Os resultados funcionais por Imagem por Ressonância Magnética Funcional suportam um possível envolvimento de várias redes neuronais.....	- 155 -
Os resultados estruturais implicam o corpo caloso e as redes cerebelares e estriadas e suportam a implicação de várias redes neuronais	- 159 -
Completude da revisão e aplicabilidade da evidência.....	- 162 -
Qualidade da evidência e possível viés no processo e na revisão de revisões	- 162 -
4.3 Conclusão do capítulo.....	- 164 -
Implicações na prática	- 164 -
Implicações na investigação	- 165 -
4.4 Material Suplementar	- 166 -
Listagem das Tabelas Suplementares	- 166 -
Tabelas Suplementares em páginas individuais.....	- 167 -
5 Revisão do tipo <i>Scoping Review</i>: o Microbioma Humano	- 189 -
5.1 Habitam micróbios no corpo humano.....	- 191 -
5.1.1 Os micróbios são muito mais do que uma fonte de doenças para os animais.....	- 191 -
5.1.2 Existe uma complexa simbiose microbiana-eucariótica universal	- 194 -
5.1.3 A complexidade simbiótica entre espécies define a <i>organismalidade</i>	- 196 -

5.1.4 O <i>organismal</i> humano possui a sua própria simbiose com um ecossistema microbiano	- 199 -
5.2 O Microbioma Humano é essencial aos sistemas corporais	- 203 -
5.2.1 A compreensão da constituição do Microbioma Humano obriga à análise da sua diversidade	- 204 -
5.2.2 A constituição do Microbioma Humano é diversa e dinâmica	- 206 -
5.2.3 O intestino apresenta uma diversidade superior em mais do que uma ordem de grandeza.....	- 209 -
5.2.4 O Microbioma Humano comporta-se de forma fluída, não-aleatória e não-compartimentada.....	- 213 -
5.2.5 O ser humano saudável depende do microbioma.....	- 214 -
5.2.5.1 A colonização do Microbioma Humano é contínua e variável desde o nascimento.	- 215 -
5.2.5.2 A responsividade das comunidades microbianas deve-se à transferência genética horizontal e aos metabolitos	- 217 -
5.2.5.3 A diversidade da constituição promove a capacidade de executar as funções essenciais	- 219 -
5.2.5.4 Existe um núcleo genómico funcional envolvido com o funcionamento dos sistemas corporais humanos.....	- 221 -
5.2.5.5 O microbioma saudável necessita de resiliência e estabilidade	- 223 -
5.2.5.6 Existem doenças associadas à alteração do microbioma.....	- 225 -
5.3 Conclusão do capítulo.....	- 228 -
Parte C - Fase <i>Construtiva</i>: conceptualização	- 231 -
6 Construção teórica etiológica do Microbioma Humano e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 233 -
O estudo do Microbioma Humano pode já ser relacionado com a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 234 -
6.A Argumento: existe uma ligação entre os sistemas digestivo e nervoso com implicação na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 237 -
6.A.1 Argumento: as regiões das vias neuroanatômicas do eixo intestino-encefálico são coerentes com a etiologia da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 238 -
6.A.2 Argumento: existe convergência entre os neurotransmissores envolvidos no eixo intestino-encefálico e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 242 -
6.B Argumento: existe uma ligação entre o microbioma, sistema digestivo e as doenças neurológicas.....	- 247 -
6.B.1 Argumento: o microbioma intestinal afecta o neurodesenvolvimento	- 248 -
6.B.1.1 Existem diferenças na constituição do microbioma intestinal na Perturbação do Espectro do Autismo.....	- 248 -

6.B.1.2 As alterações dos metabolitos são coerentes com as alterações da constituição.....	- 250 -
6.B.1.3 A alteração da permeabilidade intestinal activa o processo inflamatório.....	- 250 -
6.B.1.4 Várias hipóteses explicativas têm procurado interpretar as diferenças na constituição e funcionamento do microbioma intestinal na Perturbação do Espectro do Autismo.....	- 252 -
6.B.2 Argumento: a microbiota intestinal está envolvida nos processos neurodegenerativos.....	- 255 -
6.B.2.1 Existe fundamento teórico que relaciona o microbioma intestinal e a Doença de Parkinson.....	- 256 -
6.B.2.2 O início patológico intestinal conduziu à observação das diferenças no microbioma.....	- 258 -
6.B.2.3 As diferenças no microbioma intestinal apresentam coerência com os mecanismos neurodegenerativos da Doença de Parkinson.....	- 260 -
6.B.2.4 A microbiota intestinal está envolvida na Doença de Alzheimer.....	- 261 -
6.B.3 Argumento: a evidência aponta para um envolvimento nas várias Perturbações Mentais.....	- 263 -
6.B.4 Argumento: o processo inflamatório é o denominador comum.....	- 265 -
6.C Argumento: existe coerência entre os mecanismos imunológicos e endócrinos mediados pelo eixo intestino-encefálico e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 267 -
6.C.1 Argumento: a comunicação do eixo intestino-encefálico envolve todo o sistema endócrino e imunológico.....	- 268 -
6.C.2 Argumento: existe um envolvimento imunológico na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 274 -
6.C.2.1 Os vários quadros alérgicos na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção podem ter a mesma origem.....	- 275 -
6.C.2.2 A ligação microbiota-intestino-imunológica pode representar a origem comum..	- 275 -
6.C.2.3 A resposta imunológica intestinal afecta as áreas neuroanatómicas alteradas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 277 -
A tolerância oral é um mecanismo de regulação e com impacto sistémico.....	- 277 -
A libertação de citocinas inflamatórias alteram o funcionamento dos neurotransmissores e das áreas neuroanatómicas.....	- 280 -
O microbioma intestinal medeia a resposta imunológica à exposição alimentar .	- 283 -
6.D Argumento: a dopamina é um neuro-imuno-transmissor.....	- 286 -
6.D.1 Argumento: a dopamina suporta o impacto dos factores ambientais inflamatórios na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.....	- 290 -

6.D.2 Argumento: Hipótese conservadora da implicação dopaminérgica na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 293 -
6.D.3 Argumento: Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 295 -
6.E Argumento: a histamina altera o funcionamento neuronal.....	- 299 -
6.F Argumento: a neuróglia responde aos processos inflamatórios	- 304 -
6.G Argumento: a primeira colonização altera o neurodesenvolvimento.....	- 309 -
6.G.1 Argumento: o período de gestação tem impacto na microbiota e sistema imunológico	- 309 -
6.G.2 Argumento: o parto representa a primeira colonização externa	- 312 -
6.G.3 Argumento: a amamentação coloniza a microbiota intestinal	- 313 -
6.H Argumento: os antibióticos alteram a estabilidade da microbiota	- 316 -
6.I Argumento: a privação da exposição ambiental diminui a diversidade.....	- 323 -
6.I.1 Argumento: a Hipótese da Higiene coincide com o aparecimento das doenças alérgicas	- 324 -
6.I.2 Argumento: a progressão das doenças imunológicas é coincidente com a da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 327 -
6.J Argumento: os processos naturais evolutivos sofreram uma rápida mudança.....	- 333 -
6.J.1 Argumento: o ritmo do processo evolutivo é aumentado após a agricultura.....	- 333 -
6.J.2 Argumento: a nova exposição química Pós-Industrial não está estudada.....	- 339 -
6.J.3 Argumento: a nova Era Industrial alterou os padrões de exposição alimentar.....	- 348 -
6.J.3.1 São usados massivamente antibióticos na agricultura e produção animal.....	- 348 -
6.J.3.2 Existe uma ligação epidemiológica a pesticidas, herbicidas e fertilizantes	- 350 -
6.J.3.3 Os alimentos pós-industriais apresentam características inflamatórias e disbióticas.....	- 353 -
6.J.4 Argumento: existem outros factores pós-industriais de carácter inflamatório	- 362 -
6.J.4.1 A diminuição de vitamina D é devida às alterações sociais e alimentares.....	- 362 -
6.J.4.2 O <i>stress</i> pré e pós-natal apresenta características inflamatórias	- 363 -
6.J.4.3 A exposição à luz artificial alterou os padrões de sono e os níveis de melatonina...	- 365 -
6.K Argumento: a epigenética enaltece os factores ambientais	- 371 -
6.K.1 Argumento: o genótipo individual é responsivo.....	- 371 -
6.K.2 Argumento: os mecanismos de expressão genética são observados na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção	- 373 -
6.K.3 Argumento: a responsividade genética individual continua para a descendência.....	- 376 -
6.K.4 Argumento: o Microbioma Humano está envolvido nos processos epigenéticos-	- 379 -

Parte D - Conclusão, Resumo Conceptual, Implicações e Considerações.....	- 383 -
.....	
7 Conclusão.....	- 385 -
7.1 Resumo conceptual desta Teoria.....	- 387 -
7.2 Operacionalização pré- <i>Confirmatória</i>	- 394 -
7.3 Implicações teóricas e práticas	- 400 -
Parece existir uma perda de maturidade no processo científico	- 400 -
Esta tese encarou a necessidade de construção teórica.....	- 401 -
A escolha das <i>personagens</i> assentou no recente desenvolvimento tecnológico....	- 401 -
A metodologia escolhida procurou dar resposta à necessidade de conceptualização.....	- 402 -
.....	
A fragilidade da conceptualização entre as várias áreas especialistas apresentou uma	
coerência transversal	- 402 -
Até microbiologicamente foi observada a importância dos factores ambientais .	- 403 -
Poderia ser alargado o conceito dos factores ambientais na literatura científica	- 404 -
Podem ser especialmente consideradas as alterações da exposição química alimentar	
.....	- 405 -
Os paradigmas evolutivos biológicos podem necessitar de ser revistos	- 406 -
7.4 Limitações.....	- 407 -
7.5 Estudos futuros	- 410 -
7.6 Influência do autor.....	- 412 -
7.7 Considerações finais.....	- 414 -
Existe um fosso entre os consumidores e os produtores de ciência.....	- 414 -
O pensamento dos profissionais necessita de ser direccionado para a causa das	
doenças	- 416 -
As implicações desta tese podem suportar uma mudança de paradigmas.....	- 417 -
8 Comentário final do autor.....	- 419 -
9 Referências bibliográficas	- 421 -
10 Anexos	- 525 -

Lista de Tabelas

TABELA 1-1 VISÃO GLOBAL DOS PASSOS METODOLÓGICOS UTILIZADOS.....	- 5 -
TABELA 1-2 SÍMBOLOS UTILIZADOS NA REDACÇÃO DESTA TESE	- 7 -
TABELA 2-1 CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO.....	- 12 -
TABELA 2-2. SUMÁRIO DAS REVISÕES SISTEMÁTICAS, COM E SEM METANÁLISE, RELATIVAS À PREVALÊNCIA DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 19 -
TABELA 2-3. PRINCIPAIS NEUROTRANSMISSORES	- 28 -
TABELA 2-4. PRINCIPAIS SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES	- 30 -
TABELA 2-5. SUMÁRIO DAS REVISÕES SISTEMÁTICAS, COM E SEM METANÁLISE, RELATIVAS À ETIOLOGIA GENÉTICA DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO.....	- 32 -
TABELA 2-6. PONTOS-CHAVE DA INTERVENÇÃO NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO COM BASE NA PRÁTICA BASEADA NA EVIDÊNCIA.....	- 90 -
TABELA 2-7. SUBSTÂNCIAS ACTIVAS NAS INTERVENÇÕES FARMACOLÓGICAS NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 91 -
TABELA 2-8. SUMÁRIO DA EVIDÊNCIA DAS INTERVENÇÕES NÃO-FARMACOLÓGICAS NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 92 -
TABELA 2-9. SUMÁRIO DA EVIDÊNCIA DO RESULTADO A CURTO PRAZO, DE DUAS OU MAIS INTERVENÇÕES FARMACOLÓGICAS E NÃO-FARMACOLÓGICAS, NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 99 -
TABELA 2-10. SUMÁRIO DA EVIDÊNCIA DO RESULTADO A LONGO PRAZO, DE DUAS OU MAIS INTERVENÇÕES FARMACOLÓGICAS E NÃO-FARMACOLÓGICAS, NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 101 -
TABELA 2-11. PRINCIPAIS CATEGORIAS UTILIZADAS NA CATALOGAÇÃO INICIAL DAS REVISÕES SISTEMÁTICAS, COM E SEM METANÁLISE, NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO.....	- 103 -
TABELA 3-1 QUATRO PRINCIPAIS PARADIGMAS APLICÁVEIS A ESTA TESE	- 109 -
TABELA 3-2 ABORDAGENS AO DESENHO DE INVESTIGAÇÃO.....	- 113 -
TABELA 3-3 TIPOS DE RACIOCÍNIO UTILIZADOS.....	- 117 -
TABELA 3-4 TENDÊNCIAS DA ABORDAGEM POR MÉTODOS MISTOS.....	- 121 -
TABELA 3-5 CARACTERIZAÇÃO DA REVISÃO DO TIPO <i>SCOPING REVIEW</i>	- 127 -
TABELA 4-1. SUMÁRIO DAS REVISÕES INCLUÍDAS.....	- 144 -
TABELA 4-2. RESUMO DOS CRITÉRIOS DE QUALIDADE DAS REVISÕES INCLUÍDAS	- 145 -

TABELA 4-3 PRINCIPAIS DIFERENÇAS NEUROANATÓMICAS OBSERVADAS NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 146 -
TABELA 4-4 PRINCIPAIS REDES NEURONAIS E COMPETÊNCIAS COMPROMETIDAS NA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 156 -
TABELA 4-5 PRINCIPAIS RECOMENDAÇÕES.....	- 164 -
TABELA 4-6. CONTAGEM E SOBREPOSIÇÃO DOS ESTUDOS INDIVIDUAIS NAS REVISÕES ELEGIDAS	- 167 -
TABELA 4-7. AVALIAÇÃO DAS REVISÕES ELEGIDAS DE ACORDO COM A <i>CHECKLIST PREFERRED REPORTING ITEMS FOR SYSTEMATIC REVIEWS AND META-ANALYSES</i> (PRISMA)	- 172 -
TABELA 4-8. TOMADA DE DECISÃO RELATIVA À EXCLUSÃO DE REVISÕES QUANTITATIVAS DE IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL	- 174 -
TABELA 4-9. SUMÁRIO DAS REVISÕES EXCLUÍDAS APÓS ANÁLISE DA SOBREPOSIÇÃO DE ESTUDOS.....	- 175 -
TABELA 4-10. RESUMO DOS CRITÉRIOS DE QUALIDADE DAS REVISÕES EXCLUÍDAS APÓS ANÁLISE DA SOBREPOSIÇÃO DE ESTUDOS	- 177 -
TABELA 4-11. RESULTADOS DA REVISÃO DE REVISÕES EM CRIANÇAS COM PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 179 -
TABELA 4-12. RESULTADOS DA REVISÃO DE REVISÕES EM ADULTOS COM PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 182 -
TABELA 4-13. RESULTADOS DA REVISÃO DE REVISÕES EM CRIANÇAS E ADULTOS COM PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 183 -
TABELA 4-14 VARIAÇÕES FUNCIONAIS DE ACORDO COM A TAREFA EM CRIANÇAS E ADULTOS...	- 184 -
TABELA 4-15 VARIAÇÕES NAS DIFERENÇAS NEUROANATÓMICAS COM A IDADE	- 187 -
TABELA 4-16 VARIAÇÕES NAS DIFERENÇAS NEUROANATÓMICAS COM A INTERVENÇÃO FARMACOLÓGICA.....	- 188 -
TABELA 5-1 EXEMPLOS DE ASSOCIAÇÕES SIMBIÓTICAS ENTRE HOSPEDEIRO E BACTÉRIA.....	- 199 -
TABELA 5-2 DIVERSIDADE DA PESQUISA RELATIVA AO MICROBIOMA HUMANO.....	- 207 -
TABELA 6-1 PRODUTOS METABÓLICOS DA MICROBIOTA INTESTINAL	- 243 -
TABELA 6-2 DIVISÃO E FUNCIONAMENTO ESSENCIAL DO SISTEMA IMUNOLÓGICO.....	- 269 -
TABELA 6-3 LISTA SELECTIVA DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS E ANTI-INFLAMATÓRIAS...	- 272 -
TABELA 6-4 MECANISMOS DE ACÇÃO DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS QUE ALTERAM O FUNCIONAMENTO DOS SISTEMAS DE NEUROTRANSMISSORES.....	- 282 -
TABELA 6-5 OS PRIMEIROS FACTORES DA HIGIENE ASSOCIADOS ÀS DOENÇAS ALÉRGICAS.....	- 324 -
TABELA 6-6 PRINCIPAIS MEDIDAS RELATIVAS ÀS DOENÇAS ALÉRGICAS NA CIDADE DE NOVA IORQUE.....	- 328 -

TABELA 6-7 MUDANÇAS QUE CONTRIBUÍRAM PARA CONTINUAR O AUMENTO DAS DOENÇAS ALÉRGICAS E PARA O APARECIMENTO DE ASMA.....	- 330 -
TABELA 6-8 PADRÕES DE EXPOSIÇÃO AOS ANTIGÉNICOS DURANTE AS ETAPAS DE MODERNIZAÇÃO	- 338 -
TABELA 6-9 PRINCIPAIS MACRONUTRIENTES DA DIETA OCIDENTAL E IMPACTO NO SISTEMA IMUNOLÓGICO	- 357 -
TABELA 6-10 TIPOS DE SUBSTÂNCIAS ADICIONADAS AOS ALIMENTOS	- 359 -
TABELA 7-1 COERÊNCIA TEÓRICA COM AS LINHAS GERAIS DO ESTADO DA ARTE DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 390 -
TABELA 7-2 COERÊNCIA TEÓRICA COM OS MODELOS ETIOLÓGICOS EXISTENTES DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 391 -

Lista de Figuras

FIGURA 2-1 FUNCIONAMENTO SINÁPTICO DA DOPAMINA.....	- 36 -
FIGURA 2-2. REPRESENTAÇÃO DA FONTE DE POTENCIAL CORTICAL E DA SUA PROPAGAÇÃO EM ELECTROENCEFALOGRAFIA	- 39 -
FIGURA 2-3. AS SETE PRINCIPAIS REDES NEURONAIS IDENTIFICADAS NO CÓRTEX CEREBRAL HUMANO.....	- 40 -
FIGURA 2-4. RESUMO DOS GENES IMPLICADOS NAS PRINCIPAIS PERTURBAÇÕES MENTAIS POR METANÁLISE	- 60 -
FIGURA 2-5. DISTRIBUIÇÃO ANUAL DAS REVISÕES SISTEMÁTICAS SOBRE A PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO EM 2015	- 103 -
FIGURA 3-1 FASES DA <i>CONSTRUÇÃO TEÓRICA EXPLICATIVA</i>	- 117 -
FIGURA 3-2 VISÃO GLOBAL DA ORGANIZAÇÃO METODOLÓGICA DESTA TESE	- 118 -
FIGURA 3-3 DE CÓDIGOS A TEORIAS	- 119 -
FIGURA 4-1. FLUXO DE INCLUSÃO DE ESTUDOS.....	- 139 -
FIGURA 4-2. DIFERENÇAS NEUROANATÓMICAS OBSERVADAS EM CRIANÇAS, ADULTOS E CRIANÇAS E ADULTOS COM PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO.	- 149 -
FIGURA 4-3. REDES DE MODO PADRÃO E DE CONTROLO COGNITIVO FRONTO-PARIETAL .	- 150 -
FIGURA 5-1 EXEMPLOS DE TIPOS DE COOPERAÇÃO E CONFLITO.....	- 197 -
FIGURA 5-2 VIAS POTENCIAIS PARA AS PRINCIPAIS TRANSIÇÕES ENTRE ESPÉCIES	- 197 -
FIGURA 5-3 MECANISMOS DAS ASSOCIAÇÕES SIMBIÓTICAS.....	- 198 -
FIGURA 5-4 DIVERSIDADE ALFA, BETA E GAMA.....	- 205 -
FIGURA 5-5 DIVERSIDADE DE PROCARIÓTICOS, EUCARIÓTICOS E VÍRUS NA MICROBIOTA INTESTINAL	- 210 -
FIGURA 5-6 ALTERAÇÕES SEQUENCIAIS NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE ACORDO COM A IDADE	- 216 -
FIGURA 5-7 DIVERSIDADE ESTRUTURAL E FUNCIONAL DAS PEQUENAS MOLÉCULAS ASSOCIADAS AO CORPO HUMANO	- 218 -
FIGURA 5-8 VARIAÇÕES DA CONSTITUIÇÃO MICROBIANA NAS REGIÕES CORPORAIS, EM CONTRASTE COM A MANUTENÇÃO DAS VIAS METABÓLICAS.....	- 222 -
FIGURA 6-1 RESUMO CONCEPTUAL DOS CAPÍTULOS 4, 5 E 6	- 235 -
FIGURA 6-2 MECANISMOS DE CAPTAÇÃO DE ANTIGÉNICOS NO TECIDO LINFÁTICO ASSOCIADO AO INTESTINO E LÂMINA PRÓPRIA	- 278 -
FIGURA 6-3 CONTRIBUTO DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS CD103+ NA TOLERÂNCIA ORAL	- 280 -
FIGURA 6-4 A IMPORTÂNCIA DA DOPAMINA NAS CÉLULAS T E DENDRÍTICAS	- 288 -

FIGURA 6-5 HIPÓTESE CONSERVADORA DA IMPLICAÇÃO DOPAMINÉRGICA NA ETIOLOGIA DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO, ATRAVÉS DO EIXO INTESTINO-ENCEFÁLICO.....	- 294 -
FIGURA 6-6 HIPÓTESE ALTERNATIVA DA IMPLICAÇÃO DOPAMINÉRGICA NA ETIOLOGIA DA PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO, ATRAVÉS DO EIXO INTESTINO-ENCEFÁLICO.....	- 296 -
FIGURA 6-7 LIGAÇÃO CONCEPTUAL ENTRE A TOMA DE ANTIBIÓTICOS E O RISCO DE PERTURBAÇÃO DE HIPERACTIVIDADE E DÉFICE DE ATENÇÃO	- 321 -
FIGURA 6-8 PROGRESSÃO DAS DOENÇAS ALÉRGICAS	- 329 -
FIGURA 6-9 TABELA PERIÓDICA SINALIZANDO OS ELEMENTOS NATURAIS ESSENCIAIS E SINTÉTICOS.....	- 341 -
FIGURA 6-10 PRINCIPAIS REGIÕES MUNDIAIS PRODUTORAS DE QUÍMICOS	- 342 -
FIGURA 6-11 CERCA DE DOIS TERÇOS DOS PRODUTOS QUÍMICOS DA UNIÃO EUROPEIA SÃO FORNECIDOS AO SECTOR INDUSTRIAL	- 343 -
FIGURA 6-12 VIAS DE DISSEMINAÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS E GENES PATOGÉNICOS ATRAVÉS DA AGRICULTURA, AMBIENTE E INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS.....	- 350 -
FIGURA 6-13 REGULAÇÃO IMUNOLÓGICA DA EXPOSIÇÃO AMBIENTAL.....	- 367 -
FIGURA 7-1 RESUMO CONCEPTUAL DO CAPÍTULO 6.....	- 389 -

Lista de Abreviaturas

Foram utilizadas abreviaturas de vocábulos devido ao seu elevado número de referências ao longo do texto, complexidade da sua redacção ou importância científica.

Foram escolhidas algumas abreviaturas em inglês pela sua maior expressividade na literatura científica ou pela sua inexistência em português.

A paginação de cada sigla é referente à primeira entrada no texto ou, caso tal não aconteça, na tabela ou figura.

Cada tabela e figura tem a sua listagem respectiva de abreviaturas permitindo uma leitura independente da utilização de abreviaturas ao longo do texto.

Não são utilizadas abreviaturas nos títulos dos capítulos, tabelas e figuras.

#

$\alpha 4\beta 7$: Integrina alfa 4 beta 7, - 279 -

1

11 β -HSD2: *11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2*, 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2, - 364 -

16S rRNA: *16S Ribosomal Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico Ribossómico 16S, - 200 -

5

5-HIAA: Ácido 5-Hidroxindolacético, - 282 -

5-HTT: *5-Hydroxytryptamine Transporter*, Transportador de 5-Hidroxitriptamina/serotonina, - 31 -

A

ACNQ: 2-amino-3-carboxi-1,4-naftoquinona, - 218 -

ADHD: *Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder*, Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção, XXXIII

ADP: *Adenosine Diphosphate*, Adenosina Difosfato, - 29 -

ADRA2A: *Adrenergic Receptor alpha-2A*, Receptor Adrenérgico alpha-2A, - 31 -

ADRA2C: *Adrenergic Receptor alpha-2C*, Receptor Adrenérgico alpha-2C, - 31 -

AGCC: Ácido Gordo de Cadeia Curta, - 193 -

ALE: *Activation Likelihood Estimation*, - 38 -

Alpha-gal: Oligossacarídeo Galactose-alfa 1,3-galactose, - 329 -

AMP: *Adenosine Monophosphate*, Adenosina Monofosfato, - 29 -

ANKK1: *Ankyrin Repeat And Kinase Domain Containing 1*, - 35 -

APC: *Antigen-Presenting Cell*, Células Apresentadoras de Antigénico, - 279 -

ATP: *Adenosine Triphosphate*, Adenosina Trifosfato, - 73 -

B

BA: *Broadmann Area*, Área de Broadmann, - 42 -

BAIAP2: *Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1-Associated Protein 2*, Proteína Inibidora de Angiogênese, - 32 -

-

BDNF: *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro, - 31 -

BH4: Tetraidrobiopterina, - 282 -

BHA: *Butylated Hydroxyanisole*, Hidroxianisol Butilado, - 361 -

BHT: *Butylated Hydroxytoluene*, Hidroxitolueno Butilado, - 361 -

C

CCR9: *Chemokine Receptor 9*, Receptor de Quimiocina 9, - 279 -

CD103: Cadeia de integrina alfa E, - 279 -

CD103+: Células que exibem a Cadeia de integrina alfa E. *CD103*

CD14: Receptor molecular *Cluster of Differentiation 14*, - 358 -

CD4: Receptor molecular *Cluster of Differentiation 4*, - 287 -

CD4+: Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 4*, - 287 -

CD8: Receptor molecular *Cluster of Differentiation 8*, - 287 -

CD8+: Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 8*, - 287 -

Cdkn1c: *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1C*, Inibidor de Quinase Dependente de Ciclina 1C, - 374 -

COMT: Catecol O-Metiltransferase, - 31 -

CSF: *Competence and Sporulation Factor*, Factor de Esporulação e Competência, - 218 -

CT: *Computed Tomography*, Tomografia Computadorizada, - 37 -

CX3CR1: Receptor de quimiocina *C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1*, - 278 -

D

DAT1: *Dopamine Active Transporter 1*, Transportador Activo de Dopamina 1, - 24 -

DBH: Dopamina beta-hidroxilase, - 31 -

DHA: *Docosahexaenoic Acid*, Ácido Docosahexaenóico, - 32 -

di-GMP: *di-Guanosine Monophosphate*, di-Guanosina Monofosfato, - 218 -

DNA: *Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico, - 57 -

DRD1: *Dopamine Receptor D1*, Receptor de Dopamina D1, - 31 -

DRD2: *Dopamine Receptor D2*, Receptor de Dopamina D2, - 31 -

DRD3: *Dopamine Receptor D3*, Receptor de Dopamina D3, - 31 -

DRD4: *Dopamine Receptor D4*, Receptor de Dopamina D4, - 24 -

DRD5: *Dopamine Receptor D5*, Receptor de Dopamina D5, - 24 -

DRD6: *Dopamine Receptor D6*, Receptor de Dopamina D6, - 286 -

DRD7: *Dopamine Receptor D7*, Receptor de Dopamina D7, - 286 -

dsDNA: *double stranded Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico de cadeia dupla, - 210 -

DSM: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais, - 10 -

DSM-5: Quinta edição do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*/Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais, - 11 -

DSM-IV: Quarta edição do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*/Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais, - 14 -

DTI: *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão, - 39 -

DVD: *Digital Video Disc*, Disco Digital de Vídeo, - 97 -

E

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético, - 361 -

EEG: Electroencefalografia, - 4 -

ERP: *Event-Related Potential*, Potenciais de Eventos Relacionados, - 37 -

F

fMRI: *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional, - 37 -

fNIR: *functional Near-Infrared Spectroscopy*, Espectroscopia de Infravermelho Funcional, - 39 -

Foxp3: Factor de Transcrição *forkhead box P3*, - 279 -

Foxp3+: Células que exibem o Factor de Transcrição *forkhead box P3*, - 279 -

G

GABA: *Gamma-Aminobutyric Acid*, Ácido Gama-Aminobutírico, - 86 -

G-CSF: *Granulocyte Colony-Stimulating Factor*, Factor de Estimulação de Colónias e Granulócitos, - 273 -

GLP-1: *Glucagon-like peptide-1*, Péptido Semelhante a Glucagon 1, - 218 -

GM-CSF: *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*, Factor de Estimulação de Colónias, Granulócitos e Macrófagos, - 299 -

GTPCH: *Guanosine Triphosphate Cyclohydrolase I*, Guanosina Trifosfato Ciclohídroclase I, - 282 -

H

HLA-class 1: *Human Leukocyte Antigen class 1*, Antígeno Leucocitário Humano classe 1, - 334 -

HPA: Hipotálamo-Pituitária-Adrenal, - 46 -

HTR1B: *5-Hydroxytryptamine Receptor 1B*, 5-Hidroxitriptamina Receptor 1B, - 31 -

HTR2A: *5-Hydroxytryptamine Receptor 2A*, 5-Hidroxitriptamina Receptor 2A, - 31 -

I

IBA: *Isobutyric Acid*, Ácido Isobutírico, - 218 -

IC: Intervalo de Confiança, - 181 -

ICD: *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde, - 10 -

ICD-10: Décima edição da *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*/Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde, - 17 -

ICF: *International Classification of Functioning, Disability and Health*, Classificação Internacional de Funcionalidade, - 15 -

IDO: Indolamina 2,3 dioxigenase, - 279 -

IFN: *Interferon*, Interferão, - 251 -

IFN- α : Tipo alfa de *Interferon*/Interferão, - 270 -

IFN- γ : Tipo gama de *Interferon*/Interferão, - 287 -

IgA: Imunoglobulina A, - 264 -

IgE: Imunoglobulina E, - 280 -

IgG2a: Tipo G2a de Imunoglobulina, - 280 -

IgM: Imunoglobulina M, - 264 -

IL: Interleucina, - 264 -

IL-1: Tipo 1 de Interleucina, - 264 -

IL-1 β : Tipo 1 beta de Interleucina, - 264 -

IL-10: Tipo 10 de Interleucina, - 279 -

IL-13: Tipo 13 de Interleucina, - 280 -

IL-17: Tipo 17 de Interleucina, - 358 -

IL-17A: Tipo 17A de Interleucina, - 331 -

IL-2: Tipo 2 de Interleucina, - 264 -

IL-23: Tipo 23 de Interleucina, - 354 -

IL-3: Tipo 3 de Interleucina, - 299 -

IL-4: Tipo 4 de Interleucina, - 280 -

IL-5: Tipo 5 de Interleucina, - 280 -

IL-6: Tipo 6 de Interleucina, - 264 -

IMpACT: *International Multicentre Persistent ADHD CollaboraTion*, - 35 -

M

mA: Miliampere, - 39 -

MAPK: *Mitogen Activated Protein Kinases*, Proteína-Quinases Activadas por Mitogénicos, - 282 -

MHC: *Major Histocompatibility Complex*, Complexo Principal de Histocompatibilidade, - 337 -

MHC-1: Tipo 1 de *Major Histocompatibility Complex*/Complexo Principal de Histocompatibilidade, - 270 -

MHC-2: Tipo 2 de *Major Histocompatibility Complex*/Complexo Principal de Histocompatibilidade, - 270 -

mm²: Milímetros quadrados, - 39 -

MPTP: *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina, - 350 -

MRI: *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética, - 37 -

mRNA: *Messenger Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico Mensageiro, - 286 -

MRS: *Magnetic Resonance Spectroscopy*, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear, - 39 -

MUC2: Tipo 2 de Mucina, - 280 -

mV: Milivolt, - 39 -

N

NAA: N-Acetilaspártato, - 45 -

NAAG: N-Acetilaspártatilglutamato, - 149 -

NET: *Norepinephrine Transporter*, Transportador de Noradrenalina, - 91 -

NET1: *Norepinephrine Transporter 1*, Transportador de Noradrenalina 1, - 31 -
NGF: *Nerve Growth Factor*, Factor de Crescimento Nervoso, - 281 -
NKC: *Natural Killer Cell*, Células Exterminadoras Naturais, - 279 -
NMDA: N-metil-D-aspartato, - 262 -
NOS: *Nitric Oxide Synthase*, Óxido Nítrico Sintase, - 282 -
NOS1: Tipo 1 de *Nitric Oxide Synthase*/Óxido Nítrico Sintase, - 26 -

P

PEA: Perturbação do Espectro do Autismo, - 6 -
PET: *Positron Emission Tomography*, Tomografia por Emissão de Positrões, - 37 -
pH: Potência de hidrogénio, - 208 -
PHDA: Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção, - 3 -
PRISMA: *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, - 123 -

Q

QEEG: Electroencefalografia Quantitativa, - 37 -

R

RNA: *Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico, - 200 -
ROI: *Region of Interest*, Região de Interesse, - 181 -
rRNA: *Ribosomal Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico Ribossómico, - 200 -
rs-fcMR: *resting-state functional-connectivity Magnetic Resonance*, Ressonância Magnética com avaliação funcional em repouso, - 39 -

S

SA: *Succinic Acid*, Ácido Succínico, - 218 -
SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, - 208 -
SLC6A2: O mesmo que *Norepinephrine Transporter 1*/Transportador de Noradrenalina 1, - 31 -
SLC6A3: O mesmo que *Dopamine Active Transporter 1*, Transportador Activo de Dopamina 1, - 24 -
SLC6A4: O mesmo que *5-Hydroxytryptamine Transporter*, Transportador de 5-Hidroxitriptamina/serotonina, - 31 -
SMD: *Standardized Mean Difference*, Diferença das Médias Padronizadas, - 181 -
SNA: Sistema Nervoso Autónomo, - 234 -
SNAP25: *Synaptosomal-Associated Protein 25*, Proteína 25 Associada ao Sinaptossoma, - 31 -
SNC: Sistema Nervoso Central, - 6 -
SNE: Sistema Nervoso Entérico, - 201 -
SPECT: *Single Photon Emission Computed Tomography*, Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único, - 37 -
ssDNA: *single stranded Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico de cadeia simples, - 210 -
SSRT: *Stop Signal Reaction Time*, - 79 -

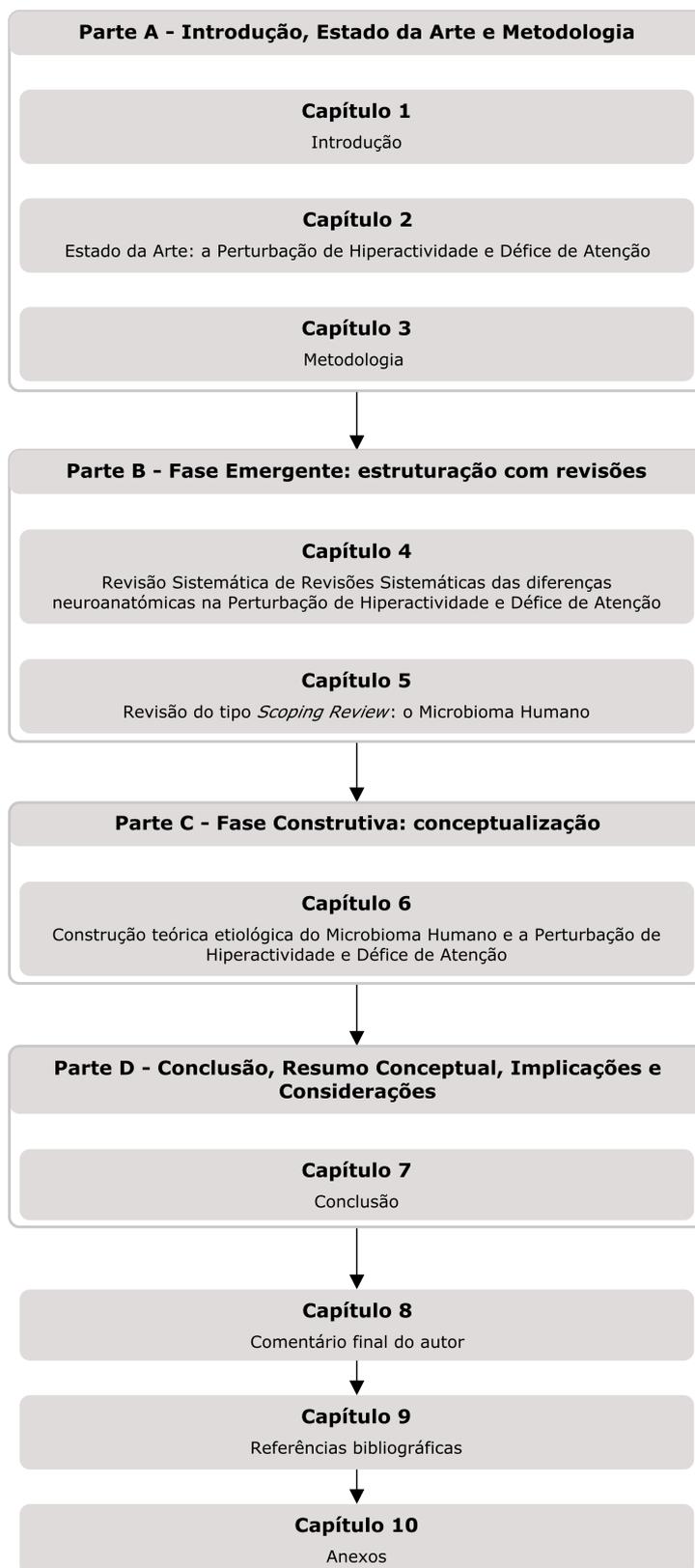
T

- T- $\gamma\delta$: Tipo gama delta de Linfócito T, - 273 -
- TBSS: *Tract-Based Spatial Statistics*, Estatística Espacial Baseada em Tractos, - 39 -
- Tc: *Cytotoxic T cell*, Linfócito T citotóxico, - 286 -
- TGF: *Transforming Growth Factor*, Factor de Transformação do Crescimento, - 279 -
- TGF- β : Tipo beta de *Transforming Growth Factor*/Factor de Transformação do Crescimento, - 279 -
- TGF- α : Tipo alfa de *Transforming Growth Factor*/Factor de Transformação do Crescimento, - 280 -
- Th: *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar, - 271 -
- Th1: Tipo 1 de *T-helper cell*/Linfócitos T auxiliar, - 279 -
- Th17: Tipo 17 de *T-helper cell*/Linfócitos T auxiliar, - 279 -
- Th2: Tipo 2 de *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar, - 280 -
- TLR: *Toll-Like Receptors*, Receptores do Tipo Toll, - 271 -
- TLR14: Tipo 14 de *Toll-Like Receptors*/Receptores do Tipo Toll, - 358 -
- TLR2: Tipo 2 de *Toll-Like Receptors*/Receptores do Tipo Toll, - 358 -
- TMS: *Transcranial Magnetic Stimulation*, Estimulação Magnética Transcraniana, - 39 -
- TNF: *Tumor Necrosis Factor*, Factor de Necrose Tumoral, - 251 -
- TNF- α : Tipo alfa de *Tumor Necrosis Factor*/Factor de Necrose Tumoral, - 251 -
- TPH2: *Tryptophan Hydroxylase 2*, Triptofano Hidroxilase 2, - 31 -
- Treg: Linfócitos T regulatórios, - 279 -
- tRNA: *transfer Ribonucleic Acid*, transportador Ácido Ribonucleico, - 222 -

V

- VBM: *Voxel-Based Morphometry*, Análise de Morfometria *voxel a voxel*, - 39 -
- VNTR: *Variable Number of Tandem Repeats*, Repetições Tandem de Número Variável, - 375 -

Organização dos capítulos



Resumo

Introdução e objectivo: a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção (PHDA) é uma das perturbações mais estudadas, com nova evidência criada a um ritmo cada vez mais frenético. No entanto, não existem biomarcadores conhecidos nem uma teoria ou modelo etiológico único. Assim, foi pretendido realizar uma teoria etiológica da PHDA que contribua para o avanço do seu estudo científico.

Metodologia e Discussão: esta tese foi realizada à luz do Pragmatismo, com um desenho de investigação com Métodos Mistos, que permitiu elaborar uma Teoria Descritiva e Relacional, com uma investigação do tipo de *Identificação de Lacunas* entre a PHDA e o Microbioma Humano, de construção *Explicativa* em duas fases, *Emergente* e *Construtiva*, e exposta em três perguntas de investigação.

Na Fase *Emergente* foi pretendido estruturar o conhecimento com revisões. Foi realizada uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatómicas na PHDA, de acordo com as directrizes *Cochrane* e critérios PRISMA, em que foram levantadas as hipóteses de que a PHDA resulta de um desequilíbrio funcional das várias redes neurais e de um envolvimento sistémico neurológico. Foi realizada uma revisão do tipo *Scoping Review* sobre o estudo científico do Microbioma Humano, demonstrando a necessidade da sua inclusão na etiologia das perturbações do foro mental e da PHDA.

Na Fase *Construtiva* ocorreu a conceptualização, numa exposição de 11 argumentos, resultando na primeira Teoria que conceptualiza como os factores ambientais influenciam o sistema digestivo e alteram o microbioma intestinal que, através do sistema imunológico, provocam alterações no sistema neurológico coerentes com as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA.

Conclusão: esta Teoria abrangeu argumentos de várias áreas de especialidade, mas assentes numa coerência transversal que realçou a necessidade prioritária da sua investigação *confirmatória* e demonstrou como, até microbiologicamente, os factores ambientais podem ser assumidos como os principais factores etiológicos individuais e transgeracionais na PHDA.

Resumo

Introdución e obxectivo: o Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividade (TDAH) será un dos trastornos máis estudados, con novos estudos creados a un ritmo cada vez máis frenético. Con todo, non hai biomarcadores coñecidos nin unha teoría ou modelo etiolóxico único. Deste xeito, pretendeuse realizar unha teoría etiolóxica do TDAH que contribúa para o avance do seu estudo científico.

Metodoloxía e discusión: esta tese foi realizada á luz do Pragmatismo, cun deseño de investigación de Métodos Mixtos que permitiu unha teoría Descritiva e Relacional, con investigación do tipo de *Identificación de Brechas* entre o TDAH e o Microbioma Humano, de construción *Explicativa* en dúas fases, *Emerxente e Construtiva*, e exposta en tres preguntas de investigación.

Durante a fase *Emerxente* pretendeuse estruturar o coñecemento con revisións. Realizouse unha Revisión Sistemática de Revisións Sistemáticas das diferenzas neuroanatómicas do TDAH, segundo as directrices *Cochrane* e criterios PRISMA, levantando as hipóteses de que o TDAH resulta dun desequilibrio funcional das diversas redes neurais e dun compromiso sistémico neurolóxico. Foi realizada unha revisión do tipo *Scoping Review* sobre o estudo científico do Microbioma Humano, que demostrou a necesidade da súa inclusión na etioloxía dos trastornos mentais e do TDAH.

Na Fase *Construtiva* ocorreu a conceptualización, nunha exposición de 11 argumentos, resultando na primeira teoría que conceptualiza como os factores ambientais inflúen no sistema dixestivo e alteran o microbioma intestinal que, a través do sistema inmunolóxico, provocan alteracións no sistema neurolóxico coherentes coas modificacións neuroanatómicas observadas no TDAH.

Conclusión: Esta Teoría aborda argumentos de varias áreas de especialización, pero baséase nunha coherencia transversal que destaca a necesidade prioritaria da súa investigación *confirmatoria* e demostrou como, mesmo microbioloxicamente, os factores ambientais poden asumirse como os principais factores individuais e transxeneracionais etiolóxicos no TDAH.

Abstract

Introduction and Objective: Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) is one of the most studied medical disorders, although there are no linked biomarkers or single theories/models that have been accepted. This thesis seeks to create an aetiological theory of ADHD that contributes to this area of research.

Methods and Discussion: we used a Pragmatist methodology with a Mixed Methods approach to build a descriptive, relational theory of an explanatory building method, between ADHD and the human microbiome, built in two stages - emergent and constructive - with three gap-spotting research questions.

During the emergent phase, we intend to structure knowledge with reviews: 1) a systematic overview of neuroanatomical differences in ADHD using Cochrane guidelines and checklist PRISMA criteria resulting in a multi-network, unbalanced, functioning hypothesis and systemic implication of the central nervous system; and 3) a scoping review for scientific studies of the human microbiome that show the need for the consideration of aetiology in mental disorders and ADHD.

During the constructive phase, the conceptual framework involving 11 arguments results in an initial theory that environmental factors influence the digestive system and change the intestinal microbiome, which, through the immunological system, changes the nervous system that correlates with ADHD.

Conclusion: This theory approaches several areas of speciality showing a transversal coherence that highlights the urgent need for investigation in a confirmatory phase. Nevertheless, it has demonstrated, to a microbiological level, how the environmental factors can be accepted as the key individual etiological and transgenerational effects in ADHD.

Parte A - Introdução, Estado da Arte e Metodologia

1 Introdução

“πόλλ' οἶδ' ἀλώπηξ, ἀλλ' ἐχῖνος ἐν μέγα” – Ἀρχίλοχος

“A raposa sabe muitas coisas, mas o ouriço sabe uma coisa muito importante” – Arquíloco, século VII a.C.¹

Em 2014 foi estimada uma população mundial de cerca de 1,8 biliões de jovens com idades entre os 5 e os 19 anos. Destes, cerca de 241 milhões poderão ser afectados por Perturbações Mentais, dos quais 63 milhões terão Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção (PHDA) (G. V. Polanczyk, Salum, Sugaya, Caye, & Rohde, 2015). Estes números quantificam a importância da compreensão dos factores envolvidos nas várias Perturbações Mentais, tendo em conta as barreiras ténues entre as várias condições, em termos nosológicos e etiológicos, e representam o seu elevado impacto no desenvolvimento pessoal, social e económico (Ferran Catalá-López, Ridao, Sanfélix-Gimeno, & Peiró, 2013; E. Q. Wu et al., 2012).

Coerentemente a esta importância, a PHDA é uma das Perturbações do Neurodesenvolvimento mais estudadas, com nova evidência criada a um ritmo cada vez mais frenético. Em 2013, eram contabilizados mais de 18 000 artigos relativos à PHDA indexados na base de dados electrónica *PubMed*, uma das principais bibliotecas de literatura biomédica (“National Center for Biotechnology Information (NCBI),” 1988). Em Março de 2018 eram já

¹ Não tendo em consideração as limitações linguísticas que suportam uma tradução dúbia do original contido na *Collectanea Adagiorum*, por Desiderius Erasmus, no ano de 1500, obra à qual não foi possível ter acesso, esta tradução está de acordo com a forma como é referenciada em obras recentes (W. Barker, 2001; Berlin, 1997; Dworkin, 2011), por sua vez com base em obras anteriores (Bland, 1814; M. L. West, 1971).

contabilizados mais de 25 000 artigos (“National Center for Biotechnology Information (NCBI),” 1988), o que representa um aumento diário de cerca de quatro artigos.

Apesar deste volume de conhecimento, o Estado da Arte realizado pretendeu identificar os seus pressupostos-chave e construir os pilares teóricos sobre os quais deve assentar o conhecimento actual da PHDA. Foi demonstrado um *enredo* (Shepherd & Suddaby, 2016) em que a PHDA permanece como um diagnóstico comportamental, com múltiplos factores biológicos envolvidos, sem biomarcadores conhecidos e sem uma teoria ou modelo etiológico único (Feuerriegel, Churches, Hofmann, & Keage, 2015; Mitchell & Goldstein, 2014; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a; Scassellati, Bonvicini, Faraone, & Gennarelli, 2012; Schecklmann et al., 2013). Cada subcapítulo corresponde às principais áreas de estudo sendo que, dado o objectivo teórico desta tese, foram mais exaustivamente expostos os capítulos relativos à base etiológica, sendo os capítulos referentes à descrição das competências e da intervenção mais focados em sumariar os principais resultados. Foi demonstrado que a *sequência* (Shepherd & Suddaby, 2016) da evidência existente é pouco conclusiva, tanto nos factores causais como na intervenção, como observado nos seguintes exemplos relativos às quatro áreas mais estudadas na PHDA:

- na intervenção farmacológica, em que a intervenção com metilfenidato apresenta o maior volume de publicações, sendo a mais aceite como primeira linha de intervenção, mas cuja evidência ainda levanta dúvidas actualmente (T. Banaschewski et al., 2016; O. Storebø et al., 2015);

- no estudo genético, em que o sistema dopaminérgico é o que se encontra mais associado à PHDA, no entanto, os seus resultados apresentam inconsistências observadas, os seus genes são associados a outras patologias e representa apenas um de cinco principais sistemas de neurotransmissores conhecidos, entre mais de cem por compreender;

- nas alterações neuroanatómicas, em que é possível observar que, apesar dos grandes avanços tecnológicos de análise neuroanatómica, a sua utilização ainda assenta nas pressuposições iniciais de há décadas traçadas por Electroencefalografia (EEG) (M. Arns, Conners, & Kraemer, 2013; Snyder & Hall, 2006; Tye, McLoughlin, Kuntsi, & Asherson, 2011), mesmo tendo as suas limitações sido já discutidas (Loo & Makeig, 2012);

- e nas dificuldades de comportamento inibitório, em que o seu estudo assenta no paradigma criado na década de 1980 (Gordon D. Logan & Burkell, 1986; Gordon D. Logan & Cowan, 1984) e actualizado recentemente (Gordon D Logan, Van Zandt, Verbruggen, & Wagenmakers, 2014).

A existência destas dúvidas, que a extensa produção científica parece não conseguir responder satisfatoriamente, leva à consideração de um cenário de *crise* (Kuhn, 1970), originado por um *conflito* (Shepherd & Suddaby, 2016) associado à exploração exaustiva de paradigmas passados ou de paradigmas que não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década. Face a esta consideração, foi pretendido realizar uma conceptualização

teórica sobre a etiologia da PHDA e que pudesse contribuir para a resolução desta fase de *crise* identificada.

O *cenário* (Shepherd & Suddaby, 2016) desta tese foi construído com três perguntas de investigação de *Identificação de Lacunas* (do inglês, *Gap-Spotting*) (Tabela 1-1), pela sua importância na produção de novas questões de pesquisa que desafiem os pressupostos estabelecidos (Alvesson & Sandberg, 2013; J. Sandberg & Alvesson, 2011).

Tabela 1-1 Visão global dos passos metodológicos utilizados

Fase Emergente: estruturação do conhecimento com revisões

Capítulo 4 - Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatômicas na PHDA

Pergunta de investigação: tendo em conta que o estudo neuroanatômico corresponde à principal área etiológica da PHDA, quais os seus pressupostos?

Objectivo: criar evidência conclusiva sobre as alterações neuroanatômicas observadas na PHDA.

Metodologia: Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas de acordo com as directrizes *Cochrane*. Capítulo publicado em formato de artigo científico, sendo inovador no estudo da PHDA pela sua metodologia e nível de evidência (Vieira de Melo, Trigueiro, & Rodrigues, 2018).

Capítulo 5 - Revisão do tipo *Scoping Review*: o Microbioma Humano

Pergunta de investigação: tendo em conta que as várias teorias explicativas da PHDA ainda não explicam os diversos aspectos etiológicos, poderá existir uma área científica emergente que apresente pressupostos viáveis de explicar os seus sintomas centrais e o restante conjunto das características descritas?

Objectivo: expor o conhecimento actual da área emergente do estudo científico do Microbioma Humano.

Metodologia: Revisão do tipo *Scoping Review*.

Fase Construtiva: conceptualização

Capítulo 6 - Construção teórica etiológica do Microbioma Humano e a PHDA

Pergunta de investigação: podem as alterações do Microbioma Humano estar etiológicamente relacionadas com a PHDA?

Objectivo: criar uma nova Teoria etiológica relacionando o Microbioma Humano e as alterações neuroanatômicas na PHDA.

Metodologia: Teoria Descritiva e Relacional de construção *Explicativa* com investigação do tipo de *Identificação de Lacunas*, com base nos princípios de construção teórica (do inglês, *theory building*).

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Estruturação com base nos princípios de construção teórica (Alvesson & Kärreman, 2007, 2011; Alvesson & Sandberg, 2013; Carpiano & Daley, 2006; Eastwood, Jalaludin, & Kemp, 2014; Eastwood, Kemp, & Jalaludin, 2016; Fawcett & Downs, 1986; Karreman & Levay, 2017; D. L. Morgan, 2018; J. Sandberg & Alvesson, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016).

Ontologicamente, esta tese foi construída à luz do Pragmatismo, pela necessidade de procurar uma área de conhecimento emergente válida para a etiologia da PHDA e pela sequente estruturação da evidência e conceptualização teórica. A sua flexibilidade, centrada no problema, possibilitou a realização das primeiras fases de uma construção teórica sobre o possível envolvimento etiológico do Microbioma Humano na PHDA. Foi utilizado livremente um pluralismo de tipos de raciocínio, como a *indução*, *dedução*, *afastamento* (do inglês,

abduction) e *retrodução* (do inglês, *retroduction*), o que permitiu criar vários argumentos preliminares com múltiplos níveis de coerência e tendo em consideração os vários contextos sociais, históricos, antropológicos, geológicos e biológicos (Creswell, 2009).

Epistemologicamente, foi escolhida uma abordagem de Métodos Mistos (do inglês, *Mixed Methods*), com uma aproximação ao método misto paralelo convergente (do inglês, *Convergent parallel mixed methods*) (Creswell, 2009). Este desenho de investigação permitiu a conjugação de metodologias quantitativas e qualitativas, para a elaboração de uma teoria descritiva e relacional de construção do tipo *Explicativo* e dividida em duas fases, *Emergente* e *Construtiva* (Eastwood et al., 2014).

Durante a Fase *Emergente* foi pretendido estruturar o conhecimento com revisões, sendo identificadas as duas *personagens* (Shepherd & Suddaby, 2016) desta teoria. A primeira revisão corresponde a uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatômicas na PHDA (Vieira de Melo et al., 2018) em que foi pretendido criar os pressupostos sólidos das alterações neuroanatômicas observadas na PHDA e dar suporte às seguintes perguntas de investigação e construção teórica desta tese. Foi demonstrado que a PHDA apresenta um comprometimento encefálico generalizado, tendo sido levantada a hipótese da existência de um desequilíbrio funcional entre as várias redes neurais e a consideração de que as suas construções teóricas etiológicas devem contemplar uma possível implicação sistémica do Sistema Nervoso Central (SNC).

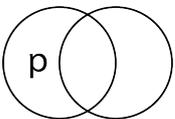
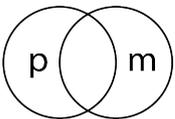
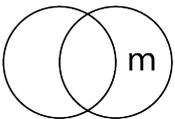
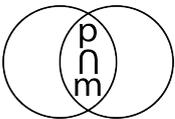
A segunda revisão corresponde a uma revisão do tipo *Scoping Review* com o objectivo de identificar os conceitos-chave da evidência do estudo científico do Microbioma Humano que podem ser conceptualmente associados à etiologia da PHDA. Após uma pesquisa exploratória das áreas científicas emergentes possíveis de serem etiológicamente ligadas à PHDA, foi identificado que o estudo do Microbioma Humano apresenta um nível de conhecimento que assenta no recente desenvolvimento tecnológico de sequência genética, o que permitiu uma associação preliminar às Perturbações do Neurodesenvolvimento, como no caso da Perturbação do Espectro do Autismo (PEA). Em 2017, surge o primeiro estudo que identifica alterações da constituição do microbioma intestinal entre participantes com PHDA e um grupo controlo representativo da normalidade (Aarts et al., 2017). No entanto, actualmente, não existe nenhuma publicação que explore, especificamente, qual a relação etiológica entre estas alterações e a PHDA.

A Fase *Construtiva* corresponde à construção teórica da ligação etiológica entre a PHDA e o Microbioma Humano. Foi neste capítulo que esta tese pretendeu ser uma Teoria Descritiva e Relacional, cujo *arco narrativo* (Shepherd & Suddaby, 2016) resultou numa exposição de 11 argumentos, do A ao K, suportados numa coerência científica que progressivamente ergueram os pilares teóricos que a suportam. De uma forma geral, esta tese representa a primeira Teoria que conceptualiza como os factores ambientais influenciam o sistema digestivo e alteram o

microbioma intestinal que, através do sistema imunológico, provocam alterações no sistema neurológico coerentes com as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA.

Dada a extensão desta tese foram utilizadas estratégias na sua narrativa. Na redacção dos capítulos foram usadas duas estratégias em que, por um lado, foram construídos de forma a reflectirem a conclusão do próprio capítulo e, por outro lado, foram imediatamente seguidos do resumo do seu conteúdo. Estas duas estratégias não foram rigorosamente aplicadas a todos os capítulos, como o exemplo do Estado da Arte e da Metodologia, de forma a respeitar o estilo clássico da fundamentação teórica e da construção de artigo científico. Adicionalmente, foi utilizada uma estratégia visual em que a cada capítulo foi associado o símbolo correspondente do seu conteúdo (Tabela 1-2). A conjugação destas estratégias pretendeu antecipar o leitor para a conclusão desse mesmo capítulo e facilitar o transporte dos conceitos-chave a serem considerados durante toda a construção teórica da Fase *Construtiva*.

Tabela 1-2 Símbolos utilizados na redacção desta tese

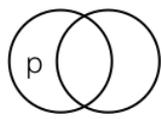
Imagem	Significado	Em utilização
	Relativo ao conceito da PHDA.	No capítulo 2 sobre o Estado da Arte da PHDA e no capítulo 4, sobre a Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatómicas na PHDA.
	Relativo ao conceito da PHDA ou do Microbioma Humano.	No capítulo 3 sobre a Metodologia.
	Relativo ao conceito do Microbioma Humano.	No capítulo 5 sobre a revisão do tipo <i>Scoping Review</i> sobre o Microbioma Humano.
	Relativo ao conceito da PHDA e do Microbioma Humano.	No capítulo 6 sobre a Construção teórica etiológica do Microbioma Humano e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Figuras originais (Adobe Systems Incorporation, 2017).

Começando na *crise* do Estado da Arte, passando na estruturação neuroanatómica da primeira revisão, na fundamentação microbiana da segunda revisão e terminando na conceptualização teórica, esta tese teve o objectivo máximo de contribuir para o conhecimento científico da PHDA e contrariar a fase de *crise* considerada, através de uma nova teoria que suporte futuros estudos empíricos. Foi procurado alternar, flexivamente, entre dois extremos. O de fechamento de perguntas de *raposa que sabe muitas coisas*, através de uma utilização de conceitos entre as várias áreas do conhecimento científico, e de abertura conceptual a perguntas inovadoras, através de um papel de *ouriço que sabe muito sobre uma coisa*, com um centro específico teórico microbiota-intestino-imuno-neurológico.

Em última instância, esta tese aspirou a ser uma Teoria Descritiva e Relacional, com uma investigação do tipo de *Identificação de Lacunas* entre a PHDA e o Microbioma Humano, de construção *Explicativa* em duas fases, *Emergente* e *Construtiva*, e exposta em três perguntas de investigação. Esta tese conceptualiza como, até microbiologicamente, foi observado que os factores ambientais podem ser assumidos como os principais factores etiológicos individuais e transgeracionais na PHDA.



2 Estado da Arte: a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Existe um volume significativo de publicações, assimetricamente distribuídas pelas várias áreas de conhecimento e com um grande aumento nos últimos anos; a evidência é transversalmente confusa e pouco conclusiva; os principais paradigmas têm sido exhaustivamente testados ou não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década; existe a necessidade de regressar à fase de criação de novas construções teóricas.

Desde o século XX que a PHDA gera controvérsia conceptual que se mantém até hoje e sem previsão de encerramento breve. A primeira referência histórica terá sido realizada no século II, pelo filósofo e físico romano Cláudio Galeno, em que na enumeração dos diferentes tipos da personalidade, refere uma descrição parcialmente típica da PHDA (Matthews, Nigg, & Fair, 2013). As primeiras descrições clínicas surgem no século XX: em 1902, Still especulou que a PHDA poderia ser um défice no controlo moral; em 1917, Lafora mencionou a existência de crianças com actividade constante, um alto nível de desatenção e sem atraso intelectual; e em 1931, Silder descreveu a hipercinésia de pacientes com antecedentes de perturbações perinatais (Matthews et al., 2013; Trujillo-Orrego, Ibáñez, & Pineda, 2012a).

O uso de tratamentos psico-estimulantes só se iniciou em 1937 em indivíduos com hiperkinésia, sintoma interpretado como sinal de uma ligeira disfunção neurológica. Mais tarde, em 1962, Clements e Petersen adoptam o termo “disfunção cerebral mínima” e assinalam a necessidade

de uma avaliação etiológica que implicava a revisão de factores genéticos, gestacionais, perinatais e traumas emocionais (Matthews et al., 2013; Trujillo-Orrego et al., 2012a).

Com a publicação dos manuais de diagnóstico e estatística das Perturbações Mentais, a PHDA começou a ter uma referência epidemiológica e elementos de validade psicométrica, a partir dos estudos de caso e controlo, que enfatizaram a sistematização de sintomas comportamentais para gerar categorias diagnósticas dicotómicas (Trujillo-Orrego et al., 2012a). A segunda edição do Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais (DSM, do inglês, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) (American Psychiatric Association, 1952, 1968) foi a primeira a abordar o problema da hiperactividade e impulsividade em crianças, denominando-o por reacção hipercinética infantil (Matthews et al., 2013; Trujillo-Orrego et al., 2012a). Posteriormente, em 1970, outros manuais começaram a considerar a inclusão das alterações observadas na PHDA como parte de um quadro clínico na infância, como o caso da Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (ICD, do inglês, *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*) (World Health Organization, 2016a). Em 1979, Douglas e Peters argumentaram que os défices observados se relacionavam com a manutenção da atenção e com o esforço que lhe era associado, o que gerava dificuldades de inibição dos impulsos comportamentais, problemas de regulação dos níveis de activação em situações exigentes e uma forte necessidade de reforço imediato. Após o reconhecimento destas características, somente na publicação da terceira edição do DSM (American Psychiatric Association, 1980) se alterou a denominação para *Défice de Atenção com e sem Hiperactividade*, dando início à tentativa de classificação em diferentes grupos e ao forte estudo da PHDA (Trujillo-Orrego et al., 2012a).



2.1 Nosologia

A PHDA é uma Perturbação do Neurodesenvolvimento com impacto funcional em vários contextos.

Actualmente, de acordo com a Organização Mundial de Saúde pela sua ICD, a PHDA encontra-se incluída nas *Perturbações Mentais e de comportamento*, mais especificamente, nas *Perturbações de comportamento e perturbações emocionais específicas da infância ou da adolescência* (World Health Organization, 2016a). Esta classificação considera que os primeiros sintomas devem surgir na infância ou na adolescência, podem continuar ao longo da vida e são divididos em três subtipos: subtipo desatento com predomínio de sintomas de falta de atenção; subtipo hiperactivo-impulsivo com predomínio de sintomas de hiperactividade e/ou de impulsividade; e subtipo combinado quando está presente num número significativo dos três grupos de sintomas de desatenção, hiperactividade e impulsividade (World Health Organization, 2016a).



2.1.1 Critérios de diagnóstico

A PHDA surge na infância, progride até à vida adulta e está dividida em três subtipos.

Inevitavelmente, a PHDA encontra-se contemplada pela Associação Americana de Psiquiatria (do inglês, *American Psychiatric Association*) na sua mais recente edição do DSM (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2013). A Associação Americana de Psiquiatria identifica a PHDA como uma Perturbação do Neurodesenvolvimento, com o surgimento dos comportamentos durante a infância, acrescentando, no entanto, o efeito negativo no funcionamento pessoal, social, académico e ocupacional. Estão identificados alguns comportamentos resultantes da desatenção e desorganização como, por exemplo, dificuldade em permanecer numa tarefa, divagar durante a realização das tarefas, falta de persistência, não responder quando é chamado ou perder o material escolar. Relativamente à hiperactividade são englobados comportamentos de maior actividade, manipulação constante de objectos, dificuldade em permanecer sentado, dificuldade em esperar pela sua vez e intromissão nas actividades dos outros. Em adultos, pode ser manifestada através de uma inquietação constante e de um nível elevado de actividade. Na impulsividade podem estar presentes comportamentos, ou acções, que advêm da falta de planeamento antecipado e que podem chegar a ser prejudiciais para o próprio. Estes comportamentos podem reflectir um desejo de recompensa imediata e repercutem-se na relação com os outros ou nas suas



tomadas de decisão (American Psychiatric Association, 2013). A lista de critérios comportamentais necessários ao diagnóstico encontra-se exposta na Tabela 2-1.

Tabela 2-1 Critérios de diagnóstico da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Lista de critérios de diagnóstico para a PHDA, segundo o DSM-5

Critério A. Um padrão persistente de desatenção e/ou hiperactividade-impulsividade, que interfere com o funcionamento ou desenvolvimento e caracterizado pelo ponto (1) e/ou o ponto (2).

(1) Desatenção: seis (ou mais) dos seguintes sintomas persistiram, pelo menos, durante seis meses num grau que é incoerente com o nível de desenvolvimento e que tem impacto negativo directo nas actividades sociais, académicas ou ocupacionais:

Nota: os sintomas não são apenas uma manifestação de comportamentos de oposição, desafio, hostilidade ou falhas na compreensão de tarefas ou instruções. Para adolescentes mais velhos e adultos (17 anos e mais) são necessários pelo menos cinco sintomas.

- a. Frequentemente falha em prestar atenção suficiente aos pormenores ou comete erros por descuido nas tarefas escolares, no trabalho ou noutras actividades (por exemplo, negligencia ou perde pormenores ou o trabalho é impreciso);
- b. Frequentemente tem dificuldade em manter a atenção no desempenho de tarefas ou actividades (por exemplo, tem dificuldade em manter-se concentrado durante as aulas, conversas ou leitura prolongada);
- c. Frequentemente parece não ouvir quando se lhe fala directamente (por exemplo, parece estar com o pensamento noutra assunto, mesmo na ausência de uma distração óbvia);
- d. Frequentemente não segue as instruções e não termina os trabalhos escolares, encargos ou deveres no local de trabalho (por exemplo, inicia as tarefas, mas depressa perde a concentração e é facilmente desviado);
- e. Frequentemente tem dificuldade em organizar tarefas e actividades (por exemplo, tem dificuldade em gerir tarefas sequenciais, tem dificuldade em manter os materiais e os seus haveres em ordem, tem um trabalho confuso e desorganizado, tem uma pobre gestão de tempo ou falha em cumprir prazos);
- f. Frequentemente evita, não gosta ou está relutante em envolver-se em tarefas que requeiram um esforço mental mantido (por exemplo, trabalhos escolares ou de casa. No caso de adolescentes mais velhos e adultos destacam-se a preparação de relatórios, completar formulários ou rever textos longos);
- g. Frequentemente perde objectos necessários para tarefas ou actividades (por exemplo, os materiais escolares, lápis, livros, ferramentas, carteiras, chaves, documentos, óculos ou telemóveis);
- h. Frequentemente é distraído com facilidade com outros estímulos (para adolescentes mais velhos e adultos podem ser também considerados os pensamentos não relacionados com a tarefa);
- i. Esquece-se com frequência das actividades quotidianas (por exemplo, efetuar tarefas, fazer recados. No caso dos adolescentes mais velhos e adultos destacam-se o devolver chamadas, pagar contas ou manter compromissos).

(2) Hiperactividade e Impulsividade: seis (ou mais) dos seguintes sintomas persistiram, pelo menos, durante seis meses num grau que é incoerente com o nível de desenvolvimento e que tem um impacto negativo directo nas actividades sociais, académicas ou ocupacionais:

Nota: os sintomas não são apenas uma manifestação de comportamentos de oposição, desafio, hostilidade ou falhas na compreensão de tarefas ou instruções. Para adolescentes mais velhos e adultos (17 anos e mais) são necessários pelo menos cinco sintomas.

- a. Frequentemente agita ou bate com as mãos e os pés ou remexe-se quando está sentado;
-

-
- b. Frequentemente levanta-se em situações em que se espera que esteja sentado (por exemplo, levanta-se do seu lugar na sala de aula, no escritório ou outro local de trabalho ou noutras situações que requerem a permanência na posição de sentado);
 - c. Frequentemente corre ou salta em situações em que é inadequado fazê-lo (no caso de adolescentes ou adultos, pode apenas sentir-se irrequieto);
 - d. Frequentemente é incapaz de jogar ou envolver-se com tranquilidade em actividades de lazer;
 - e. Está frequentemente "em movimento", agindo como se estivesse "ligado a um motor" (por exemplo, sente-se desconfortável ou é incapaz de estar quieto por períodos extensos como em restaurantes ou encontros. Pode ser experienciado por outros como estando impaciente ou com dificuldade em acompanhar);
 - f. Frequentemente fala em excesso;
 - g. Frequentemente precipita as respostas antes que as perguntas tenham acabado (por exemplo, completa as frases das pessoas ou não consegue esperar pela sua vez de entrar na conversa);
 - h. Frequentemente tem dificuldades em esperar pela sua vez (por exemplo, enquanto espera numa fila);
 - i. Frequentemente interrompe ou interfere nas actividades dos outros (por exemplo, intromete-se nas conversas, jogos ou actividades, pode começar a usar as coisas das outras pessoas sem pedir ou receber permissão. No caso de adolescentes e adultos, pode intrometer-se ou assumir o controlo do que os outros estão a fazer).

Critério B. Vários dos sintomas de desatenção ou hiperactividade-impulsividade surgiram antes dos 12 anos de idade.

Critério C. Vários dos sintomas de desatenção ou hiperactividade-impulsividade estão presentes em dois ou mais contextos (por exemplo, em casa, escola, trabalho, com amigos, familiares ou noutras actividades).

Critério D. Existem provas evidentes de que os sintomas interferem, ou reduzem, a qualidade do funcionamento social, académico ou ocupacional.

Critério E. Os sintomas não ocorrem exclusivamente durante o curso de Esquizofrenia, ou outra perturbação psicótica, e não são melhor explicados por outra perturbação mental (por exemplo, Perturbação do Humor, Perturbação da Ansiedade, Perturbação Dissociativa, Perturbação da Personalidade ou Abstinência de Substâncias).

Outros pontos.

Podem ser considerados três subtipos da PHDA consoante a frequência e a intensidade dos comportamentos de desatenção e/ou hiperactividade-impulsividade exibidos pela criança:

1. Apresentação Combinada: ocorre quando estão preenchidos o Critério A1 (Desatenção) e o Critério A2 (Hiperactividade-impulsividade);
2. Apresentação Predominantemente de Desatenção: ocorre quando está preenchido o Critério A1 (Desatenção), mas não o Critério A2 (Hiperactividade-impulsividade);
3. Apresentação Predominantemente de Hiperactividade-impulsividade: ocorre quando está preenchido o Critério A2 (Hiperactividade-impulsividade), mas não o Critério A1 (Desatenção).

Remissão parcial:

Quando os critérios foram anteriormente preenchidos e, nos últimos seis meses, são preenchidos os critérios abaixo da sua totalidade e os sintomas resultam em alterações de funcionalidade social, académica ou ocupacional.

Severidade dos sintomas:

Ligeira: quando são identificados poucos, ou nenhuns, dos sintomas, para além dos necessários para realizar o diagnóstico no presente. Os sintomas resultam apenas em alterações menores de funcionalidade social e ocupacional.

Moderada: quando estão presentes sintomas e alterações de funcionalidade ligeiras e severas.
Severa: quando são identificados muitos sintomas para além dos necessários para realizar o diagnóstico, quando são identificados vários sintomas severos ou quando os sintomas resultam em acentuadas alterações de funcionalidade social ou ocupacional.

Legenda: DSM *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.
(American Psychiatric Association, 2013).

Os três subtipos da PHDA foram delineados durante o período de vigência da quarta edição do DSM (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994, 2000), de 1994 a 2013, mantendo-se na transição para a recente quinta edição: subtipo desatento com predomínio de sintomas de falta de atenção; subtipo hiperactivo com predomínio de sintomas de hiperactividade e/ou de impulsividade; e subtipo combinado quando estão presentes os três grupos de sintomas de desatenção, hiperactividade e impulsividade. A principal fragilidade da estruturação dos critérios definidos pelo DSM-IV relaciona-se com a dificuldade em diferenciar os graus de gravidade, sendo observável que estes subtipos se mostram instáveis devido a alterações sistemáticas e aleatórias ao longo do tempo (Trujillo-Orrego et al., 2012a; Erik G Willcutt et al., 2012). A divisão realizada nesta edição foi sustentada pela sua validade, apesar dos subtipos terem a sua classificação constantemente questionada pela possibilidade de serem variantes relacionadas e que diferem apenas na graduação da sua severidade (Stawicki, Nigg, & von Eye, 2006; Trujillo-Orrego et al., 2012a; Trujillo-Orrego, Ibáñez, & Pineda, 2012b; Erik G Willcutt et al., 2012). Como complemento na consideração de tais critérios, esta alteração permitiu o desenvolvimento de instrumentos de avaliação a serem aplicados em múltiplos contextos, o que contribuiu para a diminuição de erros de diagnóstico, suportando assim o início da procura de marcadores biológicos e etiológicos (Trujillo-Orrego et al., 2012a).

A quarta edição serviu o seu propósito na identificação dos casos com PHDA em qualquer idade e deu suporte à classificação adoptada, em 2013, pelo DSM-5. Esta última versão manteve a divisão, no entanto, com algumas alterações importantes nos seus critérios: 1) foi considerada a PHDA como condição de neurodesenvolvimento; 2) foi considerada a necessidade das alterações ocorrerem antes dos 12 anos de idade, o que permitiu englobar alguns casos de desatenção e que poderiam não apresentar alterações de desempenho tão cedo (maioritariamente os casos femininos); 3) tornou-se necessário que as alterações de comportamento sejam observadas em, pelo menos, dois contextos, o que assegura uma observação mais global; 4) para os casos acima dos 17 anos o número de critérios necessários ao diagnóstico diminui de seis para cinco; e 5) foi adicionado o conceito de *remissão parcial* como reconhecimento de que dois terços das crianças com PHDA não apresentam alterações de desempenho nas actividades de vida diária após os 18 anos (American Psychiatric Association, 2013; Austerman, 2015).

Apesar de, novamente, esta quinta edição ser confrontada com evidência que questiona a sua classificação (Kofler, Raiker, Sarver, Wells, & Soto, 2016), esta tese assentará nosologicamente nos três subtipos mencionados: desatento, hiperactivo e combinado.



2.1.2 Impacto na funcionalidade

O impacto na funcionalidade é tão importante como os critérios comportamentais.

Para além das características comportamentais, o conhecimento tem evoluído relativamente à compreensão do impacto destes sintomas na funcionalidade nas actividades de vida diária, como a maior desorganização e tarefas por completar, no desempenho académico, como as baixas notas e maior abandono escolar, no desempenho laboral, como o menor rendimento ou as trocas laborais frequentes, e pessoais e interpessoais, como o consumo de substâncias e os comportamentos de risco (Bolte et al., 2014; Sharma & Couture, 2014).

Tem ocorrido um aumento progressivo do interesse na investigação de resultados como a funcionalidade e a qualidade de vida, para a comparação do prejuízo provocado pelos sintomas e dos resultados das intervenções realizadas (Harrison & Rosenblum, 2010). Desta forma, tem sido adquirida a compreensão de que o impacto da PHDA se encontra ao mesmo nível que outras patologias do foro físico ou mental (Danckaerts et al., 2010; Veló, Keresztény, Szentiványi, & Balázs, 2013), principalmente em termos emocionais e sociais (Y. Lee et al., 2016). A sintomatologia apresenta uma representação desproporcionalmente superior em termos de qualidade de vida (Carona, Silva, & Moreira, 2015), o que tem redireccionado a intervenção para além da intervenção farmacológica (Agarwal, Goldenberg, Perry, & Ishak, 2012), sendo acompanhada por instrumentos de avaliação que incluem os resultados funcionais nas análises de eficácia (Carona et al., 2015; Y. Lee et al., 2016).

Assim, surgem associados aos principais manuais de diagnóstico outras ferramentas de avaliação como a *Global Assessment of Functioning Scale* (American Psychiatric Association, 2000), para uma avaliação global de problemas psicossociais e funcionais, e a *World Health Organization Disability Assessment Schedule* (World Health Organization, 2017b). No entanto, estas ferramentas não fornecem um perfil compreensivo do nível de funcionamento do indivíduo, característica importante para a avaliação de uma condição cujos sintomas isoladamente têm impacto na capacidade de desempenho (Balázs & Keresztény, 2014; Bolte et al., 2014). Por outro lado, a Classificação Internacional de Funcionalidade (ICF, do inglês, *International Classification of Functioning, Disability and Health*) (World Health Organization, 2016b).

A ICF foi introduzida em 2001, focando-se na funcionalidade, no impacto do contexto e em padronizar a avaliação internacionalmente. Estes dois factores permitiram criar uma estrutura comum e transversal às várias condições e contextos, ultrapassando a conceptualização redutora puramente médica ou biológica das disfunções. É acrescida a importância dos factores individuais e contextuais no resultado que uma disfunção, ou alteração, pode representar (World Health Organization, 2016b).

Um dos pontos fortes deste instrumento é relativo à sua extensão, abrangendo a classificação de 1424 categorias. No entanto, esta característica resulta que, na sua aplicação prática, apresente limitações estruturais e de coerência, tornando-se demasiado exaustiva. Por isso, seguindo o mesmo objectivo de padronizar a comunicação e a avaliação da funcionalidade entre as diferentes áreas de conhecimento e patologias, foi iniciado o processo de criar *Core Sets*, que representam listas curtas de categorias nucleares para as diferentes condições (Bolte et al., 2014).

Até à data, já foram desenvolvidos *Core Sets* para diversas condições, mas, relativamente à PHDA, o projecto passou a fase preparatória de Revisão da Literatura, opiniões de peritos e estudo transversal, entre os anos de 2013 e 2015, identificando as categorias representativas da sintomatologia central da PHDA: funções mentais globais da energia e dos impulsos (b130), funções mentais específicas da atenção (b140) e psicomotoras (b147) (de Schipper, Lundquist, et al., 2015). Nas Actividades e Participação são principalmente identificadas alterações de desempenho na educação escolar, nos autocuidados, em levar a cabo uma rotina, no trabalho remunerado e nas relações interpessoais. Nos Factores Ambientais são identificados, principalmente, o impacto familiar, os sistemas de educação e saúde, assim como a atitude de pares, técnicos e comunidade no geral reflectindo a grande influência multidimensional do contexto na PHDA (de Schipper, Mahdi, et al., 2015).

Na comparação entre as categorias que são consideradas durante esta fase, foram identificados menos factores ambientais. Este facto poderá ser interpretado pelo menor nível de detalhe destes factores na ICF, ou pela tendência enraizada de serem destacados os sintomas, perdendo-se a visão complementar de que os factores ambientais são igualmente, ou mais, prejudiciais para a funcionalidade.

Posteriormente, a segunda fase implicará o teste e a validação da primeira edição consensual. Será assim esperado que forme o caminho através do qual se perspetive a PHDA para além do equilíbrio químico ou clínico, abrangendo o impacto no contexto e das suas exigências no desempenho ocupacional.



2.2 Epidemiologia

A presença da PHDA é transversal ao sexo, à idade e ao contexto.

O estudo quantitativo e a distribuição da PHDA estão intimamente ligados aos critérios que permitem a sua identificação. É assim compreensível a relação com os principais métodos de classificação referidos anteriormente, em que apesar de estruturarem critérios para esta mesma condição, nem sempre o fazem com convergência total. Assumir, desta forma, um valor da prevalência, mundial ou regional, irá sempre depender dos critérios e instrumentos utilizados, do processo de recolha de informação, dos avaliadores envolvidos, das exigências culturais que estabelecem os limites de referenciação, do contexto e dos factores de risco associados assim como outros factores que impedem uma generalização conclusiva de um valor da prevalência da PHDA. Assim, neste subcapítulo foi pretendido apresentar os resultados da prevalência abordando as principais diferenças entre a utilização da ICD e do DSM, entre crianças e adultos, uma vez que é uma condição que permanece ao longo da vida, entre os sexos e entre os diferentes contextos.



2.2.1 Relação com o manual de classificação

Os resultados da prevalência da PHDA carecem de interpretação conjunta com o manual de classificação utilizado.

Tendo em conta que a PHDA é um diagnóstico clínico, os critérios utilizados e a validade das medidas utilizadas são centrais para os resultados gerados. Inevitavelmente, tanto a ICD como o DSM apresentam algumas variações nos seus critérios que influenciam as estimativas da prevalência. Por exemplo, na décima edição da ICD (ICD-10) (World Health Organization, 2016a), a Perturbação Hiperactiva requeria um número mínimo de sintomas nos três domínios de desatenção, hiperactividade e impulsividade. Por outro lado, o DSM-IV apresentava um mínimo de seis sintomas em uma ou duas dimensões de desatenção e hiperactividade-impulsividade (American Psychiatric Association, 1994). A ICD-10 requeria que os sintomas fossem identificados em dois ou mais contextos, enquanto o DSM-IV não requeria que a totalidade dos sintomas e alterações de desempenho estivessem presentes em cada contexto, apenas que existissem critérios suficientes em dois contextos. Consequentemente, as estimativas realizadas com base na ICD-10 são consistentemente mais baixas às realizadas com o DSM-IV (Ferrán Catalá-López et al., 2012; G. B. Polanczyk,



Lima, Horta, Biederman, & Rohde, 2007; G. Polanczyk & Jensen, 2008), respectivamente de 2,4% e 4,1% (G. V. Polanczyk, Willcutt, Salum, Kieling, & Rohde, 2014). Estes resultados indicaram a necessidade dos estudos epidemiológicos serem internacionalmente padronizados de forma a que os resultados pudessem ser comparáveis (G. B. Polanczyk et al., 2007). Uma necessidade que ainda se mantém (G. V. Polanczyk et al., 2014).

O DSM tem assumido o principal papel nos estudos epidemiológicos, demonstrando não existir diferença significativa nos valores da prevalência entre as diferentes formas de avaliação (Erik G. Willcutt, 2012) ou entre a terceira e a quarta edição do DSM (American Psychiatric Association, 1980; Thomas, Sanders, Doust, Beller, & Glasziou, 2015). Não existem até ao momento revisões que sistematizem a prevalência da PHDA com base no DSM-5. Desta forma, os valores discutidos nesta tese são relativos ao DSM-IV.



2.2.2 Prevalência da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

A prevalência da PHDA apresenta uma tendência entre 5% e 10%.

Enquadrada num cenário mundial que reporta uma prevalência de 13,4% das Perturbações Mentais (G. V. Polanczyk et al., 2014), as primeiras tentativas de sistematizar a quantificação da prevalência da PHDA através de Metanálise, utilizando a ICD e o DSM, reportam valores de 5,3% (G. B. Polanczyk et al., 2007), mas que podem variar entre os 0,2% e 27,0% por revisão qualitativa (G. Polanczyk & Jensen, 2008). Mais recentemente, tendo em conta o procedimento de avaliação, a prevalência foi identificada entre os 4,0% e os 13,3%, com uma maior proporção do subtipo desatento no ensino básico. O subtipo combinado foi maioritariamente observado em amostras clínicas, possivelmente pela implicação de desempenho em mais contextos (Erik G. Willcutt, 2012).

A Tabela 2-2 conjuga as Revisões Sistemáticas até hoje publicadas com o objectivo de sintetizar as tentativas realizadas da quantificação estatística da PHDA. Assumir um valor global da prevalência dependerá da valorização que for dada às limitações e contextos que cada revisão apresenta, o que ultrapassa o âmbito desta tese.

Tabela 2-2. Sumário das Revisões Sistemáticas, com e sem Metanálise, relativas à prevalência da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Autor; Ano	Objectivo	Metanálise	Número de estudos (anos)	Resultados
Polanczyk et al. (2007)	Estimar a prevalência mundial da PHDA e as causas das diferentes estimativas.	Sim	102 (1978-2005)	Prevalência mundial de 5,29%. A variabilidade encontrada foi justificada pela heterogeneidade dos artigos e métodos de diagnóstico.
Polanczyk e Jensen (2008)	Rever os novos resultados da epidemiologia da PHDA.	Não	71 (1997-2007)	Mínimo e máximo da prevalência de 0,2% e 27%. A variabilidade encontrada foi justificada pela heterogeneidade dos artigos e métodos de diagnóstico. O DSM-IV gera maior prevalência que a ICD-10.
Simon et al. (2009)	Estimar a prevalência da PHDA no adulto e a sua correlação demográfica.	Sim	6 (1996-2007)	Prevalência mundial de 2,5%. Grande variabilidade nos resultados. A prevalência no adulto diminui com a idade.
Shooshtary et al. (2010)	Estimar a prevalência da PHDA no Irão.	Não	14 (1997-2010)	Prevalência entre 3% e 20% do subtipo combinado, 3% e 4% do subtipo hiperactivo e 2,25% e 2,4% do subtipo desatento.
Catalá-López et al. (2012)	Estimar a prevalência da PHDA em Espanha.	Sim	14 (1980-2011)	Prevalência de 6,8%, em Espanha. Grande variabilidade de resultados.
Willcutt (2012)	Estimar a prevalência mundial da PHDA.	Sim	86 (1994-2010)	Prevalência entre 5,9% e 7,1%, em crianças e adolescentes. Prevalência de 5,0% em adultos.
Erskine et al. (2013)	Estimar a prevalência da PHDA nas várias regiões mundiais.	Sim	44 (1978-2006)	Estimativa global de 2,2% para o sexo masculino e 0,7% para o sexo feminino em idades entre os 5 e os 19 anos.
Polanczyk et al. (2014)	Actualizar as revisões referentes à prevalência da PHDA. Testar por Metanálise o efeito do ano na variabilidade da prevalência da PHDA.	Sim	135 (1985-2012)	Sobreposição de cerca de 50% dos artigos com revisões passadas. A prevalência mantém-se estável de 1985 a 2012 (sem valor global calculado). Sem influência da localização geográfica.
Thomas et al. (2015)	Estimar a prevalência da PHDA utilizando versões diferentes do DSM.	Sim	175 (1977-2013)	Prevalência global de 7,2%.

Polanczyk et al. (2015)	Estimar a prevalência mundial das diversas doenças mentais.	Sim	48 (1985-2012)	Prevalência geral de doenças mentais de 13,4% e da PHDA de 3,4%.
Alhraiwil et al. (2015)	Estimar a prevalência da PHDA nos vários países Árabes.	Não	22 (1978-2014)	Prevalência entre os 7,8% e 11,1% em idades dos 6 aos 12 anos.

Legenda: DSM-IV Quarta edição do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*/Manual de Diagnóstico e Estatística das Perturbações Mentais; ICD-10 Décima edição da *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*/Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

(Alhraiwil, Ali, Househ, Al-Shehri, & El-Metwally, 2015; Ferrán Catalá-López et al., 2012; Erskine et al., 2013; G. B. Polanczyk et al., 2007; G. Polanczyk & Jensen, 2008; G. V. Polanczyk et al., 2015, 2014; Shooshtary et al., 2010; V Simon, Czobor, Balint, Meszaros, & Bitter, 2009; Thomas et al., 2015; Erik G. Willcutt, 2012).

No intervalo de tempo de 2007 a 2015, representado na Tabela 2-2, surgem dois factores nosológicos importantes que são relativos à entrada em vigor do DSM-5 e à assunção da continuidade da PHDA para a vida adulta.



2.2.2.1 Relação com os sexos

O sexo masculino tem maior prevalência e associação ao subtipo combinado. O sexo feminino tem tendência para o subtipo desatento.

A primeira Metanálise epidemiológica identificada recua a 1997, tendo o objectivo de analisar as diferenças da prevalência entre o sexo masculino e o feminino (Gaub & Carlson, 1997). Foram claramente identificadas as diferenças comportamentais previamente especuladas de que apesar da maior prevalência em rapazes, as raparigas com PHDA apresentam um menor nível de actividade, menos diagnósticos comportamentais, mas um maior impacto cognitivo que os rapazes. Por possíveis limitações dos estudos pioneiros, não foram observadas alterações nas diferentes competências e contextos (Gaub & Carlson, 1997).

Estes pressupostos iniciais, de uma forma geral, têm-se mantido constantes ao longo do tempo. Existe uma maior prevalência do diagnóstico em rapazes (Bauermeister, Canino, Polanczyk, & Rohde, 2010; Erskine et al., 2013; Gershon & Gershon, 2002; Shooshtary et al., 2010; Erik G. Willcutt, 2012) cerca de 2,4 a 4 vezes superior (Erskine et al., 2013; G. B. Polanczyk et al., 2007; G. Polanczyk & Jensen, 2008), no entanto este valor poderá ser principalmente influenciado pelo processo de referenciação e pela eficácia de tratamento e não pela distribuição pela população (G. Polanczyk & Jensen, 2008). Comparativamente aos rapazes, as raparigas apresentam menores alterações de atenção (Gershon & Gershon, 2002; Shooshtary et al., 2010; Erik G. Willcutt, 2012), hiperactividade e impulsividade (Gershon & Gershon, 2002; Erik G. Willcutt, 2012) sendo coerente com a menor prevalência observada no sexo feminino. No entanto, foi observada uma tendência para que o subtipo desatento esteja mais relacionado com as raparigas e o subtipo combinado com os rapazes (Erik G. Willcutt, 2012). Apesar de existir uma maior proporção de casos com PHDA em rapazes apenas durante a infância, não foi confirmada a suposição de que o sexo feminino poderia ser um

factor que contribui para a persistência da PHDA na vida adulta (Caye et al., 2016). Por outro lado, apesar de não serem observadas diferenças entre os sexos em termos de desempenho académico e social, tanto em termos cognitivos como em provas específicas (Hasson & Fine, 2012), foram observadas diferenças significativas entre os dois sexos com pior desempenho verbal das raparigas (Gershon & Gershon, 2002).



2.2.2.2 Relação com a idade

O conhecimento relativo à PHDA na vida adulta é ainda muito preliminar.

A prevalência na vida adulta deverá ser analisada de uma forma mais complexa, em grande parte, porque o conhecimento actual está assente em versões anteriores dos manuais de diagnóstico, cujos critérios de diagnóstico eram menos sensíveis a identificar os casos que progridem ao longo da vida, principalmente pela complexidade entre factores de risco, as consequências da PHDA e as alterações das exigências ambientais e culturais (Stephen V. Faraone, Biederman, & Mick, 2005). O padrão observado da prevalência tem um aumento acentuado dos 4 aos 9 anos, seguido de uma rápida diminuição ao longo da vida (Erskine et al., 2013). Apesar das alterações no DSM-5 que amplia para antes dos 12 anos o intervalo juvenil em que podem iniciar os sintomas, continua a ser insuficiente para permitir a identificação dos casos durante a vida adulta. Esta menor sensibilidade poderá ser uma das possíveis razões para que só 15% dos casos que cumprem os critérios do DSM numa fase infantil, os continuem a apresentar aos 25 anos (Erskine et al., 2013; Stephen V. Faraone et al., 2005), mesmo quando cerca de 40 a 80% da sintomatologia se mantém até à fase adulta (Stephen V. Faraone et al., 2005; B. Ferreira, Pio-Abreu, & Januario, 2014; Sharma & Couture, 2014). Este valores podem, no entanto, ser significativamente inferiores, entre 4 e 66% (V Simon et al., 2009; Viktória Simon et al., 2007), ou 4 e 4,5% na população americana (Sharma & Couture, 2014). Assim, uma avaliação em adultos estritamente realizada pelo DSM assim levar a uma estimativa inferior à real (V Simon et al., 2009). Dentro destas limitações, a estimativa da prevalência durante a vida adulta é assumida entre os 2,5% e os 5% (G. Polanczyk & Jensen, 2008; V Simon et al., 2009; Erik G. Willcutt, 2012).

Com estas limitações metodológicas foi observado um declínio sintomatológico com o aumento da idade e transversal à hiperactividade, impulsividade e desatenção (Caye et al., 2016; V Simon et al., 2009; Erik G. Willcutt, 2012) em que a gravidade da PHDA e a presença de comorbilidade com as Perturbações da Conduta e Depressiva são os principais factores associados à continuidade para a fase adulta (Caye et al., 2016). Várias explicações poderão estar na base desta aparente diminuição, no entanto, não é actualmente possível a sua compreensão pela já mencionada menor sensibilidade do DSM, pela falta de instrumentos adequados à população adulta e pela falta de estudos que se foquem neste assunto (Caye et al., 2016). Em termos clínicos poderá ser um indicativo do aumento da capacidade inibitória funcional das regiões corticais frontais, com o aumento da mielinização e do número de interneurónios inibitórios (B. Ferreira et al., 2014). No contexto, poderá ser um indicativo da



mudança na exigência social como, por exemplo, a diminuição do tempo exigido para permanecer sentado ou a flexibilidade dada a um adulto para realizar as suas tarefas (Stephen V. Faraone et al., 2005). Independentemente das possíveis explicações, o impacto na funcionalidade na fase adulta foi observado em vários níveis como no menor desempenho laboral, um menor nível socioeconómico, um impacto negativo nas relações afectivas (Caye et al., 2016; Sharma & Couture, 2014), e uma influência da hereditariedade em mais sintomas de ansiedade e depressão, alterações alimentares e uma maior participação em actividades desportivas (Bergen, Gardner, & Kendler, 2007).

De uma forma geral, os resultados epidemiológicos e as suas ferramentas utilizadas estão mais direccionados e aprofundados para crianças em idade escolar, adolescentes e jovens adultos, comparativamente a crianças em idade pré-escolar ou adultos. Tendo em conta a mais recente assunção da continuidade da PHDA na vida adulta, como condição crónica e persistente, esta assimetria de conhecimento, embora compreensível, torna-se incoerente com os pressupostos teóricos. Será, actualmente, uma das prioridades de investigação, acrescida pelo facto de que os casos identificados na infância se vão inevitavelmente repercutir na terceira idade, uma população cujas combinações farmacológicas e de comorbilidade são de frequência muito elevada. Poderá assim haver uma grande interacção da PHDA com as patologias degenerativas características dessa idade. Até à data, apenas uma Revisão da Literatura abordou especificamente esta fragilidade de conhecimento, salientando que as idades máximas dos estudos que abordam a PHDA na vida adulta não atingem os 50 anos (Goodman, Mitchell, Rhodewalt, & Surman, 2016). Assim, mantém-se a necessidade de desenvolver um modelo da PHDA que seja transversal às várias etapas de vida (Goodman et al., 2016; Erik G. Willcutt, 2012), e que será correspondida nesta tese.



2.2.2.3 Relação com o contexto

A PHDA aparenta ter uma distribuição mundial e contextualmente transversal.

Os contextos ambiental e cultural têm influência nos factores etiológicos da PHDA, uma vez que as primeiras estimativas apontaram para uma contribuição de apenas 80% dos factores hereditários (G. B. Polanczyk et al., 2007). Objectivamente, existe evidência que suporta o argumento de que o diagnóstico da PHDA não é uma construção de culturas específicas. Em 2007 não foram identificadas diferenças na prevalência entre a América do Norte e a Europa (G. B. Polanczyk et al., 2007). Posteriormente surgiram revisões focadas em países específicos, mas com resultados similares: no Irão, com a limitação de várias metodologias, foi identificada uma prevalência do subtipo combinado de 3 a 20%, do subtipo hiperactivo de 3 a 4% e do subtipo desatento de 2,25 a 2,4% (Shooshtary et al., 2010); em Espanha, com a limitação da heterogeneidade entre estudos, foi identificado um valor da prevalência de 6,8% (Ferrán Catalá-López et al., 2012); e na região Árabe com uma prevalência conjunta de 22 países de 7,8 a 11,1% em crianças dos 6 aos 12 anos, e de 16% em crianças dos 3 aos 15 anos (Alhraiwil et al., 2015). Outras revisões relativas aos Estados Unidos da América, mas



em contextos específicos, identificaram uma prevalência média de 11% nos serviços de protecção de menores (Bronsard et al., 2016) e de 10% para rapazes e 20% para raparigas nos estabelecimentos de detenção e correcção infantil (Fazel, Doll, & Langstrom, 2008).

Em 2010, os resultados do projecto mundial *Global Burden of Disease*, pela Organização Mundial de Saúde, demonstrou um padrão consistente na idade, na prevalência actual e nos valores medianos da prevalência, entre os anos de 1990 e 2010 e entre todas as regiões envolvidas, de 0,7% para raparigas e 2,2% para rapazes (Erskine et al., 2013). Em 2014, na mais recente tentativa de escala mundial não foram encontradas diferenças significativas entre os continentes, suportando mais uma vez o conceito de que a expressão e a estrutura dos sintomas da PHDA se mantêm inalterados como expressão cultural. No entanto, estas conclusões deverão ser sempre enquadradas com a heterogeneidade dos estudos incluídos nestas revisões, principalmente nas tentativas de comparação mundial (G. V. Polanczyk et al., 2014).

Dadas as limitações apresentadas dos métodos de avaliação para a população adulta, assim como a variedade de factores contextuais na transição para a vida adulta, não existe uma estrutura de pesquisa epidemiológica dos casos adultos com PHDA. Em 2008, foi identificada uma estimativa de 4,4% da prevalência na vida adulta, no entanto, com grandes diferenças entre os países, como o exemplo da França com 7,3%, Espanha com 1,2%, México e Colômbia com 1,9% e Líbano com 1,8% (G. Polanczyk & Jensen, 2008). Estas diferenças poderão ser significativamente maiores caso se aprofunde esta temática ou sejam melhoradas as limitações na avaliação dos sintomas e dos diferentes papéis e exigências culturais da população adulta. A relação entre o contexto e a PHDA, como factor de risco ou como consequência, será um dos pontos mais sensíveis e discutíveis.



2.3 Etiologia

A PHDA apresenta múltiplos factores etiológicos fragilmente identificados.

A PHDA é uma das condições neurocomportamentais mais frequentes e mais estudadas. De uma forma geral, é uma condição crónica multifactorial, sem biomarcadores identificados, interligada por factores genéticos e contextuais e com uma comorbilidade de fronteiras ténues.

As hipóteses iniciais da reduzida função cerebral foram baseadas nas observações do menor volume e funcionamento da matéria encefálica branca e cinzenta, o que provocaria as alterações no processamento cognitivo, na atenção, no planeamento motor, na velocidade de resposta e noutras condições comportamentais. Mais recentemente emergem outras áreas associadas à PHDA que demonstraram uma diminuição de volume e menor activação como o córtex pré-frontal, o núcleo caudado e o cerebelo. Estas áreas estão envolvidas com as redes neurais associadas à atenção, pensamento, emoções e comportamento, e com o funcionamento dos neurotransmissores dopamina e noradrenalina². Coerentemente, os resultados etiológicos genéticos apontam para uma redução da funcionalidade destes sistemas, justificada pela menor densidade dos receptores dopaminérgicos e pelos polimorfismos dos receptores D4 (DRD4, do inglês, *Dopamine Receptor D4*) e D5 (DRD5, do inglês, *Dopamine Receptor D5*) e o transportador de dopamina 1 (DAT1, do inglês, *Dopamine Active Transporter 1*. Também referenciado como SLC6A3). Apesar do sistema noradrenérgico não demonstrar a mesma evidência, a alteração do seu receptor $\alpha 2A$ resulta em alterações de atenção, do controlo de impulsos e hiperactividade (Sharma & Couture, 2014).

Dentro dos factores de risco ambientais, a prematuridade apresenta a principal relação com a PHDA. Outros factores como o baixo peso à nascença, idade e saúde materna, exposição a tabaco e álcool durante a gestação, tipo de parto e exposição química ambiental são reportados como aumentando o risco de desenvolver a PHDA. No entanto, até à data, a interpretação destes factores é limitada pela qualidade da evidência (Sciberras, Mulraney, Silva, & Coghill, 2017).

Esta tese não pretendeu compilar a progressão histórica destas descobertas, mas apresentar as razões mais entendidas e aceites actualmente. Por uma questão de organização expositiva,

² De acordo com os argumentos anatómicos, históricos e etimológicos, nesta tese, serão utilizados os termos adrenalina e noradrenalina em vez dos termos respectivos de epinefrina e norepinefrina (Aronson, 2000).

os factores etiológicos referidos no parágrafo anterior serão de seguida abordados individualmente, terminando com os modelos explicativos que os procuram interpretar.



2.3.1 Neurotransmissores, genética e farmacogenética

As décadas da extensa investigação genética e dos sistemas de neurotransmissores ainda não permite encerrar grandes perguntas.

Nas décadas de 1980 e 1990, com o desenvolvimento tecnológico e a formalização do projecto de codificação do genoma humano, adensou-se a procura de respostas numa das áreas que aspira ser a raiz de todas as justificações: a genética. Deu-se início à busca de respostas genéticas para perguntas etiológicas que se encontravam por responder. A maioria ainda permanece.

Cedo na década de 1990, com o estudo das famílias e dos gémeos, foi referida a grande associação dos comportamentos típicos da PHDA com a expressão genética, tendo um risco associado duas a oito vezes superior (Aguiar, Eubig, & Schantz, 2010; Neale et al., 2010; Tannock, 1998). Foi enraizada, com fundamento, a ideia de que 80% das suas características estariam associadas à carga poligenética, sendo que cada gene estaria individualmente associado a 5% das variações de fenótipo (DiMaio, Grizenko, & Joober, 2003). Complicou-se o entendimento desta questão quando outras Perturbações Mentais tiveram igual crescendo de interesse na procura de respostas genéticas, sendo facilmente ténue a barreira entre as alterações genéticas específicas de cada diagnóstico, como o exemplo dos genes dopaminérgicos (Levinson, 2005; Nemoda, Szekely, & Sasvari-Szekely, 2011).

Estes factos alimentaram a rápida procura de múltiplos genes, o que permitiu a realização das primeiras revisões que tentaram organizar a relação com as catecolaminas³ e, especificamente, com os genes dopaminérgicos (Arnsten & Lombroso, 2000; Blum et al., 1995; S R Pliszka, McCracken, & Maas, 1996). Somente na década de 2000 surgiram as Revisões Sistemáticas assentes em Metanálise para tentar responder a esta associação genética.

Até à actualidade, os resultados têm sido repetidamente pouco expressivos para permitirem finalizar as questões em aberto, apontando por vezes para ramificações ainda maiores e mais dispersas. Em 2008 é corroborada a associação entre a PHDA e os genes até então sinalizados, no entanto, é identificada uma nova área, *bin 16.4*, contendo mais de 200 genes não estudados na sua relação com a PHDA (K. Zhou et al., 2008). Torna-se cada vez mais claro que a complexidade aumenta com a evidência transversal a várias áreas, levando a

³ As catecolaminas são monoaminas como a dopamina, adrenalina e noradrenalina.

questionar os fundamentos etiológicos iniciais (Aguiar et al., 2010). Recentemente, abriram-se novas opções de pesquisa com a implicação entre o gene codificador da enzima Óxido Nítrico Sintase do tipo 1 (NOS1, do inglês, *Nitric Oxide Synthase 1*), o único neurotransmissor gasoso do SNC com principal associação nos núcleos da base (Weber et al., 2015), e a associação a genes de *dedo* de zinco, também presentes noutras patologias (Y. Sun et al., 2015).

Tem também sido procurado fazer a correspondência entre os pressupostos teóricos e os diferentes sistemas de neurotransmissores. No entanto, apesar do conceito de *neurotransmissor* ser um argumento teórico fácil, a sua definição nem sempre é concisa. Estas dúvidas basilares podem minar a elaboração de questões mais complexas como, por exemplo, quais os neurotransmissores e os seus sistemas que justificam os comportamentos observados. Apesar desta tese ser realizada no âmbito comportamental e educacional, e não médico e genético, os fundamentos etiológicos neurocientíficos, tanto os neuroanatómicos como os dos neurotransmissores, estão intimamente vinculados à sintomatologia comportamental. Por esta razão, provar-se-ia incompleta uma análise etiológica do comportamento que não abordasse a neuroanatomia e, por sua vez, os mecanismos de comunicação entre as áreas, os neurotransmissores e as vias através das quais estas mesmas áreas comunicam. Torna-se assim necessário definir alguns conceitos que serão usados na análise e elaboração desta tese. Esses mesmos conceitos serão acompanhados da mais recente evidência genética e farmacogenética⁴.



2.3.1.1 Os neurotransmissores e os seus sistemas

A evidência actual permite compreender parcialmente cinco neurotransmissores, entre mais de uma centena por compreender.

Um *neurotransmissor* pode ser definido como uma substância libertada por um neurónio que afecta um alvo específico como, por exemplo, outro neurónio ou órgão effector (músculo ou glândula). São substâncias proteicas, à semelhança de outros agentes, no entanto, diferenciados pelo local e circunstâncias da sua acção. Com base nesta definição, *neurotransmissores* e *hormonas* são bastante similares. A separação entre estes conceitos é feita considerando que os neurotransmissores normalmente actuam em alvos perto do local de transmissão, enquanto as hormonas são libertadas na corrente sanguínea afectando alvos distantes. Ainda com base nesta definição, os neurotransmissores assemelhar-se-ão a autacóides⁵, no entanto, o neurotransmissor também actua num alvo além do próprio neurónio e alguns neurotransmissores são recaptados por auto-receptores no terminal pré-sináptico. Adicionalmente, são também definidos pela sua interacção com os receptores ser considerada

⁴ Por uma questão de simplificação expositiva, nesta tese será consistentemente utilizado o termo *farmacogenética* em detrimento do termo *farmacogenómica*, cujas diferenças metodológicas ultrapassam o âmbito desta tese.

⁵ Substâncias produzidas pelo próprio organismo e que actuam na célula da qual foram libertadas.

rápida (milissegundos a minutos), apesar disso, o seu efeito pode resultar em alterações a longo prazo (horas a dias) nas células alvos (Kandel, Schwartz, Jessell, Siegelbaum, & Hudspeth, 2013; Kolb & Wishhaw, 2009; R. D. Miller, 2015; Purves et al., 2012).

Outros factores têm contribuído para a dificuldade desta definição, por exemplo, a dificuldade em demonstrar que um transmissor específico tem determinado efeito numa sinapse devido à velocidade da recaptação e da difusão. O recente aumento do interesse nos astrócitos, células não neurais, permitiu identificar que também sintetizam, armazenam e libertam neurotransmissores e possuem receptores que modulam o seu próprio funcionamento. Com base em todas estas indefinições, um número limitado de substâncias com baixo peso molecular é genericamente aceite como sendo neurotransmissores. Existem mais de cem neurotransmissores diferentes que dão possibilidade a uma enorme variabilidade de sinalização química entre os neurónios (Kandel et al., 2013; Kolb & Wishhaw, 2009; R. D. Miller, 2015; Purves et al., 2012). É contra estas dificuldades basilares que a tentativa de compreensão genética e farmacogenética tem lutado para chegar a respostas. É assim facilmente compreensível que ainda permaneçam grandes questões à espera de serem fechadas.

À luz das mais recentes direcções da neurobiologia, para uma substância ser considerada um neurotransmissor deve obedecer a quatro critérios obrigatórios: 1) ser sintetizado no neurónio pré-sináptico; 2) estar presente no terminal pré-sináptico e ser libertado em quantidades suficientes para provocar uma acção no neurónio pós-sináptico ou órgão efector; 3) quando administrado exogenamente deve conseguir reproduzir a acção do transmissor endógeno (por exemplo, activa os mesmos canais de iões ou as vias secundárias mensageiras na célula pós-sináptica); e 4) deve existir um mecanismo específico de remover a substância da fenda sináptica (Kandel et al., 2013; Kolb & Wishhaw, 2009; R. D. Miller, 2015).

No entanto, a divisão mais aceite é baseada no tamanho e composição química, em que são considerados transmissores de pequeno tamanho molecular, neuropéptidos e transmissores gasosos. A Tabela 2-3 tenta demonstrar esta mesma divisão através de uma selecção dos neurotransmissores mais estudados. O local de produção e as vias correspondentes dos neurotransmissores de pequeno tamanho molecular, pela maior complexidade de informação, serão organizados graficamente na Tabela 2-4. Tendo em conta o seu número elevado, alguns neurotransmissores foram omitidos com base na sua relação com a PHDA.

Tabela 2-3. Principais neurotransmissores

		Neurotransmissores	Efeito pós-sináptico	Mecanismo de remoção	Tipo de vesícula	Precursor
Transmissores de pequeno tamanho molecular	Aminas Catecolaminas	Acetilcolina	Excitatório	Acetilcolinesterase	Pequena	Colina
		Dopamina	Excitatório	Transportadores, COMT, enzima monoamina oxidase	Pequena/grande	Tirosina
		Noradrenalina	Excitatório	Transportadores, COMT, enzima monoamina oxidase	Pequena/grande	Tirosina
		Adrenalina	Excitatório	Transportadores, COMT, enzima monoamina oxidase	Pequena/grande	Tirosina
	Indolamina	Serotonina	Excitatório	Transportadores, enzima monoamina oxidase	Grande	Triptofano
		GABA	Inibitório	Transportadores	Pequena	Glutamina
		Glutamato	Excitatório	Transportadores	Pequena	Glutamina
		Glicina	Inibitório	Transportadores	Pequena	Serina
	Aminoácidos	Histamina	Excitatório	Transportadores	Grande	Histidina
		ATP	Excitatório	Hidrólise para AMP e adenosina	Pequena	ADP
Local	Hormonas libertadoras hipotalâmicas	Hormona libertadora de tirotrófina				
		Hormona libertadora de gonadotrofina				
		Somatostatina	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
		Hormona libertadora de corticotrofina				
		Hormona libertadora de crescimento				
	Hormona neurohipofisária	Vasopressina	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
		Oxitocina				
	Péptido pituitário	Hormona adrenocorticotrófica				
		β-Endorfina				
		α-hormona estimuladora de melanócito	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
Prolactina						
		Hormona Luteinizante				

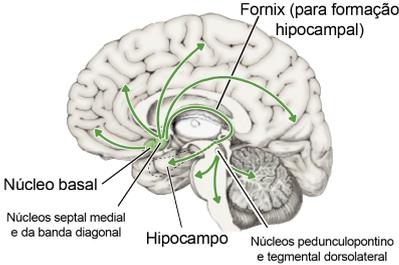
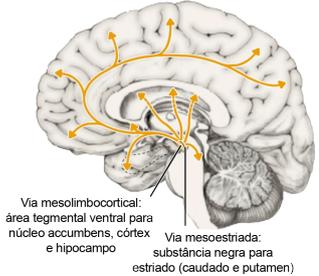
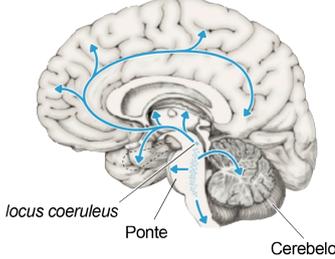
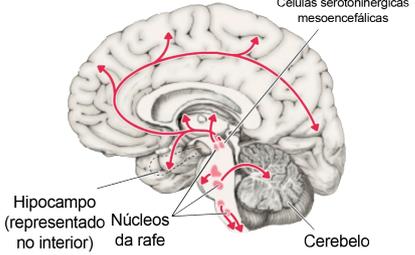
Hormona pineal	Hormona de crescimento Tirotrófina				
	Melatonina	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
Péptidos gastrointestinais	Péptido vasoativo intestinal				
	Colecistocinina				
	Gastrina				
	Substância P				
	Neurotensina				
	Metionina-encefalina	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
	Leucina-encefalina				
	Insulina				
	Glicagina				
	Bombesina				
Secretina					
Somatostatina					
Motilina					
Coração	Péptido natriurético atrial	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
Outras	Angiotensina II				
	Bradicinina				
	Péptido(s) do sono				
	Calcitonina				
	Neuropéptido Y	Excitatório e inibitório	Protease	Grande	Aminoácidos (síntese de proteína)
	Neuropéptido Yy				
	Galanina				
Substância K (neuroquinina A)					
Gás	Óxido nítrico	Excitatório e inibitório	Oxidação espontânea	Nenhuma	Arginina

Legenda: ADP *Adenosine Diphosphate*, Adenosina Difosfato; AMP *Adenosine Monophosphate*, Adenosina Monofosfato; ATP *Adenosine Triphosphate*, Adenosina Trifosfato; COMT *Catecol O-Metiltransferase*; GABA *Gamma-Aminobutyric Acid*, Ácido Gama-Aminobutírico.

(Kandel et al., 2013; Kolb & Wishhaw, 2009; R. D. Miller, 2015; Purves et al., 2012).

A Tabela 2-4 reflecte a informação teórica mais cimentada relativamente aos quatro sistemas excitatórios dos neurotransmissores acetilcolina, dopamina, noradrenalina e serotonina. Os corpos celulares de cada neurónio encontram-se localizados em vários locais encefálicos sendo denominados, respectivamente, como colinérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos e serotoninérgicos.

Tabela 2-4. Principais sistemas de neurotransmissores

	Sistema	Origem	Projeções	Localização dos receptores	Função associada
Colinérgico	 <p>Fornix (para formação hipocampal)</p> <p>Núcleo basal</p> <p>Núcleos septal medial e da banda diagonal</p> <p>Hipocampo</p> <p>Núcleos pedunculopontino e tegmental dorsolateral</p>	<p>Núcleo basal; núcleo septal; núcleo da banda diagonal. Tronco cerebral: núcleo pedúnculo-pontino; núcleo tegmental.</p>	<p>Córtex; hipocampo; amígdala; formação reticular; tálamo.</p>	<p>Junção neuromuscular; neurónio pré-ganglionares do SNA; neurónios pós-ganglionares do SNA parassimpático.</p>	<p>Nível de alerta; controlo motor; memória; sono.</p>
Dopaminérgico	 <p>Via mesolímbica: área tegmental ventral para núcleo accumbens, córtex e hipocampo</p> <p>Via mesostriada: substância negra para estriado (caudado e putâmen)</p>	<p>Substância negra; área tegmental ventral. Diencefalo: núcleo arqueado do hipotálamo.</p>	<p>Corpo estriado (núcleo caudado e putâmen); sistema límbico (núcleo accumbens; córtex; hipocampo; amígdala); hipófise.</p>	<p>Terminações das projecções dos tractos: negro-estriado; mesocortical; túbero-infundibular.</p>	<p>Controlo motor; emoção; atenção; sistema de recompensa; motivação.</p>
Noradrenérgico	 <p>locus coeruleus</p> <p>Ponte</p> <p>Cerebelo</p>	<p>Cerúleo; área tegmental ventral; medula.</p>	<p>Prosencéfalo; hipotálamo; tálamo; cerebelo; ponte; espinal medula.</p>	<p>Terminações das projecções dos tractos; células ganglionares simpáticas do sistema visceral.</p>	<p>Sono; nível de alerta; atenção; fome; aprendizagem; movimento; emoções; humor; comportamento sexual; sistema de recompensa.</p>
Serotoninérgico	 <p>Células serotoninérgicas mesencefálicas</p> <p>Hipocampo (representado no interior)</p> <p>Núcleos da rafe</p> <p>Cerebelo</p>	<p>Núcleos da rafe.</p>	<p>Prosencéfalo; espinal medula.</p>	<p>Terminações das projecções dos tractos; hipocampo; cerebelo; medula espinal.</p>	<p>Nível de alerta; atenção; cognição; aprendizagem; sono; humor; emoções; ritmo circadiano; comportamento motor.</p>

Legenda: SNA Sistema Nervoso Autónomo.

(Kandel et al., 2013; Kolb & Wishaw, 2009; R. D. Miller, 2015; Purves et al., 2012). Figuras traduzidas e adaptadas (N. V. Watson & Breedlove, 2015).

Com esta esquematização realizada foi pretendido auxiliar a compreensão dos estudos genéticos na PHDA, uma vez que procuram relacionar os fenótipos com os neurotransmissores e as vias do SNC. Cada neurotransmissor tem o seu local ou locais de origem. Cruzando esta informação com as respostas específicas, comportamentais ou não, que são elicitadas por essas mesmas regiões, é possível delinear o funcionamento do SNC em diversos sistemas. No entanto, facilmente são compreensíveis as possibilidades incontáveis de relacionamento entre os neurotransmissores e o comportamento observado,

porque: estão identificados mais de cem compostos que se comportam como neurotransmissores; muitos possuem múltiplos locais de produção e efeito; coexistem múltiplos neurotransmissores nos mesmos terminais ou sinapses; podem ser armazenados conjuntamente vários tipos na mesma vesícula pré-sináptica; e o comportamento observável é resultado da concentração relativa de vários neurotransmissores em vez da relação causa-efeito entre um neurotransmissor e os seus receptores (Kandel et al., 2013; Kolb & Wishhaw, 2009; R. D. Miller, 2015; Purves et al., 2012).



2.3.1.2 O estudo genético e farmacogenético

Os genes dopaminérgicos são os mais consistentemente associados à PHDA, mas também a outras perturbações.

Após as primeiras revisões com implicações etiológicas direccionadas aos genes dopaminérgicos, em 2009 são abordados outros genes de múltiplos sistemas na relação com a PHDA (Tabela 2-5):

- sistema dopaminérgico, com os genes associados aos Receptores de Dopamina do tipo D1 (DRD1, do inglês, *Dopamine Receptor D1*), D2 (DRD2, do inglês, *Dopamine Receptor D2*), D3 (DRD3, do inglês, *Dopamine Receptor D3*), DRD4 e DRD5 e ao transportador de dopamina DAT1;

- sistema noradrenérgico, com os genes associados ao transportador de noradrenalina 1 (NET1, do inglês, *Norepinephrine Transporter 1*. Também referenciado como SLC6A2) e aos receptores α 2A (ADRA2A, do inglês, *Adrenergic Receptor α 2A*) e α 2C (ADRA2C, do inglês, *Adrenergic Receptor α 2C*);

- sistema serotoninérgico, com os genes associados ao transportador de serotonina⁶ (5-HTT, do inglês, *5-Hydroxytryptamine Transporter*, também referenciado como SLC6A4), aos receptores 1B (HTR1B, do inglês, *5-Hydroxytryptamine Receptor 1B*) e 2A (HTR2A, do inglês, *5-Hydroxytryptamine Receptor 2A*) e à síntese de serotonina pela enzima triptofano hidroxilase 2 (TPH2, do inglês, *Tryptophan Hydroxylase 2*);

- enzimas metabólicas, como a Catecol O-Metiltransferase (COMT) e a Dopamina β -hidroxilase (DBH);

- e vias do SNC, como a proteína da membrana plasmática pré-sináptica responsável pela regulação da libertação dos neurotransmissores, a proteína 25 associada ao sinaptossoma (SNAP25, do inglês, *Synaptosomal-Associated Protein 25*), e o Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF, do inglês, *Brain-Derived Neurotrophic Factor*).

Reuniu-se a principal evidência em torno dos genes dopaminérgicos DAT1, DRD4 e DRD5, dos genes serotoninérgicos 5-HTT/SLC6A4 e HTR1B e das vias do sistema do SNC (SNAP25 e BDNF). No entanto, esta divisão tem sido questionada, como exposto nos seguintes

⁶ Também denominada 5-Hidroxitriptamina ou 5-HT. Nesta tese será utilizada a denominação *serotonina*.

exemplos. É excluída a relação com os genes noradrenérgicos na primeira revisão que procurou verificar a associação da PHDA com 18 genes referentes aos vários sistemas de neurotransmissores (Gizer, Ficks, & Waldman, 2009), no entanto, foram incluídos artigos de um outro autor que apresenta trabalhos publicados que referem uma maior associação relativamente aos genes noradrenérgicos (Comings et al., 2000). O gene codificador do receptor DRD5 foi possivelmente associado na infância, mas não tem suporte de evidência na associação com a vida adulta, sendo incoerente com a continuidade da PHDA (Klein et al., 2016). Ou a associação entre o gene codificador da proteína inibidora de angiogénese (BAIAP2, do inglês, *Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1-Associated Protein 2*) e de ácido docosahexaenóico (DHA, do inglês, *Docosahexaenoic Acid*), mas que foi somente observada em adultos com PHDA e possivelmente implicada na assimetria entre hemisférios de causa desenvolvimental (Bonvicini, Faraone, & Scassellati, 2016).

Tabela 2-5. Sumário das Revisões Sistemáticas, com e sem Metanálise, relativas à etiologia genética da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Autor; Ano	Objectivo	Metanálise	Número de estudos (anos)	Resultados
Blum et al. (1995)	Confirmar a relação entre a PHDA e o DRD2.	Não	Não reportado	Confirmada a associação entre o comportamento impulsivo pela via dopaminérgica de recompensa.
Faraone et al. (2001)	Verificar a associação entre a PHDA e o DRD4-7R.	Sim	16 (1996-2000)	Pequena relação estatisticamente significativa entre DRD4-7R. Viés de publicação identificado.
Maher et al. (2002)	Verificar a associação entre a PHDA e os genes dopaminérgicos DRD4, DRD5 e DAT1.	Sim	22 (1995-2001)	Confirmada associação com DRD4 e DRD5. Relação com DAT1 excluída. Viés de publicação excluído.
DiMaio et al. (2003)	Verificar a associação entre a PHDA e os genes DAT1, DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5, COMT e DBH.	Não	71 (1991-2002)	Confirmada associação entre DAT1 e DRD4. Revisão com alguns genes estudados em animais.
Purper-Quakil et al. (2005)	Verificar a associação entre a PHDA e o DAT1.	Sim	12 (1995-2003)	Sem relação significativa entre a PHDA e o DAT1. Heterogeneidade significativa entre estudos.
Cheuk e Wong (2006)	Verificar a associação entre a PHDA e a COMT.	Sim	12 (1999-2005)	Sem relação significativa entre PHDA e a COMT.
Li et al. (2006)	Verificar a associação entre a PHDA e os genes dopaminérgicos DAT1,	Sim	73 (1995-2005)	Resultados que vão desde fracos a não significativos na sua relação entre os genes

	DRD4 e DRD5 nas populações asiáticas e europeias.			dopaminérgicos DAT1, DRD4 e DRD5 nas populações asiáticas e europeias.
Yang et al. (2007)	Verificar a associação entre a PHDA e o DAT1.	Sim	25 (1998-2006)	Pequena relação estatisticamente significativa com o DAT1. Heterogeneidade entre estudos e métodos.
Zhou et al. (2008)	Conjugar os resultados dos estudos associados ao método <i>Genome Scan Meta-Analysis</i> .	Sim	7 (2003-2009)	Corroborar os genes previamente identificados. Identifica nova área, bin 16.4, com mais de 200 genes não estudados relativamente à PHDA.
Gizer et al. (2009)	Verificar a associação entre a PHDA e 18 genes candidatos.	Sim	Múltiplas amostras para cada gene (1991-2008)	Associação significativa relativamente aos genes DAT1, DRD4, DRD5, 5HTT, HTR1B e SNAP25.
Forero et al. (2009)	Verificar a associação entre a PHDA e cinco genes candidatos.	Sim	75 (1995-2008)	Associação significativa entre DRD4, DRD5 e SNAP25.
Nikolaidis e Gray (2010)	Verificar internacionalmente a associação entre a PHDA e o DRD4-7R, procurando relacionar com o contexto cultural.	Sim	23 (1999-2008)	Associação significativa entre a PHDA e o DRD4. Associação idêntica entre grupos caucasianos e sul americanos. Diferença de associação com grupos do médio oriente.
Sánchez-Mora et al. (2010)	Verificar a associação entre adultos europeus com PHDA e o gene BDNF.	Sim	Artigos publicados e não publicados, de quatro centros de investigação, em quatro países	Sem associação entre a PHDA e o gene BDNF.
Neale et al. (2010)	Conjugar os resultados dos estudos associados a quatro projectos associados ao método <i>Genome Scan Meta-Analysis</i> .	Sim	Quatro amostras relativas a quatro centros de investigação nos Estados Unidos da América	Nenhuma associação significativa identificada. Os genes candidatos foram previamente identificados noutras publicações.
Smith (2010)	Verificar se associação entre a PHDA e o gene DRD4-7R varia de acordo com o tipo de estudo	Sim	27 (1996-2009)	O gene DRD4-7R está mais relacionado com a PHDA do subtipo combinado do que o subtipo desatento.
Franke et al. (2010)	Verificar a associação entre a PHDA e o DAT1 das	Sim	Amostras relativas ao programa IMPACT	Pequena relação estatisticamente significativa com o DAT1. Possível

	amostras do programa IMpACT.			diferença de associação do haplótipo entre crianças e adultos.
Wu et al. (2012)	Verificar a associação entre a PHDA e os genes dopaminérgicos.	Sim	Múltiplas amostras para cada gene (1996-2011)	Associação significativa entre a PHDA e DRD2, DRD4 e DRD5.
Shiffrin et al. (2013)	Verificar a associação entre a PHDA e o gene noradrenérgico ADRA2A.	Sim	8 (2001-2008)	Nenhuma associação significativa entre a PHDA e o polimorfismo do gene ADRA2A.
Sun et al. (2014)	Verificar a associação entre a PHDA e o gene da COMT.	Sim	18 (1999-2012)	Associação significativa entre a PHDA e a COMT.
Weber et al. (2015)	Verificar a associação entre a PHDA e o gene NOS1.	Sim	Múltiplas amostras relativas a programas de investigação	Associação significativa entre a PHDA e NOS1 para adultos do sexo feminino. Associado à PHDA do subtipo combinado. Sem relação com a PHDA do subtipo desatento.
Pan et al. (2015)	Verificar a associação entre a PHDA e o polimorfismo ANKK1 do gene DRD2.	Sim	11 (1991-2010)	Associação significativa entre a PHDA e o polimorfismo ANKK1 do gene DRD2.
Lee e Song 2015b	Verificar a associação entre a PHDA e o polimorfismo do transportador serotoninérgico 5-HTT/SLC6A4.	Sim	11 (2001-2010)	Sem associação entre a PHDA e o polimorfismo do transportador serotoninérgico 5-HTT/SLC6A4 em populações europeias e asiáticas.
Lee e Song 2015a	Verificar a associação entre a PHDA e o gene BDNF e COMT.	Sim	16 (2003-2010)	Sem associação entre a PHDA e o gene BDNF e COMT em populações europeias e asiáticas.
Bonvicini et al. (2016)	Verificar a associação genética, bioquímica e farmacogenética com adultos com PHDA.	Sim	23 (2000-2015)	Sem estudos possíveis para realizar Metanálises. Associação com BAIAP2 e PDHA em adultos.
Klein et al. (2016)	Verificar a associação entre o gene DRD5 VNTR com adultos com PHDA, através de estudos de seis países no âmbito do consórcio IMpACT.	Sim	6 (Não reportado)	Sem associação identificada, não contribuindo para a persistência da PHDA na vida adulta.
Liu et al. (2016)	Verificar a associação entre a PHDA e os polimorfismos do gene SNAP25.	Sim	14 (2000-2014)	Associação modesta com a PHDA somente para uma das variantes.

Ye et al. (2016)	Verificar a associação entre a PHDA e os polimorfismos do gene SNAP25.	Sim	6 (2007-2014)	Possível associação com a PHDA para dois polimorfismos. Possível viés identificado.
---------------------	--	-----	---------------	---

Legenda: 5HTT *5-Hydroxytryptamine Transporter*, Transportador de 5-Hidroxitriptamina/serotonina; ADRA2A *Adrenergic Receptor alpha-2A*, Receptor Adrenérgico alpha-2A; ANKK1 *Ankyrin Repeat And Kinase Domain Containing 1*; BAIAP2 *Brain-specific Angiogenesis Inhibitor 1-Associated Protein 2*, Proteína Inibidora de Angiogénese; BDNF *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro; COMT *Catecol O-Metiltransferase*; DAT1 *Dopamine Active Transporter 1*, Transportador Activo de Dopamina 1; DBH *Dopamina beta-hidroxilase*; DRD2 *Dopamine Receptor D2*, Receptor de Dopamina D2; DRD3 *Dopamine Receptor D3*, Receptor de Dopamina D3; DRD4 *Dopamine Receptor D4*, Receptor de Dopamina D4; DRD4-7R Alelo de sete repetições do gene *Dopamine Receptor D4*/Receptor de Dopamina D4; DRD5 *Dopamine Receptor D5*, Receptor de Dopamina D5; HTR1B *5-Hydroxytryptamine Receptor 1B*, 5-Hidroxitriptamina Receptor 1B; IMPACT *International Multicentre Persistent ADHD CollaboraTion*; NOS1 Tipo 1 de *Nitric Oxide Synthase*/Óxido Nítrico Sintase; PHDA *Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção*; SLC6A4 O mesmo que *5-Hydroxytryptamine Transporter*, Transportador de 5-Hidroxitriptamina/serotonina; SNAP25 *Synaptosomal-Associated Protein 25*, Proteína 25 Associada ao Sinaptossoma; VNTR *Variable Number of Tandem Repeats*, Repetições Tandem de Número Variável.

(Blum et al., 1995; Bonvicini et al., 2016; Cheuk & Wong, 2006; DiMaio et al., 2003; S. V. Faraone, Doyle, Mick, & Biederman, 2001; Forero, Arboleda, Vasquez, & Arboleda, 2009; Franke et al., 2010; Gizer et al., 2009; Klein et al., 2016; Y. H. Lee & Song, 2015b, 2015a; D. Li, Sham, Owen, & He, 2006; Y.-S. Liu et al., 2016; Maher, Marazita, Ferrell, & Vanyukov, 2002; Neale et al., 2010; Nikolaidis & Gray, 2010; Pan, Qiao, Xue, & Fu, 2015; Purper-Ouakil et al., 2005; Sánchez-Mora et al., 2010; Shiffrin, Gruber, Glatt, & Faraone, 2013; T. F. Smith, 2010; H. Sun, Yuan, Shen, Xiong, & Wu, 2014; Weber et al., 2015; J. Wu, Xiao, Sun, Zou, & Zhu, 2012; B. Yang et al., 2007; Ye et al., 2016; K. Zhou et al., 2008).

Como exposto na tabela anterior, a aceitação generalizada possivelmente estará longe de ser atingida (Neale et al., 2010; Shiffrin et al., 2013). A implicação do gene COMT e DRD2 foi confirmada, seguidamente excluída e posteriormente confirmada. Mais recentemente, a implicação noradrenérgica foi reconsiderada (Shiffrin et al., 2013), apesar de implicações em artigos de referência (Comings et al., 2000). O comprometimento serotoninérgico, COMT e BDNF não foi observado (Y. H. Lee & Song, 2015b, 2015a; Spies, Knudsen, Lanzenberger, & Kasper, 2015). Para além dos núcleos da base, foi recentemente considerado o aumento da expressão do gene codificador de óxido nítrico também na amígdala (Weber et al., 2015). O gene SNAP25 foi duplamente confirmado, no entanto, somente em revisões com a utilização parcial dos mesmos artigos de referência (Y.-S. Liu et al., 2016; Ye et al., 2016).

Por outro lado, estas conclusões foram baseadas em estudos realizados em crianças, apesar de ser uma condição que assumidamente prevalece pela vida adulta. Especificamente em adultos, a maior escassez de informação é transversal a múltiplas áreas. Na etiologia genética existem seis revisões com Metanálise que testam os genes candidatos através dos programas internacionais, mas nenhuma que analise factores bioquímicos. Na mais recente tentativa de sintetizar a informação genética e farmacogenética da PHDA em adultos, é clara a limitação da quantidade de informação, mesmo sendo relativa aos principais objectos de estudo DAT1/SLC6A3, DRD4 e COMT e que têm sido associados a outras perturbações do foro mental como a Perturbação Depressiva, Perturbação do Espectro da Esquizofrenia, Perturbações da Ansiedade, Bipolar e Obsessivo-Compulsiva (Bonvicini et al., 2016).

De uma forma geral, o envolvimento etiológico na PHDA dos genes dopaminérgicos, e talvez noradrenérgicos, será o mais solidamente aceite. No entanto, o funcionamento do sistema

dopaminérgico está dependente do equilíbrio, pré-sináptico e pós-sináptico, entre os vários neurotransmissores e sistemas de dopamina e noradrenalina, como exposto na Figura 2-1.

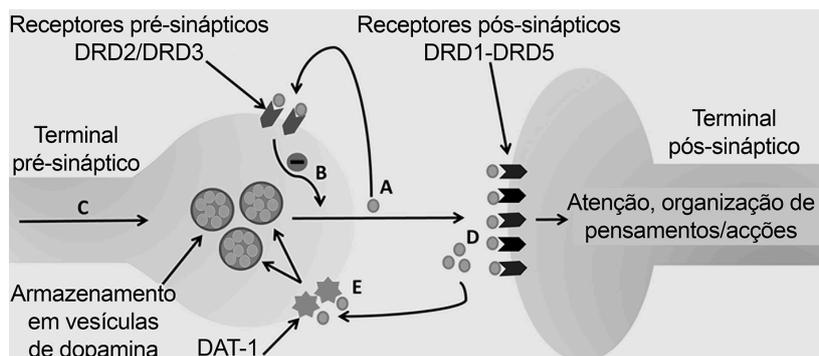


Figura 2-1 Funcionamento sináptico da dopamina

A dopamina armazenada actua em cinco receptores (DRD1-DRD5). Os receptores DRD2 e DRD3 estão também localizados no neurónio pré-sináptico. Na ausência de potencial de acção, uma pequena quantidade da dopamina vesicular é libertada na sinapse no terminal (A). Constitui a fase tónica que actua nos receptores pré-sinápticos DRD2 e DRD3 e origina um *feedback* inibitório que inibe a libertação de dopamina (B). Com a presença de um potencial de acção no terminal pré-sináptico (C), uma grande quantidade de dopamina vesicular é libertada na sinapse. Constitui a fase fásica que actua nos receptores pós-sinápticos (D). A quantidade de dopamina libertada na fase fásica é dependente do *feedback* inibitório fornecido pela estimulação dos receptores DRD2 e DRD3 na fase tónica. A acção da dopamina nos receptores pós-sinápticos é terminada após a recaptação no terminal pré-sináptico pelo transportador de dopamina DAT1 (E).

Legenda: DAT1 *Dopamine Active Transporter 1*, Transportador Activo de Dopamina 1; DRD1 *Dopamine Receptor D1*, Receptor de Dopamina D1; DRD2 *Dopamine Receptor D2*, Receptor de Dopamina D2; DRD3 *Dopamine Receptor D3*, Receptor de Dopamina D3; DRD5 *Dopamine Receptor D5*, Receptor de Dopamina D5.

Figura traduzida e adaptada (Sharma & Couture, 2014).

O cruzamento do funcionamento sináptico com a evidência genética aponta para que a PHDA possa ser etiologicamente justificada por uma menor densidade de receptores dopaminérgicos, por alterações de funcionamento desses mesmos receptores ou por alterações na libertação dos neurotransmissores. Poderá existir a hiperactividade dos sistemas de dopamina e noradrenalina que se traduz num aumento do fluxo ou diminuição da recaptação pré-sináptica de dopamina. Apesar da densidade dos receptores de noradrenalina não ter o mesmo suporte de evidência, o bloqueio da função do receptor noradrenérgico $\alpha 2A$ resulta em alterações de atenção, impulsividade e aumento de actividade. A junção entre estes factores ajuda a sintetizar o fundamento da intervenção farmacológica, em que o metilfenidato, anfetaminas e atomoxetina aumentam a transmissão de dopamina e noradrenalina no córtex pré-frontal, enquanto a guanfacina estimula directamente os receptores $\alpha 2A$ (A. Costa, Riedel, Müller, Möller, & Ettinger, 2011; Y.-S. Liu et al., 2016; Sharma & Couture, 2014; Trujillo-Orrego et al., 2012b; J. Wu et al., 2012).

Esta esquematização da evidência genética e dos neurotransmissores pretendeu realçar os fundamentos utilizados na interpretação comportamental e demonstrar as limitações nestas áreas de conhecimento, mesmo quando são fundamentais nas tomadas de decisão educacionais e de prestação de serviços de saúde.



2.3.2 Neuroanatomia

A evidência neuroanatômica apresenta resultados mistos com o envolvimento de várias redes neuronais.

Sendo os genes codificadores basilares, poder-se-á conceptualizar que as alterações na comunicação neuronal poderão também ter associadas alterações nas áreas encefálicas. As alterações contidas nos genes podem resultar numa codificação anormal da construção celular neural e nos receptores que se encontram nas áreas neuroanatômicas que processam essa informação. Foi assim pretendido neste subcapítulo realizar um enquadramento da evidência mais aceite actualmente.



2.3.2.1 Métodos de imagem estrutural e funcional

Os métodos de imagem utilizados reportam alterações estruturais anatómicas e de funcionamento neuronal.

O estudo neuroanatômico na PHDA antecedeu o estudo genético, antes da década de 1980, com os primeiros passos a identificarem alterações não-especificadas na estrutura cerebral. No entanto, similarmente ao estudo genético, durante a década de 1990 foram introduzidas novas técnicas, de imagem funcional e estrutural, que permitiram o estudo das várias áreas encefálicas humanas. Estes métodos permitiram uma nova forma de recolher informação e de procurar interpretar as várias condições patológicas. Foram inúmeras as publicações que expunham os resultados referentes à estrutura anatómica, por Tomografia Computadorizada (CT, do inglês, *Computed Tomography*) e Imagem por Ressonância Magnética (MRI, do inglês, *Magnetic Resonance Imaging*), e ao funcionamento dinâmico, por técnicas funcionais do metabolismo e alterações regionais da actividade cerebral, como a Tomografia por Emissão de Positrões (PET, do inglês, *Positron Emission Tomography*), Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (SPECT, do inglês, *Single Photon Emission Computed Tomography*), Electroencefalografia Quantitativa (QEEG), Potenciais de Eventos Relacionados (ERP, do inglês, *Event-Related Potential*) e Imagem por Ressonância Magnética Funcional (fMRI, do inglês, *functional Magnetic Resonance Imaging*) (Tannock, 1998).

As primeiras abordagens em macroescala⁷ revelaram alterações estruturais que permitiram identificar áreas relacionadas com a linguagem, controlo motor e percepção e levaram às

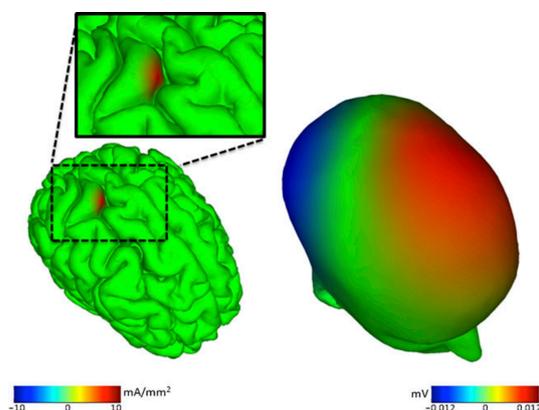
⁷ As ligações neuronais podem ser conceptualizadas a uma microescala, de neurónios únicos, a uma macroescala, referindo-se às regiões e vias cerebrais, e a uma escala intermédia relativa aos padrões de conectividade. Dado o início com a utilização destes métodos referidos, a compreensão neuroanatômica é actualmente mais fiável na macroescala, criando as fundações para os outros níveis.

primeiras abordagens relativas aos sistemas neurais. Foi considerado o modelo pré-frontal, estriado e cerebelar, no entanto, dada a grande inter-relação dos sistemas, facilmente se acumulou evidência para incluir outros sistemas. Foram também identificadas alterações de diminuição de volume encefálico global e, especificamente, nas regiões pré-frontais, núcleos da base, corpo caloso, putâmen, globo pálido, cerebelo e no sistema fronto-estriado (Arnsten & Lombroso, 2000; F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Giedd, Blumenthal, Molloy, & Castellanos, 2001; Tannock, 1998). Estas primeiras áreas identificadas são convergentes com as alterações identificadas no subcapítulo anterior relativo à genética e sistemas de neurotransmissores.

O estudo neuroanatômico funcional, através de EEG e fMRI, aponta para um padrão de aumento das ondas teta, principalmente na região frontal, interpretado como um estado de hipoalerta e hiporresponsividade frontal (F.X. Castellanos & Acosta, 2002; Sigi Hale, Hariri, & McCracken, 2000; Tannock, 1998; Willis & Weiler, 2005). No entanto, actualmente, a evidência criada por este método tem sido questionada pelas suas limitações metodológicas. As flutuações de potencial no EEG são registadas no escalpe e representam uma soma dos potenciais corticais originados pelos disparos sincronizados de grandes grupos de neurónios. Como estes potenciais eléctricos são registados no escalpe, longe da região cortical de onde os sinais são originários, somente são registados os sinais que são mais sincronizados ou espacialmente consistentes (Loo & Makeig, 2012; Willis & Weiler, 2005). Adicionalmente, para ser possível dar sentido ao grande volume de informação captado pelos eléctrodos, a maioria dessa informação tem que ser filtrada antes da representação do resultado captado pelo eléctrodo, o que significa que é descartada informação antes de ser identificada como relevante (Loo & Makeig, 2012). Outras das limitações do EEG é relativa à dificuldade em reflectir os resultados dinâmicos da dispersão iniciada em pontos específicos (Loo & Makeig, 2012; Meneghini, Vatta, Esposito, Mininel, & Di Salle, 2010). A partir destes pontos o sinal atravessa o escalpe, contribuindo para a activação e variação do sinal de praticamente todos os eléctrodos. Dessa forma, o sinal detectado por cada eléctrodo representa a soma de toda a actividade cortical e dos sinais *artefacto* como, por exemplo, os movimentos ténues oculares ou do escalpe (Loo & Makeig, 2012; Willis & Weiler, 2005) (Figura 2-2).

A avaliação quantitativa funcional através de fMRI tem demonstrado implicações das regiões frontais (Weyandt, Swentosky, & Gudmundsdottir, 2013) e tem sido bastante utilizada na identificação dos padrões de activação encefálicos. Tem sido utilizado o método de análise *Activation Likelihood Estimation (ALE)*, principalmente na realização de tarefas relativas às funções executivas, que tornou possível localizar as regiões encefálicas que apresentam maior probabilidade de activação (Laird et al., 2005). Neste método de análise quantitativa, desenvolvido em 2002, são conjugadas as coordenadas em três dimensões no espaço estereostático de vários estudos e que podem ser expressas em relação às referências espaciais *Talairach* (por Talairach e Tournoux em 1988) ou *Montreal Neurological Institute*. Após a normalização destas coordenadas através de um *software* de análise estatístico

específico (“GingerALE,” 2016; SDM Project, 2016; Laird et al., 2009), cada coordenada (ou foco) é modelada em três dimensões através de uma distribuição Gaussiana. Esta probabilidade de activação para cada *voxel* (x, y, z) é então comparada entre as amostras criando a quantificação da diferença de activação no espaço neuroanatômico (Laird et al., 2005).



Propagação das fontes de potencial cortical pelos eléctrodos do escalpe no EEG. A fonte simulada (região em miliampères por milímetros quadrados) à esquerda cria amplas projecções observadas à direita (em condução milivolt). Neste exemplo, a origem do potencial a vermelho à esquerda não corresponde na detecção frontal à direita, demonstrando a complexidade da análise espacial da actividade cerebral.

Figura 2-2. Representação da fonte de potencial cortical e da sua propagação em Electroencefalografia

Legenda: EEG Electroencefalografia; mA miliampere; mm² milímetros quadrados, mV milivolt.

Figura traduzida e adaptada (Loo & Makeig, 2012)

Recentemente juntaram-se novos métodos de análise da MRI como a Imagem por Tensor de Difusão (DTI, do inglês, *Diffusion Tensor Imaging*), a Análise de Morfometria *voxel a voxel* (VBM, do inglês, *Voxel-Based Morphometry*), Estatística Espacial Baseada em Tractos (TBSS, do inglês, *Tract-Based Spatial Statistics*), Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (MRS, do inglês, *Magnetic Resonance Spectroscopy*), Espectroscopia de Infravermelho Funcional (fNIR, do inglês, *functional Near-Infrared Spectroscopy*), Estimulação Magnética Transcraniana (TMS, do inglês, *Transcranial Magnetic Stimulation*) e Ressonância Magnética com avaliação funcional em repouso (rs-fcMR, do inglês, *resting-state functional-connectivity Magnetic Resonance*). Com a adição destes novos métodos a evidência estrutural mais actual demonstra reduções no volume total cerebral e do hemisfério direito, incluindo regiões pré-frontais, vérmis cerebelar pósterio-inferior, corpo caloso, esplénio e caudado direito e com consistentes resultados de redução de matéria cinzenta nos núcleos da base. Quando esta diminuição do volume, velocidade e maturação da espessura da área cortical foi observada na PHDA, comparativamente à normalidade, demonstrou um atraso de dois a cinco anos, sendo o maior observado nas regiões frontal, temporal superior e parietal (Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a; Sharma & Couture, 2014).

Em termos funcionais, estes dados são coerentes com a diminuição dos níveis dos transportadores de dopamina nos núcleos da base, que foi identificada nos estudos que utilizam PET. Os resultados dos estudos que utilizam a DTI identificaram alterações na matéria branca da conexão entre as regiões fronto-estriadas, fronto-parieto-temporal e fronto-cerebelar. Estes resultados foram corroborados pelos estudos com a fMRI e que identificaram alterações adicionais na ligação fronto-límbica no processamento de recompensa, na ligação entre o

córtex pré-frontal, córtex cingulado inferior e a área motora suplementar ântero-estriado-talâmica nas funções de controlo inibitório, no córtex pré-frontal e dorso-lateral-parieto-estriado-cerebelar nas funções da atenção e na ligação do córtex pré-frontal ínfero-parieto-cerebelar nas funções temporais (Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a).

Este acrescento de métodos de diagnóstico funcionais permitiram a migração do conhecimento neuroanatómico para uma interpretação dinâmica das comunicações entre as várias regiões. Coerentemente, as primeiras regiões identificadas, do córtex pré-frontal, corpo estriado e cerebelo, e os primeiros circuitos, meso-cortical e o meso-límbico, são caracterizadas, principalmente, pelos neurotransmissores dopaminérgicos e noradrenérgicos que foram referenciados anteriormente (T. F. Smith, 2010; Staller & Faraone, 2007).

Várias redes têm sido sugeridas para o funcionamento da PHDA (Mullane, Corkum, Klein, & McLaughlin, 2009), no entanto, dado o rápido avanço dos métodos de diagnóstico, somente a evidência actualmente relevante será apresentada. Nesta tese, as redes neuronais consideradas assentam na estimativa realizada em 2011, com 1000 participantes (500 de análise e 500 de replicação) e com uma replicação dos seus resultados de 97,4% (Yeo et al., 2011). Esta divisão foi igualmente adoptada por duas revisões de referência (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). Foram identificadas sete principais redes de funcionamento: visual, somatomotora, dorsal de atenção, ventral de atenção, límbica, fronto-parietal e de modo padrão (do inglês, *Default Mode Network*) (Figura 2-3) (Yeo et al., 2011).

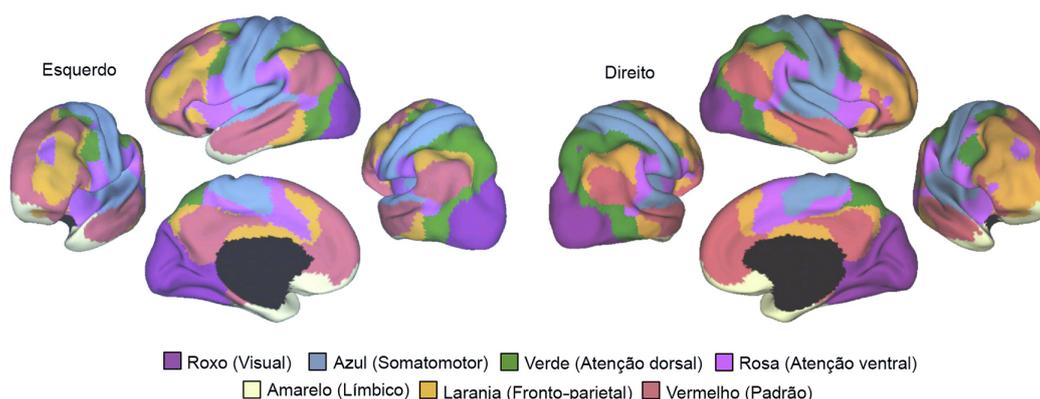


Figura 2-3. As sete principais redes neuronais identificadas no córtex cerebral humano

Figura traduzida e adaptada (Yeo et al., 2011).



2.3.2.2 Rede de modo padrão

A coerência do funcionamento da rede de modo padrão com as outras redes influencia a capacidade de atenção.

A rede de modo padrão tem sido implicada na PHDA e corresponderá, provavelmente, à rede neural mais estudada. Está associada ao pensamento não-concreto e contém duas divisões, os córtices pré-frontal ântero-medial e o cingulado posterior, e dois subcomponentes, o córtex

pré-frontal dorso-medial e o lobo temporal medial. Foi observada uma correlação negativa entre o controlo da rede de modo padrão e da fronto-parietal, em que uma maior coerência funcional entre as redes está associada a um melhor desempenho comportamental. Estas considerações são coerentes com a associação entre a menor supressão da actividade da rede de modo padrão e as falhas de atenção, assim como com a explicação de que o melhor desempenho comportamental pode estar associado à eficácia da interacção entre as várias regiões. A contribuição da farmacogenética, em relação ao tratamento com metilfenidato, tem criado argumentos que sugerem a necessidade da inter-relação entre as redes de modo padrão e límbica com o controlo cognitivo para um funcionamento neural adequado na PHDA (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.2.3 Rede fronto-parietal

A rede fronto-parietal funciona como intermediário executivo entre as redes de modo padrão e de atenção dorsal e ventral.

A rede fronto-parietal é também referenciada como o circuito de controlo executivo. Envolve processos executivos com objectivo específico, como tomadas de decisão que exigem a integração de informação externa e representações internas, assim como o controlo executivo de inibição motora. Inclui as regiões látero-frontal, córtex cingulado anterior, córtex pré-frontal dorso-lateral e anterior, cerebelo lateral, ínsula lateral, núcleo caudado e o lobo parietal inferior. Na PHDA tem sido observada uma hipoactivação⁸ nos circuitos fronto-estriado e fronto-parietal durante a realização de tarefas inibitórias. Para além da área parietal, praticamente todas as restantes regiões da rede pré-frontal-estriado-cerebelar são componentes do circuito fronto-parietal: o córtex cingulado anterior, o córtex pré-frontal anterior, a região frontal, o cerebelo e o núcleo caudado. Por exemplo, a parte dorsal do córtex cingulado anterior tem sido referenciada como estando hipoactivada durante tarefas de resposta inibitória ou de atenção, assim como o córtex pré-frontal, dorso-lateral e ventro-lateral, estão hipoactivados em tarefas de memória de trabalho. Este circuito tem sido considerado, tanto espacialmente como conceptualmente, como um intermediário entre os dois sistemas principais da rede de modo padrão e da rede dorsal da atenção (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.2.4 Rede dorsal e ventral da atenção

Nas redes da atenção são observadas alterações funcionais mistas.

Estas duas redes podem ser consideradas as componentes centrais dos sistemas regulatórios da atenção. A rede ventral encontra-se ancorada na junção temporo-parietal, no giro

⁸ Os métodos funcionais de diagnóstico por imagem reportam resultados sobre as diferenças observadas na activação dinâmica que é observada entre os indivíduos em estudo e uma amostra representativa da normalidade. Esta activação pode ser inferior ao normal, denominada de *hipoactivação*, ou superior ao normal, *hiperactivação*.

supramarginal, opérculo frontal e ínsula anterior. Está associada às redes de saliência (do inglês, *saliency network*) ou cíngulo-opercular e está envolvida na monitorização de eventos de destaque, como estímulos ou comportamentos relevantes, e na interrupção adequada de tarefas. A rede dorsal, influenciada pela ventral, gere processos orientados para objectivos com controlo executivo *top-down*, particularmente, no redireccionamento da atenção durante actividades que requerem atenção visual. Os seus principais elos de ligação são regiões envolvidas na mudança de atenção e atenção espacial como o sulco intraparietal, a Área de Broadmann (BA, do inglês, *Broadmann Area*) 40 e a região visual frontal (BA 6) (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).

Na PHDA foi observado um menor envolvimento destas redes no mecanismo de mudança atencional para um estímulo externo relevante, o que sugere que uma hipoactivação da rede ventral da atenção pode estar na base das suas dificuldades. Por outro lado, a hiperactivação, também observada, remove a supressão desta rede para prevenir as mudanças de atenção para estímulos irrelevantes, justificando também a desatenção (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).

Relativamente à rede de atenção dorsal, as regiões parietais (BA 7 e 40) e pré-centrais (BA 6) apresentam maior probabilidade de activação, por exemplo, no desempenho de tarefas executivas e de inibição de resposta, comparativamente à normalidade. Foi também observada uma maior activação no córtex parietal durante estas tarefas de resposta inibitória. Assim, foram observadas diferenças nos padrões da actividade parietal durante tarefas que requerem atenção e memória de trabalho. Por outro lado, nestas redes também foi observada uma hipoactivação, remetendo para possibilidade de uma maior contribuição da rede ventral no funcionamento da atenção (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.2.5 Rede somatomotora

As alterações funcionais na rede somatomotora podem justificar as alterações motoras observadas na PHDA.

A hiperactivação funcional tem também sido observada na rede somatomotora. Poderá ser interpretada pela tentativa em compensar as alterações no córtex pré-frontal e cíngulo anterior, sobrevalorizando as regiões associadas ao processamento visual, espacial e motor. Por outro lado, foram também observados picos de hipoactivação no sistema somatomotor direito e bilateralmente no putâmen. Se for tida em consideração a hipoactivação que foi observada na porção súpero-medial do giro frontal e na área suplementar motora, representa que foi observado um envolvimento das regiões relacionadas com o sistema piramidal, o que poderá ser uma das justificações para as alterações motoras observadas na PHDA. Especificamente no sistema motor, foram observadas alterações de inibição intracortical, flutuações de comunicação entre os córtices motor primário, sensoriais primários, sensoriais

secundários e pré-motor ventral, na área suplementar motora, putâmen, tálamo e cerebelo (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.2.6 Rede visual

A PHDA demonstra alterações funcionais nas regiões corticais visuais responsáveis pelo processamento visual.

O córtex visual e a região medial temporal *MT+* estão relacionadas com a parte superior do lobo parietal e com o sulco interparietal, regiões que são parte da rede dorsal da atenção. A região medial temporal *MT+* encontra-se junto às regiões frontais, como o córtex pré-central e as regiões fronto-oculares, estando fortemente relacionada com as áreas visuais primárias como a áreas *V1* e *V3*. O córtex occipital medial, que interage com a rede atencional dorsal para a manutenção da atenção e para suprimir estímulos irrelevantes, tem apresentado diferenças na PHDA de hiperactivação ou de ausência de activação (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.2.7 Sistema de processamento de recompensa

A PHDA apresenta alterações estruturais e funcionais nas regiões de processamento do sistema de recompensa.

Como já referido no subcapítulo referente aos neurotransmissores, o sistema de processamento de recompensa está relacionado com o sistema dopaminérgico. Ocorre na rede córtico-basal que inclui o mesencéfalo, o corpo estriado ventral (principalmente o núcleo *accumbens*), o córtex órbita-frontal e algumas áreas do córtex pré-frontal. Na PHDA foi observada hipoactivação na porção ventral do corpo estriado e, por outro lado, durante o processamento de recompensa, hiperactivação nas porções dorsais do corpo estriado e amígdala. Esta heterogeneidade tem fundamentado teorias etiológicas que consideram as vias que envolvem a cognição, a motivação, a auto-regulação e a gestão do atraso de recompensa. Por exemplo, por um lado a sintomatologia poderá advir de alterações nos circuitos córtico-estriados, resultando em fraco controlo de inibição, por outro lado, poderá advir de alterações no circuito de recompensa, principalmente no núcleo *accumbens*, alterando o processamento e a antecipação de recompensa. De uma forma geral, as alterações observadas poderão ser explicadas por alterações na activação funcional e na conexão entre o circuito de processamento de recompensa, principalmente nas regiões ventro-estriado, núcleo *accumbens* e pré-frontais (Killeen, 2015; Mowinckel, Pedersen, Eilertsen, & Biele, 2015; Paloyelis, Mehta, Kuntsi, & Asherson, 2007; Plichta & Scheres, 2014; Seymour, Reinblatt, Benson, & Carnell, 2015).



2.3.2.8 Inibição de resposta

Também são observadas alterações funcionais mistas em todos os componentes do sistema neuronal de controlo inibitório de resposta.

A inibição de resposta, uma das componentes das funções executivas, refere-se à capacidade de inibir respostas primárias a estímulos ou em voluntariamente suprimir acções de forma a alcançar um objectivo. É usualmente avaliada através de paradigmas comportamentais, nem sempre isentos de discussão relativamente à sua sensibilidade (Boonstra, Oosterlaan, Sergeant, & Buitelaar, 2005; Lansbergen, Kenemans, & van Engeland, 2007; Lijffijt, Kenemans, Verbaten, & van Engeland, 2005; Schwartz & Verhaeghen, 2008; Seymour et al., 2015; van Mourik, Oosterlaan, & Sergeant, 2005). Neste processo estão envolvidas as áreas frontais, como a área pré-motora, giro fronto-inferior, corpo estriado, cerebelo e córtices pré-frontal, cíngulo anterior e parietal posterior, assim como os circuitos subcorticais cerebelares, estriados e fronto-temporais (Lei et al., 2015; Pauli-Pott & Becker, 2015; Seymour et al., 2015). Especificamente na PHDA, à semelhança de todos os restantes circuitos, existe variabilidade de resultados. Foram mais consistentemente observadas as alterações nos córtices pré-frontal dorso-lateral, orbital frontal, anterior cíngulo e giro frontal na área suplementar motora. Foi também observada alteração na rede fronto-parietal-estriado-talâmo-cerebelar, no entanto, as alterações nestas áreas são transversais a vários circuitos. A menor actividade observada no lobo frontal é coerente com as funções que desempenha no controlo inibitório e na memória de trabalho, através do giro fronto-inferior e fronto-medial, na auto-regulação, através do giro fronto-medial, e no planeamento motor e controlo de impulsividade, através do giro fronto-medial. De uma forma geral, as alterações que foram identificadas na PHDA encontrar-se-ão nas regiões fronto-estriadas (Kofler et al., 2013; Lei et al., 2015; McCarthy, Skokauskas, & Frodl, 2014; K Rubia, Halari, Christakou, & Taylor, 2009; Seymour et al., 2015).



2.3.2.9 Rede límbica e de regulação emocional

As alterações observadas na PHDA implicam alterações nos dois circuitos de regulação emocional.

Apesar da complexidade inerente à regulação emocional, devem ser referidos os circuitos através dos quais é possível a capacidade de adaptação comportamental perante as diversas emoções. Poderão ser considerados dois circuitos: o circuito que envolve a avaliação do estímulo emocional e gera respostas afectivas (que envolve as regiões da amígdala, ínsula, ventro-estriado, córtices órbito-frontal e pré-frontal medial) e o circuito de controlo cognitivo envolvido nas respostas (que envolve os córtices cíngulo anterior e pré-frontal medial, dorso-lateral e ventro-lateral). Numa perspectiva do mecanismo neural, a activação da amígdala tem demonstrado ser uma resposta *bottom-up* ao estímulo emocional, enquanto as estruturas neocorticais contribuem para o processamento e compreensão *top-down* do estímulo emocional. De uma forma geral, as alterações no processamento e regulação emocional,



identificados na PHDA, poderão ser principalmente devidas a alterações funcionais nas regiões fronto-estriadas (Graziano & Garcia, 2016; Katya Rubia, 2011; Seymour et al., 2015).



2.3.2.10 Outros argumentos emergentes

Novos métodos de diagnóstico e tecnológico devem ser utilizados para alargar o conhecimento neuroanatômico na PHDA, assim como para superar as limitações dos métodos anteriores.

A utilização da espectroscopia, por MRS, tem vindo a ganhar destaque. Apresenta uma análise metabólica não invasiva e, desde a sua primeira Metanálise em 2009, apresenta uma maior percentagem de estudos que procuram respostas neuroanatômicas estruturais ou funcionais (Aoki, Inokuchi, Suwa, & Aoki, 2013; Perlov et al., 2009). Nesta primeira revisão foram observadas alterações de compostos de colina no corpo estriado esquerdo e no lobo frontal direito, em crianças, e no córtex anterior cingulado esquerdo e direito, em adultos. No entanto, estes primeiros resultados derivam de uma selecção prévia de quais as áreas a serem investigadas (Perlov et al., 2009).

Surgem, mais recentemente, áreas específicas a este método de diagnóstico. Com o objectivo de testar a hipótese de que as alterações metabólicas são dependentes da idade, foi observado um aumento de N-Acetilaspártato (NAA), um marcador de actividade neuronal, no córtex pré-frontal na PHDA, mas somente durante a infância e com uma relação negativa com a idade (Aoki et al., 2013). Com o objectivo de verificar a desregulação glutamatérgica em várias condições pediátricas, foram observadas alterações, na PHDA, no córtex anterior cingulado, mas não foram observadas alterações em adultos (A. E. Spencer, Uchida, Kenworthy, Keary, & Biederman, 2014).

Nas últimas duas décadas, o nível da actividade eléctrica cerebral, medida por EEG e ERP, tem também sido associado com o nível de alerta, atenção e activação cognitiva. Relativamente à PHDA, os ERP têm sido utilizados na análise da resposta inibitória e do desempenho cognitivo, associando as alterações observadas às, já mencionadas, alterações nas redes ventral da atenção e de inibição de resposta (Geburek, Rist, Gediga, Stroux, & Pedersen, 2013; Szuromi, Czobor, Komlósi, & Bitter, 2011; Tye et al., 2011). No EEG a primeira associação foi realizada com um aumento da actividade teta e o seu uso como possível ferramenta de diagnóstico (Boutros, 2005; Geburek et al., 2013; Snyder & Hall, 2006; Szuromi et al., 2011; Tye et al., 2011). Apesar de décadas de investigação, as grandes limitações técnicas deste método, anteriormente expostas no subcapítulo 2.3.2.1, necessitam ser suprimidas através dos novos avanços matemáticos e tecnológicos. Foi, assim, relançada a necessidade de uma investigação homogénea que permita dissipar as incoerências identificadas (M. Arns et al., 2013) e confirmar as suposições do atraso da maturidade cortical e dos baixos níveis de alerta fisiológico (Rudo-Hutt, 2015).

Desde a década de 1990 que o eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) tem sido explorado na procura de causas comportamentais. Tendo o cortisol como a sua principal hormona, tem sido teorizada a sua importância na regulação do SNC. Na divisão parvicelular neuroendócrina do hipotálamo, um núcleo de neurónios sintetiza e liberta a sua Hormona Libertadora de Corticotrofina no sistema porta hipofisário e estimula as células corticotróficas da pituitária anterior. Estas células, em resposta, sintetizam e libertam a Hormona Adrenocorticotrófica que entra na circulação sanguínea e, por fim, estimula o córtex adrenal a libertar glucocorticóides, sendo mais comum nos humanos a hormona esteróide cortisol, que controla as respostas a situações de baixo *stress*. Através de *feedback* negativo, o cortisol actua na pituitária e hipotálamo para inibir mais libertação da Hormona Adrenocorticotrófica e do Factor de Libertação de Corticotrofina. A secreção do Factor de Libertação de Corticotrofina segue um padrão circadiano, no entanto, os efeitos de *stress* são sobrepostos a este padrão. Os neurónios do hipotálamo que iniciam este processo são regulados pelos neurónios noradrenérgicos localizados no cerúleo. As fibras excitatórias provenientes da amígdala transportam informação sobre eventos provocadores de *stress* e activam a secreção e biossíntese da Hormona Libertadora de Corticotrofina, enquanto as fibras inibitórias descem do hipocampo (Aguilar Cordero et al., 2014; Alink et al., 2008; Bonvicini et al., 2016; Hawes, Brennan, & Dadds, 2009).

Assim, existem fortes pressupostos teóricos que suportam a procura de respostas associadas a várias condições, incluindo a PHDA. Têm sido principalmente analisados os níveis base e as variações de cortisol perante um estímulo de *stress*, em que a hipótese primária assenta na relação negativa entre os níveis de cortisol e os níveis de exteriorização de comportamento. No entanto, foi observada uma associação modesta entre os níveis base de cortisol e nenhuma associação entre a reactividade ao cortisol e este tipo de comportamento (Alink et al., 2008). Foi observada associação com os comportamentos anti-sociais, no entanto, a relação etiológica permanece ainda incompreendida (Hawes et al., 2009). Mais recente, foram revistas as medições de cortisol salivar que mostraram ser um indicador de *stress* e de alterações mentais, como a sintomatologia de ansiedade e depressão (Aguilar Cordero et al., 2014). Estas primeiras revisões apresentaram uma relação com comportamentos específicos que são transversais a várias condições. Na recente tentativa relativamente à PHDA não foram observadas diferenças nos níveis de cortisol, com muita heterogeneidade entre estudos (Bonvicini et al., 2016). Assim, apesar do grande peso teórico, à semelhança da maioria das áreas de estudo, o eixo HPA carece de fundamentação empírica.

Com o grande aumento da prevalência das patologias mentais e comportamentais, a procura de respostas tem-se alargado a vários níveis. Os factores relacionados com os diferentes estilos de vida, como o caso da alimentação, tem sido uma dessas áreas. Os ácidos gordos, com a sua relação ao correcto desenvolvimento do SNC, apresentam alguma cadência de publicações. Foram inicialmente estudados na sua relação ao neurodesenvolvimento, ao

sistema cardiovascular, aos processos inflamatórios através de citocinas⁹ e às variadas condições neurológicas. Entre os vários ácidos gordos, são mais frequentemente estudados os ómeegas 3 e 6 que, por não serem sintetizados pelo corpo humano, acrescem a importância do padrão alimentar (Gow, Hibbeln, & Parletta, 2015; Lachance, Bm, Taylor, & Vigod, 2016; Milte, Sinn, & Howe, 2009; Morse, 2009; Puri & Martins, 2014; Raz & Gabis, 2009; Stevenson et al., 2014).

As primeiras revisões realizadas tiveram a característica de serem muito abrangentes, em termos de patologias, e muito selectivas, em termos da escolha dos ácidos analisados. No entanto, suportaram a continuação da investigação nesta área (Grassmann, Santos-Galduróz, & Galduróz, 2013; Milte et al., 2009; Morse, 2009; Raz & Gabis, 2009). Especificamente na PHDA, foi recentemente observada uma diminuição significativa entre os níveis de ómega-3 (Hawkey & Nigg, 2014), no entanto, em estudos mais recentes foram observados maiores níveis de ómeegas 3 e 6 (Lachance et al., 2016). Esta indefinição foi igualmente observada nos resultados ténues, por vezes contraditórios, da intervenção por suplementação de ácidos gordos livres (R. E. Cooper, Tye, Kuntsi, Vassos, & Asherson, 2015; Grassmann et al., 2013; Hawkey & Nigg, 2014; Milte et al., 2009; Puri & Martins, 2014; Raz & Gabis, 2009; Stevenson et al., 2014).

A possível compreensão desta área poderá passar pela análise preliminar dos efeitos do *stress* oxidativo celular, o qual é combatido pelos ácidos gordos (Joseph, Zhang-James, Perl, & Faraone, 2015), assim como pela avaliação nutricional completa, pois foram reportadas possíveis alterações nutricionais e de intolerância alimentar na PHDA (Gow et al., 2015). Apesar da relação do *stress* oxidativo com as várias condições patológicas, só existe uma revisão que analise a sua relação com a PHDA. Nesta revisão, não foi observada uma diminuição do nível de actividade antioxidativa, no entanto, foi observada uma associação ligeira de sinais de *stress* oxidativo aumentado (Joseph et al., 2015).



2.3.2.11 Conclusão da evidência neuroanatómica

Existe uma necessidade actual de conjugar a evidência neuroanatómica de forma a compreender quais as diferenças observadas na PHDA.

A variedade dos métodos de diagnóstico tem criado um volume significativo de informação sobre as diferenças neuroanatómicas na PHDA. Como já referido anteriormente, as redes descritas neste subcapítulo não pretendem ser uma descrição exaustiva ou final, principalmente, porque o envolvimento de múltiplas redes neurais permite a coerência simultânea com os vários modelos teóricos da PHDA. Por exemplo, a hipoactivação nas regiões das redes fronto-parietal de controlo executivo e de atenção ventral são coerentes com

⁹ Pequenas proteínas sinalizadoras do sistema imunológico.

os modelos clássicos das alterações na activação fronto-estriada. Por outro lado, a hiperactivação nas regiões das redes de modo padrão e visual suportam as recentes interpretações da inter-relação entre as várias redes neurais e as falhas de regulação entre a rede de modo padrão e as redes fronto-parietal e de atenção ventral e dorsal (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).

A selecção destas redes são uma menção às principais referências que servem actualmente como base para novas investigações e para as construções teóricas em vigor. A inconsistência exposta nos resultados é uma menção à perspectiva de que a PHDA aponta para uma alteração disfuncional das várias redes e do seu funcionamento compensatório. Na fase actual do conhecimento e da capacidade técnica de manipulação dos métodos de diagnóstico, a neuroimagem permanece correlacional e sem capacidade de inferir mecanismos causais (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Yeo et al., 2011).



2.3.3 Factores de risco

Os factores de risco não são tão exhaustivamente estudados como os factores genéticos e farmacológicos.

Um dos pontos de partida da procura de respostas genéticas na PHDA foi relacionado com as famílias e com irmãos gémeos. Nestes estudos, a expressão comportamental genética foi simultaneamente analisada com os factores ambientais. Vários factores têm sido equacionados como potenciadores de comportamentos típicos da PHDA.



2.3.3.1 Factores contextuais

O contexto parece justificar parcialmente a etiologia da PHDA, mas pode influenciar a carga genética.

O reconhecimento do impacto do contexto na PHDA tem seguido várias direcções. Inicialmente, foi considerada indiferenciada de zero a influência do contexto em criar resultados similares entre irmãos (no mesmo contexto ou similar), o que reforçou a importância genética. Por volta do final da década de 1990, esta importância central dos factores genéticos é elevada ao seu expoente máximo, na seguinte construção argumentativa: uma vez que os pais são a principal fonte de características ambientais, uma vez que somente as características de contextos diferentes têm influência significativa e uma vez que esta influência significativa só ocorre na vida adulta, então, pode ser concluído que o estilo de parentalidade tem um impacto mínimo no resultado comportamental e mental das crianças (Burt, 2009). Apesar de, numa primeira instância, este resultado poder ser facilmente discutível, na prática, traduziu-se num crescendo de considerações que valorizaram desproporcionalmente os factores genéticos e que, por sua vez, levaram a um maior interesse



científico nesta área que contribuiu para que, ainda hoje, haja um corpo de evidência mais sustentado na influência genética e farmacológica.

Por outro lado, numa tentativa de mudança de paradigmas, foi também assumido que o contexto teria um papel preponderante nos resultados comportamentais na PHDA, independentemente dos factores genéticos. A área da psicopatologia identificou vários factores de risco ambiental no comportamento emocional e adaptativo como um baixo nível socioeconómico, grandes famílias, doença mental materna, discussões graves parentais, criminalidade parental e a inclusão em orfanatos (S V Faraone & Biederman, 1998). Estes factores foram considerados importantes na manutenção dos resultados da intervenção (F. Levy, Barr, & Sunohara, 1998), no entanto, tendo uma dupla justificação pois também poderiam ser o resultado do património genético (S V Faraone & Biederman, 1998).

Posteriormente, surgem os factores de risco transversais a várias patologias, incluindo a PHDA, como o tabagismo materno durante a gravidez, exposição a chumbo, partos prematuros, baixo peso à nascença, álcool, *stress* materno (James M. Swanson et al., 2007) e relacionamento parental (Guilherme, Mattos, Serra-Pinheiro, & Regalla, 2007). Mais recentemente, os comportamentos *disruptivos*¹⁰ foram associados a factores maternos, como o consumo de tabaco e álcool, *stress*, ansiedade, doenças virais pré-natais e complicações durante o parto, aos estilos parentais e à adopção (Latimer et al., 2012; Linnet et al., 2003), enquanto o excesso de actividade foi associado às exigências ambientais (Kofler et al., 2016).

Apesar da fraca associação da PHDA aos factores ambientais, os genes também não representam uma justificação total dos comportamentos observados. Esta dicotomia foi reavivada quando na fundamentação genética surgiu a consideração da *expressão genética*. Este é um processo dinâmico de mudanças que ocorrem no património genético individual, em que alguns genes podem ser ligados e desligados em resposta à exposição ambiental, igualmente influenciando os produtos desses mesmos genes. Desta forma, o contexto influencia as características fenotípicas e reforça a necessidade da compreensão das implicações entre o genótipo e os factores de risco ambientais (Bergen et al., 2007; Nikolaidis & Gray, 2010; Nikolas & Burt, 2010; James M. Swanson et al., 2007).



2.3.3.2 Factores familiares

Existe uma dualidade constante na relação entre os factores familiares e a PHDA.

Na análise dos factores familiares pode ser feita uma distinção entre ambiente *objectivo* e ambiente *efectivo*. O ambiente *objectivo* refere-se ao que é observável, não considerando como afecta os diferentes membros da família. Assim, ser um ambiente *objectivo* partilhado

¹⁰ Nesta tese foi utilizado o termo *disruptivo* associado ao comportamento, por importação do termo técnico inglês *Disruptive, Impulsive-Control, and Conduct Disorders*, apesar da falta de representação correcta na língua portuguesa. A utilização de outro termo, linguisticamente correcto, poderia deturpar o seu entendimento.

ou não-partilhado depende se esse evento é comum entre irmãos, independentemente se aumenta a similaridade entre os próprios irmãos. Por outro lado, o ambiente *efectivo* refere-se somente ao resultado dos eventos. Assim, um factor *efectivo* partilhado pode ser de nível individual, como as relações familiares, ou de nível familiar, como o divórcio ou os vizinhos, e actuam de forma a tornar os membros familiares idênticos entre si. Ou seja, na sua essência, qualquer experiência ambiental pode operar a um nível partilhado (Burt, 2009).

Os métodos tradicionais da avaliação genética somente analisaram as variáveis pessoais, enquanto os factores familiares podem ser analisados em vários níveis. Coerentemente, foi confirmado o papel preponderante dos factores ambientais partilhados ou familiares no desenvolvimento emocional e comportamental durante a infância e a adolescência. Este resultado não deverá ser interpretado como a necessidade de abandonar o estudo dos factores ambientais não-partilhados, pois estes factores influenciam toda a expressão ambiental. Antes, este resultado deverá salientar a influência dos factores ambientais partilhados na expressão fenotípica (Burt, 2009).

Tendo em conta que muitos sintomas da psicopatologia, como por exemplo as relacionadas com a ansiedade, depressão e comportamento anti-social, começam a se manifestar antes da vida adulta, é acrescida a importância ambiental, com destaque para o ambiente familiar (Burt, 2009). Em termos familiares, embora o relacionamento parental tenha sido associado aos comportamentos da PHDA, permanecem dúvidas sobre qual a principal direcção desta influência, se o relacionamento parental leva aos comportamentos típicos da PHDA ou se estes comportamentos influenciam negativamente o relacionamento parental (Guilherme et al., 2007; Hur, 2015), e a quais factores parentais estão associados resultados comportamentais específicos, como o desempenho escolar, social e pessoal (Deault, 2010).

Na procura de esclarecer estas dúvidas destacam-se duas diferentes instâncias de respostas. Na primeira instância, deve ser considerado o impacto do ambiente familiar no comportamento típico da PHDA. Foram identificados alguns factores familiares protectores como a qualidade da parentalidade, a coesão familiar, o nível de educação parental e o nível de extroversão materno (Zhang & Sun, 2015). Por outro lado, a má relação parental, os antecedentes familiares (Zhang & Sun, 2015) e o baixo nível socioeconómico foram associados ao aumento do risco de desenvolver PHDA, não havendo uma justificação causal isolada mas uma conjugação de factores (A. E. Russell, Ford, Williams, & Russell, 2015). Na segunda instância, deve ser considerado o impacto que o comportamento típico da PHDA provoca no ambiente familiar. Foi observado que o comportamento característico da PHDA representa uma sobrecarga parental. A gestão comportamental é um desafio parental, desde os aspectos mais práticos da vida diária até à relação social, emocional e escolar. Nesse sentido, os pais de crianças com PHDA experienciam maior *stress* emocional, entre o casal e para com o filho, exaustão e isolamento social. Com estas dificuldades, acresce o tempo e atenção necessários para a criança, que se traduz em menos tempo e atenção para o cônjuge ou outros filhos. Estes factores contribuem para os sentimentos de culpa e para a necessidade de apoio, o que

se reflecte por toda a família. Ainda nos dias de hoje continua a ser identificada como uma barreira a falta de informação e acompanhamento técnico que é dado aos pais nas complicações e situações específicas diárias (Laugesen et al., 2016; Laugesen & Groenkjaer, 2015). De uma forma geral, ainda é observada uma complexidade bidireccional na interpretação dos factores familiares e a PHDA.



2.3.3.3 Factores escolares

No contexto escolar o comportamento hiperactivo é mais facilmente observável, mas as dificuldades de atenção serão mais prejudiciais.

É nos contextos escolar e familiar que é observado um maior impacto na funcionalidade. Enquanto o padrão das alterações familiares tende para efeitos cumulativos tardios de afastamento social e problemas de dinâmica (Laugesen et al., 2016; Laugesen & Groenkjaer, 2015), no contexto escolar as alterações são sistematicamente avaliadas. O desvio dos resultados esperados cedo sinaliza e quantifica o impacto dos comportamentos da PHDA. As mudanças associadas à entrada no primeiro ciclo são feitas na presença dos professores, uma das figuras mais importantes para o desenvolvimento pedagógico, académico e pessoal. O aumento da prevalência da PHDA cedo confrontou o sistema educacional com a falta de informação relativamente à problemática. Com o aumento da informação, o conhecimento relativo aos comportamentos de hiperactividade e défice de atenção avançou para além da justificação recorrente de falta de regras e educação (Mohr-Jensen, Steen-Jensen, Bang-Schnack, & Thingvad, 2015).

Também no padrão dos resultados académicos foi observada uma melhoria progressiva com o aumento da idade (Frazier, Youngstrom, Glutting, & Watkins, 2007; Polderman, Boomsma, Bartels, Verhulst, & Huizink, 2010), sendo coerente com esta tendência exposta anteriormente. Este declínio foi principalmente observado nos comportamentos de hiperactividade (Polderman et al., 2010), no entanto, esta consideração poderá resultar de a exteriorização do comportamento ser mais facilmente observável. A desatenção é identificada pela dificuldade em manter a atenção visual e em permanecer na tarefa e resulta num perfil mais *silencioso* (Kofler, Rapport, & Matt Alderson, 2008; Polderman et al., 2010). Coerentemente, entre os sintomas da PHDA, a desatenção apresenta maior impacto negativo na académico e socioeconómico (Polderman et al., 2010).

Até hoje, mesmo com o desenvolvimento da área da psicopatologia, não foi demonstrada evidência clara de qual o impacto ambiental no resultado comportamental. São observados resultados consistentes na relação entre o contexto e o comportamento, mas com reservas relativamente às características do défice de atenção e hiperactividade (Burt, 2009). Esta será uma das áreas com maior escassez de informação, principalmente na compreensão das causas e consequências na frequente dificuldade académica, na retenção de ano, na inclusão na educação especial, nas suspensões e no abandono escolar (Gaastra, Groen, Tucha, & Tucha, 2016).



2.3.3.4 Factores alimentares

A evidência confirmada do impacto alimentar na PHDA foi abandonada e necessita de ser explorada.

A procura da associação entre a alimentação e comportamentos, patologias ou condições tem tido um aumento progressivo. Na PHDA uma das primeiras explicações relacionou-se com a ingestão de aditivos alimentares artificiais, de cor e sabor, e a sua contribuição para as dificuldades de aprendizagem e de hiperactividade. Consequentemente, foi adoptada a remoção destes componentes na dieta das crianças, pelo facto aliciante de se tratar de uma forma de tratamento alternativa à medicação, no entanto, não foi isenta de controvérsia por falta de evidência. A primeira Metanálise que procurou verificar a eficácia desta forma de intervenção falhou em suportá-la, considerando um efeito reduzido e alimentando o cepticismo que mantém até hoje (Kavale & Forness, 1983; Nigg, Lewis, Edinger, & Falk, 2012). Juntamente com esse facto, foi observado que o procedimento necessário para cumprir este plano de remoção alimentar exigia uma alteração drástica de rotinas, como o aumento da necessidade de confeccionar comida em casa, a exclusão da comida dos restaurantes ou das cantinas escolares (Kavale & Forness, 1983). Esta questão só voltou a ser novamente analisada por Metanálise cerca de dez anos depois, como resultado do aumento dos estudos que procuraram a mesma associação e das limitações metodológicas da primeira tentativa. Foi encontrada uma associação significativa entre a ingestão de corantes alimentares artificiais e os comportamentos de hiperactividade, em crianças com e sem hiperactividade (Schab, 2004). Subsequentemente a estes resultados foram adoptadas medidas de prevenção pelas autoridades reguladoras. Em 2008, nos Estados Unidos da América, os estudos levados a cabo pelo *Center for Science in the Public Interest* e *Food and Drug Administration* não encontram associação com os factores alimentares e as alterações de comportamento, no entanto, traçam esta conclusão através de Revisões de Literatura não publicadas e apenas qualitativas. Isto denota uma falta de consenso com a evidência anterior. Nesse sentido, foi realizada a mais recente revisão quantitativa com estudos experimentais, que concluiu que a restrição alimentar a estes componentes diminui os comportamentos típicos da PHDA, fazendo-o com robustez que poderá inverter as conclusões anteriores (Nigg et al., 2012).

No estudo do açúcar tem igualmente sido levantada a hipótese da sua associação com vários comportamentos, no entanto, não tem sido aprofundada. O conceito de que o açúcar adicionado à comida poderá ter efeitos comportamentais adversos remonta ao ano de 1922 (Nigg et al., 2012; Wolraich, 1995). O interesse nesta questão teve o seu pico na década de 1970, com algumas teorias que a procuraram justificar pela reacção fisiológica ao açúcar, mas apenas há registo de uma Revisão Sistemática focada na PHDA. Nesta revisão, apesar de não encontrar esta relação, considerou-se que a falta e a limitação dos estudos não permitem traçar uma conclusão definitiva (Wolraich, 1995).



2.3.3.5 Sono e descanso

As alterações do sono observadas na PHDA podem ser representativas de alterações neurobiológicas, assim como uma consequência comportamental da alteração dos ciclos circadianos.

Apesar da taxa de problemas de sono atingir entre 10 e 40% das crianças, será também uma das principais áreas subvalorizadas na influência no crescimento e no comportamento. Sendo o sono fundamental para múltiplos aspectos vitais, têm sido identificadas implicações negativas em termos cognitivos, académicos, emocionais, físicos e comportamentais. A consideração de que o sono pode funcionar como uma causa de vários problemas tem tido uma crescente valorização, gradualmente passando a ser considerado mais do que apenas um sintoma. Relativamente à PHDA, os estudos têm sido focados na relação do sono, como causa ou consequência, com os comportamentos de desatenção, hiperactividade e impulsividade (A. Lundahl, Kidwell, Van Dyk, & Nelson, 2015). Actualmente, esta compreensão ainda não foi atingida (Díaz-Román, Hita-Yáñez, & Buela-Casal, 2016; A. Lundahl et al., 2015).

A avaliação do sono apresenta algumas limitações metodológicas, podendo ser realizada por medidas subjectivas ou objectivas. As medidas subjectivas, tendencialmente retrospectivas, incluem questionários, entrevistas e diários que se focam nos aspectos observáveis do sono como a duração, hora do adormecer, número de noites acordado e número de sestas. As medidas objectivas, como a actigrafia, polissonografia ou vídeo, captam a informação não visível em tempo real, podendo a polissonografia ser usada em conjunto com o EEG para o registo das fases do sono (Corkum, Tannock, & Moldofsky, 1998; Samuele Cortese, Konofal, Yateman, Mouren, & Lecendreux, 2006). Na primeira Revisão Sistemática a evidência foi controversa e limitada pela qualidade dos primeiros estudos incluídos, no entanto, foi identificada a necessidade clara de progressão nesta área (Corkum et al., 1998). Devido às limitações iniciais, a evidência é limitada e sem significado. Foi pontualmente identificado que as crianças com PHDA apresentam mais movimentos durante o sono (Samuele Cortese et al., 2006; Sadeh, Pergamin, & Bar-Haim, 2006), adormecem mais frequentemente e apresentam maiores valores no índice de apneia-hipopneia¹¹ (Samuele Cortese et al., 2006). Foi também identificada a relação entre a Síndrome de Apneia Obstrutiva do Sono e alterações comportamentais semelhantes às da PHDA (Schechter & Section on Pediatric Pulmonology, 2002).

Em trabalhos mais recentes foi observado que as crianças com PHDA apresentam alterações significativas no sono como comportamento agitado antes e depois de dormir, fragmentação

¹¹ Apneia é definida como a suspensão da respiração durante pelo menos 10 segundos. Hipopneia é definida como uma redução de 50% do fluxo de ar (medida por um instrumento validado), ou uma redução no fluxo de ar associada a uma redução de 3% na saturação de oxigénio arterial e/ou no estado de alerta. O índice de apneia-hipopneia é a soma das apneias e hipopneias por hora de sono.

e baixa eficácia do sono, sonolência diurna e alterações de respiração (Samuele Cortese, Faraone, Konofal, & Lecendreux, 2009). Em relação às alterações de respiração que ocorrem durante o sono, quando estão presentes em crianças e jovens, resultam, por si só, em comportamentos similares à PHDA. Após a cirurgia de remoção das adenóides foi observado que estes comportamentos e estas alterações respiratórias diminuem (Sedky, Bennett, & Carvalho, 2014). Relativamente à sonolência diurna, existe uma associação com os comportamentos da PHDA, no entanto, ainda não é totalmente compreendida esta comorbilidade. Por um lado, a sonolência pode ser considerada um factor patológico que induz alterações do nível de alerta, hiperactividade e desatenção. Por outro lado, a PHDA tem associadas alterações de sono que são exacerbadas pelos seus comportamentos e que, por sua vez, induzem sonolência diurna que agrava os mesmos comportamentos (Bioulac, Micoulaud-Franchi, & Philip, 2015).

A relação entre as condições do foro mental e os ritmos circadianos tem sido investigada. Os ritmos biológicos, com periodicidade aproximada de 24 horas, são gerados endogenamente e controlados pelo núcleo supraquiasmático do hipotálamo nas funções biológicas, como a temperatura corporal, secreção hormonal e sono-vigília, e comportamentais, como o nível de alerta, atenção e memória. As pessoas matutinas¹² encontram-se mais sincronizadas com os ciclos de luz e escuridão, tendo os seus valores máximos, biológicos e comportamentais, mais cedo do que as pessoas vespertinas. Assim, as pessoas matutinas apresentam um nível de actividade e rendimento pelo período da manhã, contrariamente aos vespertinos que os apresentam pelo período da tarde. A tipologia intermédia é a mais prevalente em adultos, cerca de 60%, representando as tipologias matutina e vespertina cerca de 20% cada. A tipologia vespertina foi considerada um factor de risco para o desenvolvimento de várias condições mentais, algumas das quais partilham comorbilidade com a PHDA. Por outro lado, a tipologia matutina é considerada um factor protector. Estas associações foram observadas no início, desenvolvimento e remissão de comportamentos (Antúñez, Navarro, & Adan, 2014).

Na PHDA, para além das características de sono já referidas, foi identificado um padrão vespertino com várias condições associadas como maior latência de sono, tempo mais tardio para dormir, comportamentos impulsivos e dificuldades em conciliar o sono. Este padrão foi mais associado ao comportamento de desatenção e menos ao comportamento hiperactivo. (Antúñez et al., 2014). Os estudos experimentais, com a manipulação da variável relativa às horas de sono demonstraram um maior impacto negativo na atenção, principalmente em crianças mais jovens e rapazes, não havendo impacto significativo na hiperactividade (A. Lundahl et al., 2015).

¹² A tipologia circadiana é dividida em matutina, relativa à manhã, vespertina, relativa à tarde ou noite, e intermédia. As pessoas matutinas correspondem a pessoas que se deitam e levantam cedo, ao invés das pessoas vespertinas que o fazem mais tarde.

Assim, é clara a necessidade de aprofundar o conhecimento nesta área (Corkum et al., 1998; Samuele Cortese et al., 2009, 2006; Díaz-Román et al., 2016; Sadeh et al., 2006; Schechter & Section on Pediatric Pulmonology, 2002). Actualmente, é necessária a investigação da etiologia dos padrões de sono e da possível relação entre a tipologia circadiana e as alterações mentais, tanto como factor de risco como estratégia de intervenção, uma vez que as ligações biológicas ainda não estão completamente compreendidas (Bioulac et al., 2015). Estão lançadas as linhas orientadoras de investigação dos princípios neurobiológicos do nível de alerta (Samuele Cortese et al., 2009) e sugerida a inclusão da avaliação do sono ao processo de avaliação diagnóstica da PHDA (Bioulac et al., 2015; Fischman, Kuffler, & Bloch, 2015; A. Lundahl et al., 2015; Sedky et al., 2014).



2.3.3.6 Gravidez e parto

O peso à nascença, as semanas de gestação e o tipo de parto são os principais factores de risco da PHDA.

O aumento progressivo dos partos prematuros, o baixo peso à nascença e o parto por cesariana têm sido coincidentes com o aumento da incidência de várias condições, o que tem levado à procura da sua associação às diversas condições infantis (Bhutta, Cleves, Casey, Craddock, & Anand, 2002; Curran et al., 2015; James M. Swanson et al., 2007). Os comportamentos e hábitos de risco maternos e as características associadas ao parto foram igualmente avaliadas na sua relação com a PHDA. O baixo peso à nascença, com maior impacto se for inferior a 2,5 quilogramas, e o nascimento prematuro, com maior impacto se inferior a 34 semanas, encontram-se associados a alterações comportamentais (Bhutta et al., 2002; James M. Swanson et al., 2007). O nascimento prematuro apresenta um risco 2,64 vezes superior para desenvolver PHDA, com manifestações comportamentais significativas durante a idade escolar, sendo possivelmente justificado pela diminuição do volume do córtex sensório-motor, corpo caloso, amígdala, hipocampo e núcleos da base (Bhutta et al., 2002). Relativamente ao parto por cesariana, algumas justificações para o seu maior risco associado foram apresentadas. Poderá estar relacionado com os factores microbióticos, em que o parto vaginal permite uma exposição às bactérias maternas vaginais ao invés das bactérias da pele no parto por cesariana, resultando em diferenças microbióticas que estão associadas a futuras alterações de comportamento. Por outro lado, o *stress* causado à mãe e ao bebé durante o parto vaginal pode potenciar o eixo HPA e o sistema imunológico a lidar melhor com as *agressões* futuras. Finalmente, como a maioria dos partos por cesariana são agendados entre as semanas 37 e 39 da gestação, para anteciparem o parto espontâneo às 40 semanas, pode reduzir as semanas finais que são importantes para o desenvolvimento do SNC (Curran et al., 2015). Apesar destas justificações, actualmente não existem estudos suficientes que permitam uma conclusão baseada na evidência.



2.3.3.7 Exposição química

Diferentes exposições químicas podem cumulativamente ter impacto na expressão genética e influenciar as características fenotípicas neurocomportamentais.

Nos primeiros estudos estatísticos genéticos foram incorporadas medidas que permitiram verificar outros riscos não-genéticos. A incapacidade em construir uma etiologia genética sólida acrescenta interesse na compreensão da exposição aos factores ambientais. As crianças, pela imaturidade dos seus mecanismos de desintoxicação, têm um período extenso de vulnerabilidade biológica à exposição tóxica ambiental que começa após a concepção e permanece até à adolescência (Rodríguez-Barranco et al., 2013). As principais substâncias analisadas, à parte do álcool e do tabaco já supramencionados, foram, por exemplo, ferro, chumbo, arsénico e zinco tendo um efeito neurocomportamental na atenção e nas funções executivas (Aguiar et al., 2010; James M. Swanson et al., 2007).

O ferro desempenha um papel central em vários processos biológicos, incluindo as funções cerebrais essenciais. A anemia por deficiência nutritiva de ferro resulta em alterações estruturais e funcionais do SNC, do metabolismo dopaminérgico, da mielinização e também nas competências mentais, sociais e motoras. Pode ser ligada à etiologia da PHDA por múltiplas razões explicações. O ferro, é um co-factor de enzimas que são necessárias à síntese e catabolismo dos neurotransmissores monoaminas, como as catecolaminas (dopamina, adrenalina e noradrenalina), serotonina e a histamina. A anemia por deficiência de ferro está associada a uma diminuição da expressão do transportador de dopamina, pode levar a alterações nos núcleos da base e tem sido observada em crianças com alterações comportamentais e cognitivas típicas da PHDA. Por último, a necessidade involuntária de movimentar os membros inferiores e superiores durante o sono foi documentada como uma comorbilidade da PHDA e como estando associada à insuficiência de ferro (Samuele Cortese, Angriman, & Lecendreux, 2012; Tan, Wei, Zhang, Lu, & Li, 2011). Estes pressupostos parecem justificar os baixos valores cerebrais de ferro na PHDA e a diminuição da eficácia da medicação psico-estimulante (Samuele Cortese, Angriman, et al., 2012). No entanto, apesar destas fortes associações teóricas, actualmente a evidência é suportada de forma pouca expressiva e limitada pela qualidade metodológica (Samuele Cortese, Angriman, et al., 2012; Tan et al., 2011).

O chumbo é um elemento químico neurotóxico que se acumula nos tecidos moles e nos ossos, sendo significativamente prejudicial durante a infância e a adolescência. A exposição a quantidades excessivas danifica vários órgãos e interfere com o desenvolvimento do SNC resultando em alterações neurológicas como a incapacidade intelectual, paralisia cerebral, epilepsia ou até mesmo um estado de coma ou à morte. A exposição a baixas quantidades tem sido associada à diminuição da capacidade cognitiva, das funções executivas e a alterações comportamentais. Quando é absorvido, facilmente atravessa a barreira hemato-encefálica, afectando principalmente as regiões do córtex pré-frontal, hipocampo, núcleos da



base e cerebelo (Goodlad, Marcus, & Fulton, 2013), o eixo HPA (Daneshparvar et al., 2016) e os sistemas dopaminérgicos, glutamatérgicos (Daneshparvar et al., 2016; Goodlad et al., 2013) e colinérgicos (Goodlad et al., 2013). Todas as áreas e sistemas foram implicados na etiologia da PHDA. A sugestão do nível de segurança máximo de chumbo na corrente sanguínea foi variando ao longo do tempo. Foi considerado de 30 microgramas por decilitro em 1975, de 25 microgramas por decilitro em 1985, de 10 microgramas por decilitro em 1991 e de 5 microgramas por decilitro em 2012 (Daneshparvar et al., 2016; Goodlad et al., 2013). No entanto, a questão centra-se no facto de que não foi encontrada uma associação entre os níveis de chumbo, maiores ou menores, e as alterações comportamentais, pois estas foram transversais a todos os valores de chumbo na corrente sanguínea. Ou seja, bastará a exposição ao chumbo para serem observadas todas as alterações mencionadas. Corroboram esta consideração, a evidência de que têm sido observadas alterações comportamentais com valores abaixo de cinco microgramas por decilitro (Daneshparvar et al., 2016; Goodlad et al., 2013) e de que não deverá ser considerado um nível seguro de exposição de chumbo (Goodlad et al., 2013).

Outros componentes químicos foram investigados em relação à PHDA, no entanto, sem o mesmo nível de evidência. O zinco é um micronutriente com um papel fundamental na transmissão sináptica. A insuficiência de zinco foi observada em várias perturbações neuropsiquiátricas, tanto como factor de risco como protector. O zinco aumenta a afinidade do metilfenidato, um dos fármacos mais utilizados na PHDA, aos transportadores de dopamina, inibe a recaptação de dopamina e liga-se ao seu transportador (Ahmad Ghanizadeh, 2013). A única Revisão Sistemática com Metanálise que procurou a relação entre os valores de zinco e a PHDA identificou a possível susceptibilidade em contribuir para a sua etiologia (G.-X. Sun, Wang, & Zhang, 2015).

Pelo pouco destaque dado a outros componentes, e com o objectivo de lhes dar realce, foi realizada a única revisão que procurou analisar a associação comportamental e a exposição ao arsénio, cádmio e manganésio. Foi observada relação com o manganésio e o arsénio, havendo informação insuficiente relativamente ao cádmio. Em relação ao manganésio, foi observada uma maior concentração em casos com PHDA. O risco da exposição ao manganésio é justificado pela sua toxicidade alvejar principalmente o SNC, os sistemas de transportadores, a actividade enzimática, as funções dos receptores, o sistema dopaminérgico glutamatérgico e os núcleos da base. O mesmo é observado relativamente ao arsénio, cujo mecanismo de toxicidade se relaciona com o *stress* oxidativo que leva a alterações no Ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) e nos receptores glutamatérgicos do hipocampo. Relativamente ao cádmio, o mecanismo de difusão pela barreira hematoencefálica e o efeito nos neurotransmissores, como a noradrenalina, serotonina e acetilcolina, apenas foram observados em animais não-humanos. Poucos estudos têm avaliado as alterações que provoca em termos de neurodesenvolvimento e comportamento, no entanto, foi observada uma tendência similar à das restantes substâncias químicas (Rodríguez-

Barranco et al., 2013).

Os ftalatos são um grupo de compostos químicos endócrinos *disruptivos*¹³ derivados do ácido ftálico. São lípidos solúveis com um tempo de vida curto e que não se acumulam no corpo. Foram introduzidos na década de 1920, sendo actualmente utilizados como aditivo para tornar o plástico mais maleável e são incluídos, por exemplo, nos produtos de higiene pessoal, adesivos, embalagens de plástico, nos diferentes tipos de chão e nas tubagens de uso médico. Como resultado, a exposição diária cumulativa em adultos e crianças é inevitável, como no caso das loções para bebés, pó talco ou champô, em que as maiores concentrações de ftalatos foram positivamente associadas ao número de produtos usados. Dada a utilização no empacotamento, armazenamento e gestão alimentar é possível existirem fugas deste componente para os alimentos. O mecanismo de impacto envolve alterações na actividade do estrogénio podendo passar através da placenta e entrar no leite materno. Na única Revisão Sistemática que analisou a associação entre a exposição a estas substâncias e as alterações de neurodesenvolvimento foi observada a relação com alterações cognitivas e comportamentais, como desatenção e hiperactividade (Ejaredar, Nyanza, Ten Eycke, & Dewey, 2015). Foi assim encontrada a evidência preliminar necessária para a continuação da exploração desta associação.

O bisfenol é um químico sintético também usado na produção de plásticos. A exposição a este componente ocorre através do tracto gastrointestinal, pulmões e pele. À semelhança dos ftalatos, é um químico endócrino *disruptivo* com propriedades de enfraquecimento ou anulação do estrogénio, que passa a barreira hemato-encefálica, a placenta e o leite materno. Sendo a exposição ao bisfenol uma das mais comuns, a sua utilização tem sido proibida nalguns países. A única revisão focada neste tópico encontrou uma associação positiva entre a exposição ao bisfenol e alterações comportamentais, podendo levar a maiores níveis de agressividade, hiperactividade, ansiedade e sintomatologia depressiva. Pela pouca quantidade de informação disponível, existe uma grande necessidade de investigar continuamente estes componentes (Ejaredar, Lee, Roberts, Sauve, & Dewey, 2016).

Em conclusão, diferentes factores de risco podem cumulativamente ter impacto na expressão genética e influenciar as características fenotípicas de diferentes condições e alterações neurocomportamentais. A relação entre o conhecimento empírico e a construção teórica deverá procurar incorporar os seus conceitos de forma a estabelecer pressupostos firmes e assentes nas características ambientais, dado os sinais do seu papel fundamental.

¹³ Nesta tese foi utilizado o termo *disruptivo* associado aos químicos endócrinos, por importação do termo técnico inglês *endocrine-disrupting chemicals*, apesar da falta de representação correcta na língua portuguesa. A utilização de outro termo, linguisticamente correcto, poderia deturpar o seu entendimento.



2.3.4 Comorbilidade

As fronteiras comportamentais e neurobiológicas da comorbilidade são ainda muito ténues e dúbias; existem grandes limitações nosológicas e metodológicas que limitam a evidência da comorbilidade na PHDA.

Na década de 1990, seguindo a direcção do estudo etiológico, ganhou destaque a comorbilidade entre as várias patologias do foro mental. A comorbilidade resulta da covariância entre as várias patologias e é facilmente observada nos extensos critérios de diagnóstico diferenciais. A inclusão na ICD-10 da categoria de Perturbações da Conduta e Emocionais Mistas, revela o início da mudança para uma nova abordagem conceptual, mais focada na compreensão etiológica e compreensão psicopatológica (Angold, Costello, & Erkanli, 1999; World Health Organization, 2016a). O DSM-5 identifica sobreposições de diagnóstico com a PHDA com outras Perturbações, como as da Oposição, Conduta, Humor e Consumo de Substâncias, com vários comportamentos, como a baixa tolerância à frustração, irritabilidade e labilidade emocional, com as alterações de funcionalidade, como o desempenho académico e laboral, e com as características etiológicas, como o aumento das ondas lentas no EEG, diminuição do volume total cerebral na MRI, possível atraso de maturação cortical e alterações genéticas (American Psychiatric Association, 2013).

A separação nosológica entre cada patologia assenta numa catalogação sistemática de um conjunto de comportamentos mais frequentemente observados e, dessa forma, organizados por critérios de diagnóstico. Embora nalgumas condições patológicas, como fisiológicas ou ortopédicas, seja fácil esta separação, nas condições mentais isso ainda não é possível. O enquadramento realizado nesta tese, sobre a etiologia e os factores de risco da PHDA, facilmente demonstrou o quão distante estamos de uma compreensão total. Dessa forma, a divisão das patologias por critérios comportamentais, genéticos, neuroanatómicos ou neurofisiológicos ainda é um objectivo longínquo, dado que cada área por si só, ainda apresenta um grande caminho a percorrer. A Figura 2-4, sumariza os principais pontos etiológicos já referidos nesta tese, acrescentando um sumário para as principais patologias mentais. É pretendido com esta figura mostrar a grande sobreposição de conclusões etiológicas entre as várias condições e a grande inter-relação entre os sistemas e as patologias.

Uma vez que somente na edição do DSM-5 a PHDA foi claramente considerada uma Perturbação do Neurodesenvolvimento, as primeiras conclusões da sua comorbilidade surgiram no âmbito psiquiátrico. Nas primeiras abordagens quantitativas foram identificadas as principais relações não-casuais com patologias ou condições psiquiátricas como a ansiedade, depressão e Perturbação da Oposição (Angold et al., 1999). Inevitavelmente, resultou nas primeiras relações com essas patologias, o que alimentou, e alimenta ainda hoje, a continuação das respostas da comorbilidade com a PHDA. A procura genética, pela fase inicial em que se encontra, identificou alguns componentes associados a cada patologia. Mas



pela complexa interligação da informação, ainda não foi possível compreender se existem genes comuns às patologias de sintomatologia similar ou se é a conjugação do património genético individual que se traduz na susceptibilidade a uma doença (Gatt et al., 2015).

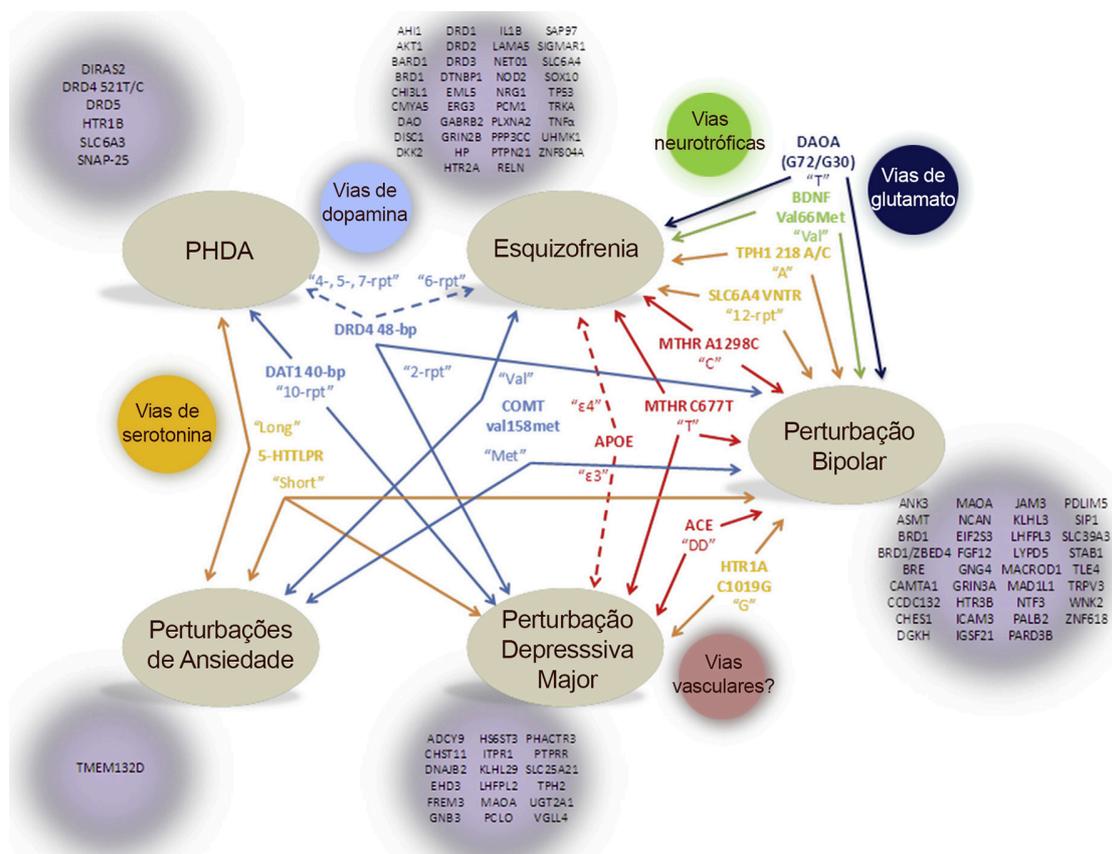


Figura 2-4. Resumo dos genes implicados nas principais Perturbações Mentais por Metanálise. Os principais genes específicos a cada perturbação estão indicados nos círculos roxos exteriores. Os genes partilhados estão indicados no centro da figura. Os genes e os alelos comuns são associados às linhas sólidas e os genes e os alelos diferentes às linhas intermitentes. As cores das linhas representam a associação às vias moleculares dos genes implicados: serotonina (laranja), dopamina (azul-claro), glutamato (azul-escuro), vascular (vermelho) e neurotrófica (verde). O termo *vascular* é um termo amplo, usado para descrever a ligação potencial entre estes três genes, no entanto, estes genes podem também funcionar de outras formas ainda desconhecidas. Abreviaturas de genes apenas como exemplo.

Figura traduzida e adaptada (Gatt, Burton, Williams, & Schofield, 2015).

2.3.4.1 Perturbação *Disruptiva*, do Controlo de Impulsos e da Conduta

A similaridade conceptual dos comportamentos disruptivos e de conduta podem potenciar a sobreposição de diagnósticos.

Uma das principais sobreposições comportamentais surgiu inevitavelmente associada às Perturbações da Conduta e da Oposição. Cedo se criou a controvérsia de poderem ser subtipos de um tipo geral de alteração de comportamento (Oosterlaan, Logan, & Sergeant, 1998). Nos primeiros estudos que reportaram esta co-ocorrência não-casual, foi observado que os indivíduos com alterações persistentes da conduta apresentavam maiores níveis de

impulsividade e PHDA (Waschbusch, 2002). A gravidade da PHDA e a conjugação com estas duas condições encontram-se associadas a uma maior persistência da PHDA na vida adulta (Caye et al., 2016).

Pela implicação que esta conjugação pode apresentar no comportamento social, em contexto prisional foi quantitativamente identificado que 29% dos casos com PHDA coexistiam com Perturbação da Conduta, não sendo significativa esta associação com indivíduos mais novos (S. Young et al., 2015). A presença da PHDA com as Perturbações *Disruptivas* pode indicar um maior risco de integração futura em estabelecimentos prisionais (Mohr-Jensen & Steinhausen, 2016). Estas abordagens apresentam grandes limitações metodológicas e de generalização e pela complexidade no percurso até à vida adulta, mesmo em termos neuroanatômicos (Katya Rubia, 2011), torna-se incompleta a compreensão dos aspectos que se tornam consequência. A generalização do conceito de *comportamentos disruptivos*, que inclui comportamentos de oposição, desafio e agressividade, não contribuiu para uma compreensão isolada, uma vez que a associação ocorre, principalmente, pela comorbilidade associada e não pelos sintomas típicos da PHDA (Buitelaar, Posthumus, & Buitelaar, 2015).



2.3.4.2 Perturbações da Personalidade

Não é possível concluir a relação entre a PHDA, com diagnóstico tipicamente realizado em crianças, e a comorbilidade com perturbações diagnosticadas só na fase adulta.

A impulsividade do ponto de vista clínico, diagnóstico e fisiopatológico é um marco transversal a várias condições neuropsiquiátricas e que liga a PHDA às Perturbações da Personalidade. Adicionalmente, são comuns as dificuldades de organização e regulação com repercussão nas competências cognitivas e sociais (American Psychiatric Association, 2013).

Desde o DSM-IV que as Perturbações da Personalidade ficaram num eixo de diagnóstico próprio. Embora na sua conceptualização surjam em qualquer idade, na prática, raramente são diagnosticadas antes dos 18 anos. Isso implica que a ocorrência simultânea com a PHDA é identificada através de funções, como a atenção, planeamento, memória visual e verbal (Davids & Gastpar, 2005; S. Young et al., 2015), e circuitos neurofuncionais, como os circuitos frontais de controlo inibitório (Sebastian et al., 2014). No entanto, estas alterações neurocognitivas mostram-se também transversais a várias condições, o que aumenta a indefinição dos vários tipos de diagnóstico que ocorrem após a transição para a vida adulta (Davids & Gastpar, 2005; Sebastian et al., 2014).

Por exemplo, a Perturbação da Personalidade *Borderline* apresenta indícios da sua associação com a PHDA, no entanto, esta associação parte de algumas similaridades de critérios de diagnóstico, como a impulsividade. A PHDA é uma condição que pode permanecer até a vida adulta, mas está sujeita a comorbilidade com outras condições que possam surgir. Por outro lado, a Perturbação da Personalidade *Borderline* apresenta heterogeneidade, tendo grupos maioritariamente caracterizados por impulsividade, alterações afectivas ou

dissociativas. É ainda pouco claro se o comportamento impulsivo ou o intenso temperamento da PHDA provocam os sentimentos de baixa auto-estima e as alterações nas relações interpessoais, ou se poderão justificar a comorbilidade com as Perturbações da Personalidade (Davids & Gastpar, 2005).

À semelhança de outras áreas, a compreensão das Perturbações da Personalidade encontra-se numa fase inicial. Foi possível compreender que os mecanismos do controlo de impulsos apresentam vários factores associados a cada diagnóstico, à semelhança dos seus mecanismos neurais (Sebastian et al., 2014). A compreensão desta comorbilidade deverá ser focada na transição que ocorre para a vida adulta para identificar se é o resultado de uma operacionalização e construção diagnóstica desadequada (Davids & Gastpar, 2005).



2.3.4.3 Perturbação Bipolar

Os sintomas de ansiedade podem ser o elo de ligação entre a PHDA e a Perturbação Bipolar.

A comorbilidade entre a PHDA e a Perturbação Bipolar é também influenciada pela interacção dos critérios de diagnóstico, partilhando sintomas como as variações de humor e do sono, comportamento agressivo, irritabilidade e desatenção. Outros sintomas são partilhados, mas mais associados à PHDA, como a constância de hiperactividade, desorganização e esquecimento (Marangoni, De Chiara, & Faedda, 2015; Mick, Biederman, Pandina, & Faraone, 2003). Geneticamente, foi observado um maior risco de desenvolver estas perturbações caso existissem previamente na família (Faedda et al., 2014; Stephen V. Faraone, Biederman, & Wozniak, 2012). A Perturbação Bipolar surge mais precocemente em crianças com PHDA ou Perturbações da Ansiedade (Faedda et al., 2014), podendo ser a ansiedade o elo que liga esta comorbilidade em vez das funções neuropsicológicas, pois apenas foram observadas variações subtis nas funções executivas (Walshaw, Alloy, & Sabb, 2010).

A comorbilidade destas condições na vida adulta assenta em conhecimento escasso e pouco sólido (Wingo & Ghaemi, 2007). Apesar da similaridade entre os sintomas, já foi recolhida informação que permite questionar a conceptualização actual diagnóstica como ferramenta de avaliação (Marangoni et al., 2015).



2.3.4.4 Perturbações Relacionadas com Substâncias e Perturbações Aditivas

Existe uma similaridade neurobiológica nos comportamentos de impulsividade associados às perturbações aditivas.

Vários fundamentos têm ligado a PHDA ao consumo de substâncias, como a associação com o neurotransmissor dopamina (Thomas Frodl, 2010; S. S. Lee, Humphreys, Flory, Liu, & Glass, 2011), a associação ao lobo frontal (A. B. Morgan & Lilienfeld, 2000), os circuitos associados ao corpo estriado e córtex cingulado, diminuição da resposta do corpo estriado na antecipação



de recompensa (Thomas Frodl, 2010), a etiologia genética (S. S. Lee et al., 2011; Serra-Pinheiro et al., 2013) e os comportamentos de impulsividade (Serra-Pinheiro et al., 2013). É claramente visível a maior prevalência da PHDA nas Perturbações Relacionadas com Substâncias, cerca de 25%, o que apresenta um desafio na avaliação e intervenção da própria PHDA (Oortmerssen, K. van Emmerik-van; Crunelle, C.L.; Carpentier, 2013; van Emmerik-van Oortmerssen et al., 2012; Zaso, Park, & Antshel, 2015). No entanto, estes argumentos similares são transversais a mais comorbilidades não sendo possível inferir se esta relação pode ou não ser alimentada por comorbilidade com as Perturbações *Disruptivas* (Serra-Pinheiro et al., 2013).

Foi observado um maior risco na PHDA de desenvolver comportamento aditivo desde a transição da adolescência até uma fase adulta avançada. As principais substâncias observadas são o álcool e a nicotina (Charach, Yeung, Climans, & Lillie, 2011; Waschbusch, 2002). Com a presença da PHDA, foi observado um aumento significativo do consumo de tabaco, principalmente na adolescência, pois na vida adulta não foi observada diferença (Fond et al., 2014), o que é coerente com a progressão sintomatológica da PHDA. Não foi observada uma associação tão clara no consumo de outras drogas, como a cocaína e *cannabis*, podendo ser este um dos possíveis limites da consequência da impulsividade na PHDA, pois a utilização de substâncias pode também estar associada a uma tentativa de auto-medicação (van Emmerik-van Oortmerssen et al., 2012).

Para além dos factores mais graves associados ao consumo de substâncias, como traumas, abusos, maus tratos, historial familiar de consumo e contexto social de aceitação e experimentação (Charach et al., 2011; A. Spencer & Faraone, 2015), a principal ponte traçada com a PHDA centra-se na similaridade neurobiológica dos comportamentos impulsivos como a desinibição, escolhas impulsivas e procura de sensação (Ortal et al., 2015). Tendo a mesma base comportamental e neurobiológica, os comportamentos aditivos assumem-se de várias formas em relação à PHDA, como a associação ao jogo (Dowling et al., 2015; Theule, Hurl, Cheung, Ward, & Henrikson, 2016) e ao uso patológico de internet (Carli et al., 2012; Ho et al., 2014; Nikkelen, Valkenburg, Huizinga, & Bushman, 2014).

No entanto, repete-se a conclusão de que a comorbilidade das Perturbações Relacionadas com Substâncias apresenta igualmente associações significativas com outras perturbações, como as Perturbações *Disruptivas* do Comportamento, podendo ser especulado que, juntamente com a impulsividade, as Perturbações da Conduta possam ser a ponte para a relação com a PHDA (Angold et al., 1999; S. S. Lee et al., 2011). A direcção da causalidade desta comorbilidade também se encontra numa fase inicial, com grandes questões nosológicas e metodológicas no seu centro que impossibilitam a progressão do conhecimento (S. S. Lee et al., 2011; Waschbusch, 2002).



2.3.4.5 Perturbações Depressivas

A grande prevalência individual de cada perturbação dificulta a compreensão dos factores etiológicos comuns e do possível efeito potenciador do contexto no aparecimento de sintomatologia depressiva na PHDA.

Existe um grande número de estudos empíricos sobre a comorbilidade da PHDA e a sintomatologia depressiva. No entanto, até hoje, os resultados têm sido díspares, desde associações significativas a nenhuma associação, e com a heterogeneidade metodológica a tornar complexa a interpretação conjunta dos resultados (Meinzer, Pettit, & Viswesvaran, 2014). O facto destas duas condições, isoladamente, apresentarem uma grande prevalência em crianças e adolescentes, pode facilmente confundir os resultados. A tendência dos resultados apontou para que exista uma relação entre estas duas condições, incluindo os sentimentos de ideação, tentativa e suicídio efectivo (Impey & Heun, 2012; James, Lai, & Dahl, 2004), e que a presença de comorbilidade com as Perturbações Depressiva e *Disruptivas* aumenta significativamente a persistência da sintomatologia da PHDA na vida adulta (Caye et al., 2016).

Apesar da quantidade de estudos que investigam esta comorbilidade, tem sido dada menor atenção à compreensão desta associação. Não apresentam o mesmo nível de evidência outras questões sobre os factores potenciadores de sintomatologia depressiva na PHDA, como as exigências ambientais, funcionamento escolar e profissional e padrões sociais que valorizam o reforço negativo e punitivo. Actualmente, não existe material empírico que permita encerrar estas questões devido às características metodológicas dos estudos realizados, aos limites pouco definidos entre os diagnósticos, às relações etiológicas comuns (Meinzer et al., 2014), à comorbilidade existente com outras Perturbações do Humor e *Disruptivas* (Impey & Heun, 2012; James et al., 2004) e à presença de sentimentos de ansiedade entre os comportamentos *disruptivos* e a PHDA (S. Young et al., 2015).



2.3.4.6 Perturbações do Neurodesenvolvimento

As alterações motoras da PHDA apresentam uma grande sobreposição etiológica com as Perturbações de Tourette e do Desenvolvimento da Coordenação.

Cerca de 50% das crianças com PHDA apresentam um historial de tiques, o que sugere uma possível ligação etiológica com as perturbações motoras, como as Perturbações de Tourette e do Desenvolvimento da Coordenação (B. Ferreira et al., 2014). A Perturbação de Tourette, à semelhança da PHDA, foi associada às Perturbações *Disruptivas*, no entanto, poderá ser através dos comportamentos obsessivo-compulsivos que esta ligação ocorre. Os factores de risco da PHDA aplicam-se igualmente à Perturbação de Tourette. Os fundamentos neurobiológicos, como as alterações presentes nos núcleos da base e no tálamo, aparecem associadas a tiques, podendo causar uma actividade arritmica nas regiões corticais e nas vias associadas à inibição motora e de controlo cognitivo (B. Ferreira et al., 2014).



Nosologicamente, as fronteiras ténues complicam a relação entre estas perturbações. A maior prevalência da PHDA em crianças leva a que haja uma constante associação a várias condições, o que não facilita esta definição nosológica (J. Evans, Seri, & Cavanna, 2016; B. Ferreira et al., 2014). Mesmo a evidência de património genético em comum (Tsetsos et al., 2016) não explica se essas semelhanças estão relacionadas com os comportamentos comuns, se a coexistência de tiques deriva do mesmo tratamento farmacológico ou se as alterações neurais são destes mesmos tratamentos comuns (B. Ferreira et al., 2014).

Por outro lado, a Perturbação do Desenvolvimento da Coordenação, recente no DSM-5, partilha igualmente alguns fundamentos etiológicos e resultados de desempenho. No entanto, com algumas diferenças que podem reflectir diferentes combinações genéticas, ambientais, motoras, na atenção e nas funções executivas. Pela separação recente em termos diagnósticos, pelas limitações metodológicas e nosológicas já descritas e pela comorbilidade que atinge perto de 50% não é actualmente possível traçar conclusões entre estas perturbações (Goulardins et al., 2015).



2.3.4.7 Obesidade

Apesar da grande similaridade neurobiológica e funcional, não existe uma ligação directa na comorbilidade entre a PHDA e a obesidade.

Nos anos mais recentes, a relação da PHDA com a obesidade tem tido várias hipóteses consideradas, mas sem a presença clara de informação longitudinal (Samuele Cortese et al., 2008). A hipótese de que as características da PHDA podem aumentar o risco de obesidade foi principalmente associada aos sintomas centrais na PHDA, que isoladamente podem justificar esta relação. A impulsividade foi associada aos padrões de alimentação, tanto em quantidade como no tipo de alimentos hipercalóricos e com menores nutrientes (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015; Nigg et al., 2015; Racicka, 2013). A desatenção foi associada à menor receptividade das pistas de saciedade ou à dificuldade em manter rotinas de alimentação adequadas (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015; Nigg et al., 2015; Racicka, 2013). A hiperactividade foi igualmente caracterizada por rotinas e padrões alimentares desadequados (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015) e excesso de tempo em actividades sedentárias com televisão (Suchert, Hanewinkel, & Isensee, 2015), apesar do excesso da actividade motora poder diminuir o risco de obesidade (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015; Suchert et al., 2015).

Outros sintomas não-centrais podem também contribuir para esta comorbilidade. As dificuldades de planeamento podem interferir na gestão do horário das refeições e do exercício. As variações de humor podem aumentar a propensão para padrões alimentares desadequados. Por fim, a comorbilidade da PHDA com outras perturbações, principalmente, a *Disruptiva* e *Depressiva*, pode também contribuir para esta relação pois cada uma das perturbações apresenta relação significativa com o risco de excesso de peso (Korczak, Lipman, Morrison, & Szatmari, 2013; Nigg et al., 2015).

Etiologicamente, a justificação da comorbilidade entre a obesidade e a PHDA deriva de fundamentos da farmacogenética, em que os efeitos da medicação estimulante provocam diminuição da impulsividade e redução do apetite (Korczak et al., 2013; Nigg et al., 2015), do *stress* oxidativo, das alterações respiratórias e de sono (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015) e das alterações neurais, nos sistemas de recompensa (corpo estriado, amígdala, córtex órbito-frontal e frontal), dopaminérgico (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015; Nigg et al., 2015; Seymour et al., 2015), de inibição de resposta (córtices pré-motor e frontal) e de regulação emocional (amígdala, córtices órbito-frontal, pré-frontal e anterior cingulado, corpo estriado e ínsula) (Seymour et al., 2015). A relação com o sistema de recompensa resulta dos alimentos constituírem uma recompensa primária, principalmente alimentos hipercalóricos e com grandes quantidades de açúcar (Samuele Cortese, Moreira-Maia, et al., 2015; Nigg et al., 2015; Seymour et al., 2015).

No sentido conceptual inverso, a hipótese de que os factores associados à obesidade podem causar ou imitar as características da PHDA inicia-se nos factores natais, com a ligação entre a obesidade materna e as alterações comportamentais e cognitivas da descendência (R. J. Van Lieshout, Taylor, & Boyle, 2011; Ryan J. Van Lieshout, 2013). Tendo em conta que a obesidade se encontra associada a várias alterações bioquímicas, foram considerados alguns argumentos como a presença de adiposidade materna poder causar alterações de neurodesenvolvimento na descendência, a possível subnutrição materna inerente à dieta e os níveis de citocinas pró-inflamatórias (R. J. Van Lieshout et al., 2011; Ryan J. Van Lieshout, 2013). No entanto, foi observada uma relação pouco expressiva com a PHDA, o que poderá indicar que a procura de respostas deverá também centrar-se no funcionamento neural que as suporta (S. Cortese, Moreira Maia, Rohde, Morcillo-Penalver, & Faraone, 2014; Nigg et al., 2015).



2.3.4.8 Conclusão da evidência da comorbilidade

Existe uma necessidade de trabalho empírico, individualmente, em cada perturbação.

Várias têm sido as direcções que procuram uma ligação entre as várias patologias. No entanto, todas essas ligações apresentam grande heterogeneidade dos resultados apresentados, em parte pelas limitações metodológicas, mas principalmente pelas indefinições etiológicas e nosológicas de cada patologia (Gatt et al., 2015; Katya Rubia, 2002; Spies et al., 2015).



2.3.5 Teorias e Modelos etiológicos

As teorias etiológicas da PHDA são diversas, extensas, por vezes contraditórias e não contemplam a novidade empírica.

Apesar da procura etiológica da PHDA ser transversal a várias áreas, a variabilidade intra-individual tem sido a tendência central que está associada às várias teorias e modelos que caracterizam esta perturbação. Esta variabilidade tem sido associada às diferenças genéticas, neuroanatômicas e comportamentais. Os fundamentos etiológicos da PHDA encontram-se sumariamente expostos de seguida. Foram excluídos da seguinte listagem os pressupostos teóricos que não fossem do âmbito científico, como os modelos de carácter espiritual ou transcendental, por exemplo, a consideração das crianças índigo. Os fundamentos medicinais considerados *não-ocidentais* foram também excluídos deste subcapítulo, no entanto, salienta-se que algumas destas intervenções já foram realizadas respeitando a metodologia científica, como por exemplo a acupunctura e a medicina indiana *Ayurveda*. Estas, foram incluídas na intervenção não-farmacológica. Foram igualmente excluídos os modelos suportados exclusivamente pela investigação em animais não-humanos como, por exemplo, o rato hipertensivo espontâneo, lesões químicas induzidas, radiação hipocampal, a estirpe de rato *Coloboma* e a inibição cerebelar (Paule et al., 2000).

Modelo dos múltiplos limiares poligenéticos

Modelo genérico que considera que a PHDA é devida a vários factores, cada um com efeitos menores. Nestes factores incluem-se os genéticos e os ambientais que, cumulativamente, resultam em patologia após ser excedido o limiar de risco dessa mesma doença (este modelo tem igualmente sido considerado para a explicação da diferença da prevalência entre os sexos) (DeFries, 1989; Eme, 1992; Gaub & Carlson, 1997).

Modelo da variabilidade constitucional

Modelo genérico que se baseia na consideração de que a diferença da prevalência entre rapazes e raparigas se deve a uma maior variabilidade genética das características dos rapazes, explicando assim a razão pela qual apresentam quadros atípicos com mais frequência. No caso das raparigas, estas deverão apresentar somente um quadro patológico como resultado de alterações cerebrais orgânicas (Eme, 1992; Gaub & Carlson, 1997; James & Taylor, 1990; S. Sandberg, 2002)

Modelo da imunorreactividade

Modelo genérico que considera que o feto masculino tende a provocar um ambiente uterino inóspito, denominado *princípio evocativo*, relacionado com a sua antigeneticidade, e que leva

a um estado materno de imunorreactividade que, por sua vez, pode provocar lesões fetais directas ou indirectas (Gualtieri & Hicks, 1985).

Hipótese das origens desenvolvimentais da saúde e doença

Hipótese genérica inicialmente levantada pela possível ligação entre o peso à nascença e a futura doença cardíaca (D. J. Barker, Winter, Osmond, Margetts, & Simmonds, 1989). É posteriormente explorada considerando que o risco de desenvolver patologia, para além dos factores genéticos, se deve a factores ambientais, neste caso, associados numa fase inicial da vida, incluindo as fases pré, peri e pós-natal (Gillman, 2005; Gluckman & Hanson, 2004; James M. Swanson et al., 2007; Wadhwa, 2005).

Hipótese da disfunção cerebral mínima

Hipótese genérica que considera a existência de condicionantes associados à gravidez que podem produzir anomalias no desenvolvimento cerebral, manifestadas em défices comportamentais como, por exemplo, défice de atenção, hiperactividade e dificuldades de aprendizagem. Estas alterações do funcionamento podem ocorrer sem sinal de lesão cerebral, característica que dificultou o desenvolvimento de conhecimento empírico nesta área (Lou, 1996; Menkes, Rowe, & Menkes, 1967; Quitkin & Klein, 1969; James M. Swanson et al., 2007; Towbin, 1971).

A hipótese da excitotoxicidade

Hipótese genérica que justifica que não são observadas alterações cerebrais nos casos de lesão cerebral mínima, através dos métodos de diagnósticos imagéticos cerebrais, pois a lesão afecta tardiamente o desenvolvimento das células granulares (interneurónios), o que reduz o número de neurónios responsáveis pela especialização cerebral (Benveniste, 1991; Lou, 1996; James M. Swanson et al., 2007; Volpe, 1997).

Mito

Hipótese genérica que considera que as doenças mentais são um mito e uma construção médica inventada, não uma doença. A PHDA é um aglomerado de critérios de comportamentos com o objectivo de transformar as variações das diferentes personalidades em termos médicos (Buchanan-Barker & Barker, 2009; Killeen, Tannock, & Sagvolden, 2012; Szasz, 1974, 2003).

Predisposição diagnóstica

Modelo que considera que a patologia é uma construção social, cuja noção de *disfunção* varia dependendo de diversos factores culturais, organizacionais e tecnológicos. Assim, a conceptualização do que é *patologia* levou a uma definição do comportamento escolar *normal*, que pode ter resultado num diagnóstico da PHDA em crianças que se movimentam demasiado

ou que não prestam a atenção devida. Por outro lado, pode ter levado à identificação de *desatenção* em crianças que apenas com baixa motivação para desempenhar correctamente as tarefas escolares impostas (August, Braswell, & Thuras, 1998; Breggin & Breggin, 1996; Purdie, Hattie, & Carroll, 2002).

Lesão cerebral

Justificação genérica que considera que as variações patológicas psicossomáticas e emocionais podem ser explicadas por uma lesão cerebral (inclusão no termo de várias condições, desde alterações anatómicas a orgânicas) com ocorrência pré, peri ou pós natal (Alderson, Rapport, & Kofler, 2007; Strauss & Lehtinen, 1947) ou por uma disfunção no normal funcionamento (Alderson et al., 2007; Kephart & Strauss, 1955).

Modelo da auto-regulação e atenção mantida (via única)

Modelos que considera que os comportamentos de hiperactividade, incapacidade em manter a atenção e pobre controlo de impulsos são explicados por quatro défices principais: pobre investimento e manutenção do esforço, modulação deficitária do nível de alerta adequado às exigências, forte tendência para procurar uma recompensa imediata e pobre controlo de impulsos. Estes quatro défices podem, por sua vez, estar relacionados com défices predominantes na auto-regulação, como expressão dos processos deficitários de motivação, controlo de estímulos, sensibilidade diminuída ao reforço e cumprimento de regras (Chess, 1960; V I Douglas, Barr, O'Neill, & Britton, 1986; Virginia I. Douglas & I., 1972; Glow & Glow, 1979; Gomez & Corr, 2014; Haenlein & Caul, 1987; Hastings & Barkley, 1978; Metin et al., 2016; Purdie et al., 2002; E. J. Sonuga-Barke, Taylor, Sembi, & Smith, 1992).

Modelo de inibição comportamental (via única)

Modelo que considera que os processos regulatórios ou de controlo inibitório são responsáveis pelas alterações de desempenho observadas (Gomez & Corr, 2014; Lahey, Miller, Gordon, & Riley, 1999; Leth-Steensen, Elbaz, & Douglas, 2000). Existe um défice central em que as alterações nas respostas comportamentais inibitórias resultam da disfunção em quatro áreas executivas: memória de trabalho, auto-regulação do nível de alerta, afecto e motivação, linguagem e reconstituição (Barkley, 1997b, 1997a; Gomez & Corr, 2014; Killeen et al., 2012; Lambek et al., 2011; Loo et al., 2007).

Modelo das duplas vias

Modelo que postula que a PHDA está associada a défices na motivação (relacionada com a aversão à demora) e funções executivas (relacionada com a inibição de resposta), tendo estes défices uma contribuição independente, respectivamente, na hiperactividade, impulsividade e desatenção (Dalen, Sonuga-Barke, Hall, & Remington, 2004; Gomez & Corr, 2014; E. J. S. Sonuga-Barke, 2002, 2003, 2005). Esta relação respectiva é posteriormente reforçada e

referida, adicionalmente, como processos *bottom-up* (motivação) e *top-down* (controlo executivo) (Gomez & Corr, 2014; Martel, Goth-Owens, Martinez-Torteya, & Nigg, 2010; Martel, Gremillion, Roberts, von Eye, & Nigg, 2010; Martel, von Eye, & Nigg, 2012, 2010; Nigg, 2010).

Modelo das triplas vias

Modelo que considera que os sintomas não são devido somente a dois componentes, mas sim a três processos indissociáveis cognitivos (inibição comportamental, processamento temporal) e/ou motivacionais (atraso de recompensa) (Burns, Boe, Walsh, Sommers-Flanagan, & Teegarden, 2001; E. Sonuga-Barke, Bitsakou, & Thompson, 2010).

Modelo da rede de modo padrão

Modelo que considera que as alterações nas vias dos circuitos neuroanatômicos córtico-estriado-talâmo-corticais, nomeadas regiões *quentes* (envolvem incentivo e motivação) e *frias* (atenção, memória de trabalho, planeamento e inibição), contribuem para as alterações comportamentais e cognitivas observadas na PHDA (F Xavier Castellanos et al., 2005; F Xavier Castellanos & Tannock, 2002; Katya Rubia, 2011; E. J. S. Sonuga-Barke, 2005; E. J. S. Sonuga-Barke & Castellanos, 2007).

Modelo da rede de atenção

Modelo que considera três redes neurais da atenção, que causam as alterações observadas na PHDA: a rede de alerta (responsável por atingir e manter o estado óptimo do nível de alerta); a rede de orientação (responsável pela conversão orientada para o estímulo sensorial, por exemplo, pelo movimento de atenção visual no espaço); e a rede executiva (associada ao comportamento orientado para um objectivo, inibição e resolução em conflito) (Berger & Posner, 2000; Mullane et al., 2009; Petersen & Posner, 2012; M. Posner & Petersen, 1990).

Três redes neurais

Hipótese que considera que a sintomatologia da PHDA se deve à alteração em três circuitos: o funcionamento conjunto dos circuitos neurais fronto-estriado e fronto-cerebelar, relacionados com o controlo cognitivo e a identificação e previsão de eventos significativos; e a interacção destes dois circuitos com o circuito fronto-amigdalal, relacionado com o controlo regulatório e a atribuição emocional dos eventos (Killeen et al., 2012; Nigg & Casey, 2005).

Hipótese da disfunção dos neurotransmissores

Hipótese que considera que a sintomatologia da PHDA é coerente com o funcionamento das catecolaminas, sistema dopaminérgico e noradrenérgico, justificando assim a eficácia do uso de estimulantes e o envolvimento das regiões frontais (Berridge & Devilbiss, 2011; McCracken, 1991; Oades et al., 2005; S R Pliszka et al., 1996). Especificamente, a hipótese dopaminérgica, actualmente mais fundamentada, considera que a disfunção do sistema de dopamina é uma

das principais causas da PHDA. Esta disfunção pode ocorrer na sinapse ou no funcionamento neuronal. Na sinapse, pode ocorrer em pelo menos uma das três fases: no disparo do neurotransmissor; na reciclagem parcial pelo transportador do neurotransmissor libertado no espaço extracelular; e na acção enzimática para metabolizar o neurotransmissor e desactivá-lo (James M. Swanson et al., 2007). A Teoria do Défice de Transferência de Dopamina postula que a actividade alterada na resposta fásica dopaminérgica ao reforço caracteriza a PHDA. Especificamente, postula que o disparo antecipatório das células dopaminérgicas às pistas que prevêm o reforço está alterado na PHDA, levando a problemas na antecipação de recompensa (Plichta & Scheres, 2014; Tripp & Wickens, 2008). Nas redes neuronais, este modelo integra-se com os modelos referidos anteriormente pelas alterações identificadas nas regiões anatómicas dos circuitos córtico-estriado-talâmo-corticais, como o mesencéfalo (substância negra e área tegmental ventral), com projecções para o estriado e regiões corticais (Kofler et al., 2013; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; K Rubia et al., 2009; Seymour et al., 2015), e as alterações nos genes codificadores associados ao circuito dopaminérgico (DiMaio et al., 2003; S. V. Faraone et al., 2001; Forero et al., 2009; Gizer et al., 2009; Maher et al., 2002; Nikolaidis & Gray, 2010; J. Wu et al., 2012; B. Yang et al., 2007).

Teoria dos baixos níveis de alerta e vigilância (hiporresponsividade frontal)

Esta teoria deriva da teoria da hiporresponsividade frontal que era justificada pelo hipoalerta associado ao aumento das ondas lentas e à diminuição das ondas rápidas no EEG, o que poderia estar na base da procura de níveis extremos de estimulação (Quay, 1965; Rudo-Hutt, 2015; Satterfield & Dawson, 1971). Assim, mais recentemente, este pressuposto está na base da interpretação teórica de que a PHDA poderá apresentar um nível de vigilância baixo ou instável, podendo os comportamentos impulsivos e hiperactivos advir da procura de estabilizar e aumentar o nível de alerta (Hegerl & Hensch, 2014; Hegerl, Himmerich, Engmann, & Hensch, 2010; Rudo-Hutt, 2015).

Modelo do défice subcortical

Modelo que considera que a PHDA é causada por uma alteração neural subcortical que se manifesta numa fase inicial da ontogénese, que permanece relativamente inalterada ao longo da vida e que não está associada à remissão da sintomatologia (Halperin & Schulz, 2006; Halperin, Trampush, Miller, Marks, & Newcorn, 2008).

Hiporresponsividade da porção ventral do estriado

Com a integração das teorias sobre o défice dopaminérgico, a impulsividade associada ao sistema de recompensa e as alterações neuroanatómicas são postuladas três abordagens referentes à menor responsividade da região ventral do estriado: 1) o Modelo do "U-invertido", sobre a relação entre o nível de alerta e a capacidade de desempenho, em que o desempenho

óptimo é atingido nos níveis médios do nível de alerta (sem evidência empírica); 2) o Modelo do moderador, que assume que a relação entre o comportamento impulsivo e a responsividade da região ventral do estriado está dependente da biodisponibilidade de dopamina, por exemplo, a quantidade de dopamina na fenda sináptica (evidência empírica existente); e 3) o Modelo da não-relação, que assume que a associação entre os traços de impulsividade e a responsividade da região ventral do estriado apresenta um factor intermédio, por exemplo a neuroplasticidade, devendo ser considerada uma perspectiva dinâmica desenvolvimental. Desta forma, os traços de impulsividade representam um factor de risco que pode ser agravado pela estimulação ambiental (com evidência empírica) (Plichta & Scheres, 2014).

Modelo do desenvolvimento dinâmico

Modelo que considera que a diminuição do funcionamento dopaminérgico e dos circuitos fronto-estriados leva a uma redução do funcionamento do sistema de recompensa e, na relação entre comportamento e consequência, a uma extinção deficitária do comportamento previamente reforçado. A alteração nestes dois níveis contribui para a sintomatologia central da PHDA, variando de acordo com o contexto, função e tarefa pois o reforço perde o seu "valor" rapidamente levando a uma procura de recompensa imediata (Aase & Sagvolden, 2005; Johansen et al., 2009; Plichta & Scheres, 2014; Sagvolden, Johansen, Aase, & Russell, 2005).

Modelo da aversão ao atraso de recompensa

Modelo que considera que indivíduos com PHDA agem no ambiente de forma a evitar ou fugir ao atraso de recompensa. Em situações em que o atraso é inevitável, a atenção é dirigida para o estímulo mais recompensador de forma a passar o tempo mais rápido. Desta forma, este modelo prevê um padrão de acção de desinteresse em tarefas mais longas ou com recompensas mais espaçadas no tempo. Diferencia-se do modelo anterior, relativamente à envolvimento do ambiente, na previsão de que o desempenho da PHDA piora em intervalos maiores (Metin, Roeyers, Wiersema, Van Der Meere, & Sonuga-Barke, 2012; Solanto et al., 2001; E. J. S. Sonuga-Barke, Sergeant, Nigg, & Willcutt, 2008; E. J. S. Sonuga-Barke, Wiersema, van der Meere, & Roeyers, 2010; E. J. Sonuga-Barke et al., 1992).

Modelo da variabilidade de características

Modelo que considera que os comportamentos de hiperactividade são causados por uma maior variabilidade, na frequência, magnitude e inconsistência, dos níveis de alerta e reactividade, o que resulta em problemas de atenção mantida, desempenho cognitivo e comportamento social (Hicks, Mayo, & Clayton, 1989; Kofler et al., 2013).

Modelo da memória de trabalho

Modelo que considera que a sintomatologia da PHDA surge como uma expressão fenotípica e comportamental da interacção entre a vulnerabilidade neurobiológica e a exigência ambiental, que por sua vez sobrecarrega o funcionamento da memória de trabalho, por si própria deficitária. As condições associadas à PHDA resultam do efeito directo dos défices na memória de trabalho e do efeito indirecto nos sintomas comportamentais centrais (M D Rapport, Chung, Shore, & Isaacs, 2001; Mark D Rapport et al., 2008).

Modelo cognitivo neuroenergético e teoria comportamental neuroenergética

A primeira construção do Modelo cognitivo energético introduziu na conceptualização do processamento de informação conceitos como esforço, alerta e activação. Desta forma, o desempenho nas tarefas não é somente influenciado pelas componentes cognitivas, mas também pelos níveis de activação e alerta provocados pelo ambiente (Metin et al., 2012; Sanders, 1983). Este modelo define o *estado regulatório* como a capacidade de alocar o esforço para a manutenção do desempenho na presença de factores de *stress*, como a elevada frequência de estímulo. Apesar desta activação ocorrer normalmente na presença de um estímulo ambiental, intervalos longos e ininterruptos levam a uma hipoactivação na PHDA, impossibilitando esta alocação de esforço que é necessária (Kebir, Tabbane, Sengupta, & Joobar, 2009; Sergeant, 2005). Mais recentemente o modelo foi actualizado, contendo três níveis de funcionamento interactivo *top-down* e *bottom-up*: 1) o nível superior, relativo ao sistema de controlo executivo associado à monitorização, planeamento, detecção e correcção de erros (associado ao córtex pré-frontal); 2) o nível intermédio, relativo ao conjunto energético do nível de alerta (associada à formação reticular meso-encefálica e amígdala), esforço (associado ao hipocampo) e activação (associado aos núcleos da base e estriado); e 3) o nível inferior, relativo às fases dos mecanismos de atenção, como a codificação, procura, decisão e organização motora (Halperin et al., 2008; Sergeant, 2005). Em termos fisiológicos, na PHDA podem ocorrer alterações devido a um défice energético cortical causado pela hipofuncionalidade mediada pelas catecolaminas do metabolismo de glucose e glicogénio no astrócito (Todd & Botteron, 2001). Pode ocorrer uma diminuição da produção de Adenosina Trifosfato (ATP, do inglês, *Adenosine Triphosphate*) e um fornecimento inadequado de lactato, derivado do funcionamento deficiente dos astrócitos. A incapacidade dos astrócitos em fornecer correctamente lactato aos neurónios de disparo rápido resulta numa deficiência localizada e transitória na produção de ATP, debilidade na restauração dos gradientes iónicos ao longo das membranas neuronais e diminuição dos disparos neuronais. A longo prazo, o fornecimento insuficiente de lactato para a função dos oligodendrócitos leva a uma deficiência da síntese de ácidos gordos e ao atraso ou redução da mielinização dos axónios, que por sua vez, leva a uma transmissão menos eficiente e a maiores tempos de reacção. Esta incapacidade resulta num desempenho inconsistente nas tarefas cognitivas mais exigentes,

no processamento complexo de informação e nas respostas rápidas continuadas mentais e motoras (Killeen, Russell, & Sergeant, 2013; V. A. Russell et al., 2006).

Teoria da imaturidade cortical ou atraso do desenvolvimento cortical

Esta teoria justifica que o aumento das ondas lentas e a diminuição das ondas rápidas observadas na PHDA reflecte o atraso ou falta de maturação cortical. Assenta no pressuposto de que as frequências encefálicas alteram com a idade, com diminuição das ondas delta e teta e aumento alfa e beta, estando provavelmente associadas à diminuição da matéria cinzenta e ao aumento da matéria branca (A. R. Clarke, Barry, McCarthy, & Selikowitz, 2001; Rudo-Hutt, 2015; Whitford et al., 2007).

Modelos dos traços da personalidade

Conjunto de modelos que pressupõem que os traços de personalidade podem ser associados à PHDA: o Modelo biopsicossocial de Cloninger (procura de novidade, evitamento do dano, dependência de recompensa, persistência, auto-direcção, cooperação e auto-transcendência) (Cloninger, 1987; Cloninger, Svrakic, & Przybeck, 1993; Gomez & Corr, 2014; Luby, Svrakic, McCallum, Przybeck, & Cloninger, 1999); o Modelo dos cinco traços da personalidade (extraversão, neuroticismo, agradabilidade, consciencialização e disponibilidade para a novidade) (P. T. Costa & McCrae, 1992; Goldberg, 1993; Gomez & Corr, 2014; McCrae, 1991); Modelo multidimensional da personalidade (emocionalidade positiva, emocionalidade negativa e constrangimento) (Gomez & Corr, 2014; Shiner, Masten, & Tellegen, 2002); e o modelo estipulado pela avaliação da personalidade estruturada por Eysenck (extraversão, neuroticismo e psicoticismo) (Eysenck & Eysenck, 1969; Gomez & Corr, 2014) e a avaliação por Gray (Sistema de Abordagem Comportamental e Sistema de Inibição Comportamental) (Gomez & Corr, 2014; J A Gray, 1978; Jeffrey A Gray & McNaughton, 1982; Quay, 1997). Foram propostos quatro processos que explicam a relação entre a personalidade e a psicopatologia: 1) espectro, em que a normalidade distribui-se num contínuo de forma que a patologia é primariamente uma manifestação clínica da personalidade com factores etiológicos partilhados; 2) vulnerabilidade, em que existe uma predisposição da personalidade para determinadas patologias; 3) patoplastia, em que o temperamento altera o desenvolvimento patológico; e 4) sequela, em que a psicopatologia influencia a personalidade (Gomez & Corr, 2014; Tackett, 2006). Os traços da personalidade relacionados com baixo controlo de esforço, consciencialização e resiliência reflectem processos de controlo *top-down* (relacionados com as características de desatenção), enquanto traços relacionados com controlo de reacção, emocionalidade negativa, neuroticismo, extraversão e baixa agradabilidade reflectem processos de controlo *bottom-up* (relacionados com as características de hiperactividade e impulsividade) (De Pauw & Mervielde, 2011; Gomez & Corr, 2014; Martel, Goth-Owens, et al., 2010; Martel, von Eye, et al., 2010). A análise quantitativa agrupada dos vários modelos da

personalidade, com adaptação dos modelos mais antigos ao Modelo dos cinco traços da personalidade, apresenta uma associação positiva entre a PHDA e a emocionalidade negativa e uma associação negativa na inibição consciente e agradabilidade, ambas com diferentes magnitudes entre as características de desatenção, hiperactividade e impulsividade (Gomez & Corr, 2014).

Açúcar e níveis glicémicos

Foi considerado que a relação entre o açúcar e a hiperactividade assenta em duas perspectivas. A primeira é relativa à possível reacção alérgica ao açúcar refinado e associada à Síndrome Tensão-Fadiga. A segunda sugere que algumas crianças poderão apresentar hipoglicemia reactiva funcional similar à dos adultos (Boris & Mandel, 1994; Egger, Graham, Carter, Gumley, & Soothill, 1985; Gross, 1984; Kaplan, McNicol, Conte, & Moghadam, 1989; Langseth & Dowd, 1978; Speer, 1958; R. J. Williams & Kalita, 2016; Wolraich, 1995).

Hipótese da Monoamina Oxidase

Hipótese que considera o envolvimento etiológico da monoamina oxidase na PHDA. Estas são enzimas que catalisam a oxidação das monoaminas encontradas nas mitocôndrias celulares e são responsáveis pela desactivação de monoaminas como a noradrenalina e dopamina. Existem dois tipos nos seres humanos, tipo A e B, estando ambas encontradas nos neurónios, astróglia e no exterior do SNC. O tipo A é encontrado no tracto gastrointestinal, fígado e placenta sendo importante no catabolismo das monoaminas da comida que é ingerida. O tipo B é principalmente encontrado nas plaquetas sanguíneas. Quando estas enzimas catalisam as monoaminas, o oxigénio remove o grupo *amino* e forma aldeído e amoníaco. Esta teoria considera que as monoaminas oxidase tipo A e B se encontram mais activas na PHDA, levando a uma diminuição do armazenamento vesicular e à libertação por exocitose de dopamina e serotonina (Gold, Blum, Oscar-Berman, & Braverman, 2014; Killeen et al., 2012; Steven R Pliszka, 2005). Este envolvimento da monoamina oxidase na PHDA é suportado por vários aspectos: 1) o cromossoma X é um dos genes que a codifica (Z. Y. Chen, Powell, Hsu, Breakefield, & Craig, 1992; Kochersperger, Parker, Siciliano, Darlington, & Denney, 1986; E. R. Levy et al., 1989; Steven R Pliszka, 2005), o que pode justificar a protecção feminina à PHDA (Rommelse, Altink, Arias-Vasquez, et al., 2008); 2) o polimorfismo genético do tipo A é associado a comportamento hiperactivo e impulsivo no sexo masculino (L. Liu et al., 2011) e sistema de recompensa e inibição (Nymberg et al., 2013); 3) é observada uma associação genética significativa entre a PHDA e o alelo da monoamina oxidase tipo A (Domschke et al., 2005; Rommelse, Altink, Arias-Vasquez, et al., 2008); 4) sendo a monoamina oxidase competitivamente inibida por anfetaminas, explica o resultado positivo no tratamento da PHDA de anfetaminas, como o metilfenidato (Guimaraes et al., 2009; Killeen et al., 2012), e de inibidores do seu funcionamento (Killeen et al., 2012; Rubinstein, Malone, Roberts, & Logan, 2006); e 5) esta eficácia dos seus inibidores (maioritariamente do tipo B) suporta o envolvimento do tipo B, uma vez que o seu principal repositório é nas células da glia (Killeen

et al., 2012; Perdan, Lipnik - Štangelj, & Kržan, 2009). Especificamente, a selegilina inibe a captação de dopamina e noradrenalina no nervo pré-sináptico e aumenta o ciclo celular de dopamina (Bainbridge, Page, & Ruscin, 2008; Killeen et al., 2012) o que aumenta o nível de beta-feniltilamina, que possivelmente funciona como uma anfetamina endógena (Bortolato, Chen, & Shih, 2008; Killeen et al., 2012).

Teoria do caçador-agricultor

Teoria com fundamento evolutivo do comportamento adaptativo humano. Primeiramente abordada pelo autor Thom Hartmann, considera que os traços comportamentais da PHDA são resultado de uma resposta adaptativa do papel passado de caçadores (Adriani, Zoratto, & Laviola, 2012). Os traços de hipervigilância, resposta impulsiva imediata, procura de novidade e grande actividade motora conferiram vantagem de sobrevivência e sucesso reprodutivo durante milhões de anos de evolução (Adriani et al., 2012; Grossman, Hoffman, Berger, & Zivotofsky, 2015; P. S. Jensen et al., 1997). Estes mesmos fenótipos comportamentais tornaram-se mal-adaptativos após o desenvolvimento da agricultura e até à actualidade, que provocou uma mudança social para um estilo sedentário. Esta mudança resultou na alteração dos requisitos comportamentais, agora mais direccionados para a resolução de problemas, dependente de menor actividade motora e com atenção não impulsiva focada num estímulo único (P. S. Jensen et al., 1997). O envolvimento dos genes codificadores dopaminérgicos na PHDA, envolvidos na impulsividade, recompensa antecipatória e no comportamento adictivo, convergem com a evidência evolutiva genética que considera que o gene DRD4 é relativamente recente, cerca de 40 000 anos, e que sofreu uma selecção natural positiva durante a Era Paleolítica (Adriani et al., 2012; Ding et al., 2002). Dessa forma, a PHDA deve ser vista como um anacronismo do comportamento humano (Arcos-Burgos & Acosta, 2007).

Conclusão do subcapítulo das Teorias e Modelos

Como exposto neste subcapítulo, existe uma grande variabilidade das teorias científicas explicativas da PHDA. Algumas poderão mesmo ser contraditórias, mas todas estão, ou foram, fundamentadas em evidência actualizada no momento da sua criação. Actualmente, são especialmente tidos em consideração os modelos genéticos, neuroanatômicos e comportamentais de base neuroanatômica. Destacam-se as alterações do sistema de dopamina, das redes fronto-estriadas, o padrão de hipocativação frontal, as dificuldades de controlo inibitório e de memória de trabalho.

A ausência de biomarcadores e de respostas genéticas claras, juntamente com as fronteiras ténues entre as doenças mentais, posicionam o conhecimento relativo à PHDA numa fase em que existe a necessidade de construir explicações etiológicas que sejam principalmente assentes nos fundamentos dopaminérgicos e neuroanatômicos, mas que também apresentem uma coerência transversal com os restantes modelos.



2.4 Competências

Na PHDA existe a possibilidade de um comprometimento em qualquer tipo de competências.

Coerentemente com as primeiras implicações das redes fronto-estriadas e da sintomatologia de desatenção e impulsividade, as funções executivas foram primariamente implicadas na PHDA (Oosterlaan et al., 1998) e mantêm-se como parte das suas características nosológicas (American Psychiatric Association, 2013).

Apesar da evidência das redes neurológicas e da sua relação com a PHDA (Aron & Poldrack, 2005; Boonstra et al., 2005; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Noreika, Falter, & Rubia, 2013; K Rubia et al., 2009; Katya Rubia, 2011; E G Willcutt, Doyle, Nigg, Faraone, & Pennington, 2005), a relação com os resultados neurocognitivos e genéticos não são ainda conclusivos, tanto nos genes codificadores dopaminérgicos (Rommelse, Altink, Arias-Vásquez, et al., 2008) como nos principais sistemas de neurotransmissores (Kebir et al., 2009). O desenvolvimento da evidência neuroanatômica e dos circuitos neuronais, apesar de inconclusivo na sua relação com as funções executivas, tem complementando a perspectiva da PHDA como uma condição complexa, com possível envolvimento das restantes competências.



2.4.1 Competências cognitivas e funções executivas

As funções executivas são as competências claramente mais estudadas na PHDA; as alterações nucleares podem ser na atenção e no controlo inibitório.

O controlo cognitivo traduz-se na capacidade de flexibilizar e ajustar o próprio comportamento em relação às exigências ambientais. Numa perspetiva neurobiológica, parece estar associado aos circuitos fronto-estriados dorsais, envolvendo as áreas pré-frontais, o estriado e o tálamo. As alterações frontais, que maturam no final da adolescência, e de controlo cognitivo estão presentes em crianças e adultos com PHDA. Uma vez que os conceitos do controlo cognitivo e das funções executivas estão indiferenciadamente interligados (M. Van Lieshout, Luman, Buitelaar, Rommelse, & Oosterlaan, 2013), foram conjuntamente adoptados nesta tese.

Na relação da PHDA com as funções executivas foram inicialmente identificadas alterações na inibição de resposta, vigilância, memória de trabalho e planeamento, no entanto, conjuntamente não conclusivas (Frazier, Demaree, & Youngstrom, 2004; E G Willcutt et al.,



2005) pela sua transversalidade a várias condições (Noordermeer, Luman, & Oosterlaan, 2016). Estes resultados foram identificados em adultos, sendo igualmente inconclusivos quando enquadrados (Boonstra et al., 2005; Hervey, Epstein, & Curry, 2004). Foram, no entanto, conclusivos na consideração de que as alterações se estendem para além das funções executivas (Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004; Hervey et al., 2004; E G Willcutt et al., 2005).

Actualmente, a implicação das funções executivas foi colocada novamente em discussão, pelos processos incluídos e pelo envolvimento de outras redes que, possivelmente, também estarão alteradas na PHDA (Duff & Sulla, 2015). As definições destas funções variam relativamente aos seus papéis de orientação comportamental, de resolução mantida perante um objectivo, de auto-preservação e de cognição orientada para um objectivo. De uma forma geral, podem ser conceptualizadas como os processos cognitivos que permitem a organização complexa mental de modo a formar julgamentos, decisões e iniciar um comportamento com propósito. A discussão permanece se são representadas por uma única função que está na base das restantes ou se são funções com processos separados. Por exemplo, componentes individuais de inibição, memória de trabalho e mudança de tarefa, conjuntamente, controlam os mecanismos de cognição simples e modulam o comportamento complexo (Duff & Sulla, 2015). Das várias divisões que têm sido propostas, salientam-se as duas seguintes:

- funções de *maior nível*, dependentes do esforço consciente frontal e que incluem a inibição, memória de trabalho, controlo de interferência, mudança de tarefa e planeamento (Duff & Sulla, 2015; M. Van Lieshout et al., 2013) e funções de *menor nível*, neurocognitivas automáticas e menos conscientes, como a atenção, inteligência e processamento de recompensa, temporal e visual (M. Van Lieshout et al., 2013).

- funções executivas *quentes*, que consistem em funções e tomadas de decisão dependentes de motivação e recompensa, e funções executivas *frias*, que consistem, principalmente, de competências de resolução de problemas abstractos (Duff & Sulla, 2015; Katya Rubia, 2011). As funções executivas *quentes* são mediadas pelas estruturas paralímbicas e órbito-mediais e fronto-límbicas ventro-mediais, enquanto as funções executivas *frias* são mediadas pelas redes fronto-parietal e fronto-estriadas inferior e dorso-lateral. Ambas as divisões estarão possivelmente alteradas na PHDA (Katya Rubia, 2011).

Uma vez que nem todas as crianças com PHDA demonstram alterações nas funções executivas, têm sido levantadas dúvidas sobre o seu envolvimento no diagnóstico diferencial (Duff & Sulla, 2015). Concomitantemente, foi igualmente observada uma relação destas funções com as comorbilidades já mencionadas (Kingdon, Cardoso, & Mcgrath, 2015; Meinzer et al., 2014; Oosterlaan et al., 1998; Sebastian et al., 2014; Seymour et al., 2015; Ryan J. Van Lieshout, 2013; Walshaw et al., 2010). Apesar destas variações, a investigação nas funções executivas e a sua consequente inter-relação têm sido o principal foco do estudo da PHDA.



2.4.1.1 Controlo inibitório – inibição de resposta

O Modelo da corrida independente tem sido o mais utilizado para demonstrar que os processos inibitórios na PHDA podem ser mais lentificados.

A inibição de resposta pode ser interpretada como a capacidade de inibir ou suprimir uma resposta dominante em curso durante uma tarefa abstracta em ambientes não relacionados com recompensa (Aguiar et al., 2010; Pauli-Pott & Becker, 2015; M. Van Lieshout et al., 2013). Pode ser avaliada, por exemplo, através de erros de comissão, ou denominados erros de falso alarme, nas provas do *Continuous Performance Test* e dos tempos de reacção nas tarefas *Go/No-go* e *Stop Signal*. São igualmente utilizados os tempos de resposta, à semelhança do que sucede na avaliação da atenção, no entanto, na inibição de resposta são avaliados através de paradigmas que condicionam a resposta correcta (Aguiar et al., 2010; M. Van Lieshout et al., 2013). Dessa forma, as alterações de atenção são traduzidas numa média superior dos tempos de resposta (do inglês, *Mean Reaction Time*) às tarefas que exigem uma resposta e acção (por vezes referenciados em inglês como eventos *GO*), enquanto as alterações de controlo inibitório serão caracterizadas pelo maior tempo de reacção aos sinais de paragem (*SSRT*, do inglês, *Stop Signal Reaction Time*) que obrigam à inibição da resposta *GO* primária (Lijffijt et al., 2005). O *SSRT* é a medida principal utilizada na interpretação da inibição de resposta. Uma vez que o *SSRT* não é uma medida de leitura directa, a sua utilização carece de enquadramento. A sua forma de cálculo implica a conceptualização de como a inibição de resposta ocorre que, por sua vez, dita a forma de cálculo. Somente após este cálculo é possível a comparação entre a PHDA e um grupo representativo da normalidade.

O sistema cognitivo apresenta vários mecanismos de controlo do pensamento e da acção, mediante os objectivos. As teorias associadas ao controlo inibitório, normalmente, são referentes a cada acto de forma isolada. O acto de controlo inibitório de resposta está maioritariamente relacionado com o paradigma *Stop-Signal*, que requer uma inibição deliberada de um acto voluntário. Os participantes são envolvidos numa tarefa, normalmente visual, que exige uma resposta rápida. Em cerca de 25% das vezes ocorre um sinal de paragem, maioritariamente sonoro, que obriga a que a acção primária seja inibida. A principal variável controlada neste paradigma é o atraso entre o sinal de acção e o sinal de inibição para a paragem da acção. No momento de um sinal de inibição o indivíduo inibe ou falha a inibição da sua acção. Assim, a probabilidade de ocorrer a inibição está dependente do atraso do sinal de paragem e do tempo de reacção. Esta relação considera que o controlo da resposta inibitória apresenta uma latência específica em que o tempo de reacção para a acção é mais rápido que o processo subjacente de controlo (G. D. Logan, 1994; Gordon D. Logan & Cowan, 1984; Gordon D Logan et al., 2014; Verbruggen & Logan, 2008).

O modelo geral da conceptualização da inibição de resposta é o "modelo de corrida" (Gordon D. Logan & Cowan, 1984; Gordon D Logan et al., 2014), que descreve o desempenho nas



tarefas como uma corrida entre o processo de acção e o processo de paragem. A escolha no processo de acção é um mecanismo de corrida entre as acções alternativas. Variações conceptuais e matemáticas têm sido criadas em torno deste modelo central de forma a acomodar diferentes ponderações das variáveis possíveis. No entanto, o principal modelo que tem imperado nos últimos 25 anos tem sido o Modelo da corrida independente (Gordon D. Logan & Cowan, 1984; Gordon D Logan et al., 2014).

O Modelo da corrida independente propôs que o processo de paragem é iniciado pelo sinal de paragem e corre paralelamente contra o processo de acção, que por sua vez foi iniciado pelo sinal de acção. O resultado é determinado pelo processo que vence a corrida. Os tempos de término dos processos de acção e paragem são considerados variáveis independentes. A principal contribuição deste modelo foi a possibilidade do cálculo do SSRT, uma vez que não é mensurável directamente. O método de cálculo médio (do inglês, *mean method*) envolve analisar o tempo em que ocorre igual probabilidade de acção e paragem sendo que, nesse momento, a média do tempo de reacção é igual à soma do atraso do sinal de paragem com o SSRT:

$$\text{Média do tempo de reacção GO} = \text{média do atraso do tempo de paragem} + \text{SSRT}.$$

O método de cálculo por integração (do inglês, *integration method*) é um método mais geral que pode ser usado com qualquer tempo de atraso porque assume que o SSRT é constante. Qualquer tempo de reacção que termine antes da soma do tempo de atraso com o SSRT é executado. Qualquer tempo que termine depois será inibido. Assim, a probabilidade de responder a um sinal de paragem é igualmente proporcional à distribuição do tempo de reacção que é mais rápido que a soma do tempo de atraso com o SSRT:

$$P_r(t_d) = \int_0^{SSRT+t_d} f_{go}(t) dt.$$

Este modelo assume dois tipos de independência: estocástica, significando que os tempos dos dois processos são independentes, e contextual, significando que a distribuição dos tempos finais do processo de acção são os mesmos, estando presente, ou não, o sinal de paragem. Não contempla assim a independência funcional dos dois processos, em que os factores que afectam um processo, não afectam o outro (Gordon D. Logan & Cowan, 1984; Gordon D Logan et al., 2014).

Os resultados de inibição de resposta têm sido relativamente coerentes entre si, com as primeiras alterações identificadas na PHDA a serem repetidamente observadas (Alderson et al., 2007; Aron & Poldrack, 2005; Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004; Hervey et al., 2004; Lijffijt et al., 2005; Oosterlaan et al., 1998). Aos resultados mais recentes, foram acrescentados os fundamentos neurobiológicos das redes de inibição *quentes*, por supressão de uma resposta motivacional, e *frias*, por supressão de uma resposta aprendida, ambas partilhando

o mesmo método de supressão e significativamente alteradas na PHDA (Pauli-Pott & Becker, 2011, 2015).



2.4.1.2 Controlo inibitório – controlo de interferência

A interpretação dos resultados de controlo de interferência, como parte do controlo inibitório, não apresenta resultados tão expressivos.

O controlo de interferência é por vezes incluído dentro da flexibilidade cognitiva e da atenção selectiva ou até mesmo denominado como a capacidade de alternar entre várias tarefas mentais (Aguiar et al., 2010; Pauli-Pott & Becker, 2011; M. Van Lieshout et al., 2013; E G Willcutt et al., 2005). É outra medida de controlo cognitivo, correspondendo à capacidade em suprimir um estímulo distractor ou uma resposta alternativa que possa atrasar uma resposta primária (Aguiar et al., 2010; M. Van Lieshout et al., 2013). Pode ser avaliado, por exemplo, através do paradigma *Stroop*, como o *Stroop Colour Word Test*, em que deve ser identificada a cor de uma palavra apresentada que tem significado semântico diferente da cor em que está escrita (Aguiar et al., 2010; M. Van Lieshout et al., 2013). Na interpretação dos resultados do *Stroop* na PHDA são observadas alterações ligeiras (Lansbergen et al., 2007; E G Willcutt et al., 2005) a moderadas (Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004; Homack & Riccio, 2004; Pauli-Pott & Becker, 2011; van Mourik et al., 2005), não sendo observado um padrão de melhoria com o avançar da idade (Schwartz & Verhaeghen, 2008).



2.4.1.3 Memória de trabalho

São observadas alterações na memória de trabalho, podendo ser devidas a alterações na fase de codificação da atenção.

A memória de trabalho refere-se à capacidade de armazenar e manipular temporariamente a informação necessária para atingir um objectivo (M. Van Lieshout et al., 2013). Na PHDA, têm sido consistentes as alterações observadas na memória de trabalho, incluindo implicações na modalidade, verbal ou visuo-espacial, e do processamento necessário, armazenamento ou armazenamento com manipulação) (Kasper, Alderson, & Hudec, 2012; Martinussen, Hayden, Hogg-Johnson, & Tannock, 2005). Foi observado um padrão de persistência ao longo da idade, sendo estas dificuldades mantidas na vida adulta (Alderson, Kasper, Hudec, & Patros, 2013; Skodzik, Holling, & Pedersen, 2013). É possível que estas dificuldades sejam principalmente devidas a alterações na fase da codificação e não tanto nas dificuldades de armazenamento ou recuperação, existindo menores dificuldades na memória visual (Skodzik et al., 2013).



2.4.1.4 Planeamento e fluência

A PHDA apresenta alterações de planeamento e fluência.

A capacidade de planeamento traduz-se na sequenciação, controlo do comportamento e prevenção de situações imprevistas de forma a atingir um objectivo específico (Aguiar et al., 2010; M. Van Lieshout et al., 2013). A fluência refere-se à capacidade de rapidamente gerar respostas e soluções para um determinado problema, sendo a sua avaliação principalmente na forma de respostas verbais (Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004; Homack & Riccio, 2004; M. Van Lieshout et al., 2013). À semelhanças das restantes funções executivas, têm sido recorrentemente identificadas alterações nestas duas funções na PHDA (Aguiar et al., 2010; Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004; Homack & Riccio, 2004; Pauli-Pott & Becker, 2011; M. Van Lieshout et al., 2013; E G Willcutt et al., 2005).



2.4.1.5 Desempenho intelectual

O desempenho nas provas de avaliação cognitiva e intelectual é muito dependente das funções da atenção, que estão alteradas na PHDA.

O funcionamento intelectual envolve tanto funções neurocognitivas de *maior* como de *menor* nível. Pelas alterações simultâneas nas medidas neuropsicológicas, foi ponderada a relação entre as funções executivas e as competências cognitivas e de desempenho intelectual (Boonstra et al., 2005; Frazier et al., 2004). O conceito de inteligência, para além da possível relação com a espessura cortical, não tem um padrão de rede neural que possa ser identificado, devido a ser um conceito heterogéneo e dependente do funcionamento de várias funções cognitivas, algumas sendo parte das funções executivas (M. Van Lieshout et al., 2013). Apesar destes limites conceptuais poderem ser muito ténues, não foi observada diferença significativa na PHDA (Bridgett & Walker, 2006). Apesar da sugestão de existirem implicações ligeiras de menor desempenho nas provas intelectuais (Bálint et al., 2009; Jepsen, Fagerlund, & Mortensen, 2009), estes resultados não são suportados pela evidência nos principais genes codificadores dopaminérgicos (Rommelse, Altink, Arias-Vásquez, et al., 2008), nem nas principais redes neuronais (McCarthy et al., 2014). Assim, estas ligeiras diferenças podem ser consequência da própria desatenção, dada a metodologia aplicada na avaliação intelectual (Jepsen et al., 2009).



2.4.1.6 Atenção, nível de alerta e de vigilância

As dificuldades de atenção na PHDA são constantes com a idade.

Nas funções de *menor* nível surgem as funções da atenção. Vários têm sido os métodos de avaliação propostos devido às limitações metodológicas e pela difícil dissociação com outras funções. Dentro destas funções temos o nível de alerta, que pode ser definido como a capacidade de alcançar e manter um estado de alta sensibilidade em antecipação a um estímulo, sendo necessário para a uma reacção sem atraso (M. Van Lieshout et al., 2013). O

nível de alerta pode ser medido como o tempo de reacção até ser efectuada uma resposta ao estímulo fornecido, enquanto o nível de vigilância pode ser avaliado pelos erros de omissão e falhas durante a realização dos testes (Aguiar et al., 2010). Tipicamente, podem ser utilizadas grelhas ou escalas que permitem quantificar o tempo de atenção ou os momentos de falta de atenção, como o *Continuous Performance Test* e *Go/No-go* (Aguiar et al., 2010; M. Van Lieshout et al., 2013), mais frequentemente utilizados na PHDA. Nos seus resultados, em crianças, foram identificadas alterações significativas no nível de alerta e de vigilância (Aguiar et al., 2010; Huang-Pollock, Karalunas, Tam, & Moore, 2012; M. Van Lieshout et al., 2013), com alterações nos tempos de reacção e erros por omissão (Frazier et al., 2004; Kebir et al., 2009; Kofler et al., 2013), com possível relação genética (Kebir et al., 2009) e equitativamente transversais entre os dois sexos (Hasson & Fine, 2012).

As funções da atenção, à semelhança do padrão geral das funções executivas e do percurso nosológico na PHDA, apresentam-se na infância e não apresentam variações significativas ao longo do percurso de vida (Bálint et al., 2009; Kofler et al., 2008; Pauli-Pott & Becker, 2011; M. Van Lieshout et al., 2013), mantendo-se, assim, na vida adulta (Mowinckel et al., 2015).



2.4.1.7 Impulsividade e o processamento temporal e de recompensa

A dimensão temporal poderá estar na base dos processos de recompensa e ultimamente na impulsividade observada na PHDA.

Para além dos circuitos córtico-estriados, ligados às alterações de controlo inibitório, também o circuito de recompensa estará possivelmente implicado na PHDA (Aguiar et al., 2010; Mowinckel et al., 2015; Katya Rubia, 2011; Seymour et al., 2015; M. Van Lieshout et al., 2013). Este circuito é responsável pelo processamento e antecipação da recompensa, tendo influência na sensibilidade ao reforço durante o desempenho de tarefas motivadoras e no processamento de recompensas atrasadas no tempo. Está relacionado com padrões atípicos de activação e conectividade nos circuitos órbita-frontal-estriados (Seymour et al., 2015; M. Van Lieshout et al., 2013).

Apesar do processamento de recompensa na PHDA não apresentar o mesmo nível de evidência que as funções executivas, foi observado um padrão de maior preferência pelas recompensas imediatas, em vez de recompensas atrasadas no tempo, mesmo que sejam superiores (Aguiar et al., 2010; Mowinckel et al., 2015; Patros et al., 2016; Seymour et al., 2015; M. Van Lieshout et al., 2013). Foi observada na menor responsividade na antecipação da recompensa, mas maior responsividade na recepção da recompensa (Seymour et al., 2015). Estas alterações, apesar da maturação das estruturas frontais, mantêm-se em adultos tendo um impacto similar às dificuldades de atenção (Mowinckel et al., 2015).

Este processamento de resposta à recompensa apresenta características temporais. O processamento temporal é um termo amplo que se refere à capacidade de organizar e prever

eventos sequenciais no tempo, demonstrando estabilidade no tipo de resposta. Está relacionado com a percepção e discriminação temporal e com a temporização motora que, apesar de serem conceitos amplos, partilham a dependência dos circuitos fronto-cerebelares (Aguiar et al., 2010; K Rubia et al., 2009; M. Van Lieshout et al., 2013). Este processamento temporal, vinculado ao processamento de recompensa e às suas consequências, foi importante na conceptualização da impulsividade observada na PHDA (Patros et al., 2016; Plichta & Scheres, 2014; K Rubia et al., 2009; M. Van Lieshout et al., 2013), juntamente com as funções do controlo inibitório e da atenção (K Rubia et al., 2009).



2.4.2 Competências de regulação emocional

As dificuldades regulatórias podem ter o mesmo impacto que as funções executivas; parte das dificuldades de regulação emocional na PHDA são coerentes com a sua dependência das funções executivas.

A regulação emocional pode ser definida como a capacidade individual em modificar o estado emocional, de forma a promover comportamentos adaptativos (Seymour et al., 2015). O seu funcionamento neural e a presença de problemas regulatórios na PHDA têm contribuído para a crescente implicação da regulação emocional como uma das principais características associadas desta perturbação (Graziano & Garcia, 2016; Hemmi, Wolke, & Schneider, 2011). Na PHDA foi observado um padrão de estratégias regulatórias menos eficazes e maiores níveis de frustração (Meinzer et al., 2014), com possível implicação fronto-estriada e interligação com os circuitos executivos (Seymour et al., 2015). O aumento do tempo de resposta após um erro (do inglês, *post-error slowing*), foi igualmente considerado um resultado da dificuldade de auto-regulação (Balogh & Czobor, 2014).

Na única Revisão Sistemática relativa à regulação emocional e a PHDA, foi observado que que têm um impacto negativo similar às funções executivas (Graziano & Garcia, 2016). Esta relação pode estar implicada em várias fases. A fase que apresenta maiores alterações na PHDA está relacionada com a reactividade emocional, ou seja, refere-se ao limiar, intensidade e duração das emoções, podendo justificar os comportamentos observados de impulsividade e de menor tolerância à frustração. A alteração na fase da regulação das emoções também apresenta resultados consistentes na PHDA e implica a modulação da resposta emocional à reactividade anterior. Por fim, pode estar comprometida a fase do reconhecimento e compreensão emocional, ou seja, a capacidade de inferir as próprias emoções e de terceiros, no entanto, a evidência não foi clara sobre o seu compromisso na PHDA (Graziano & Garcia, 2016).



O reconhecimento e a reactividade das emoções apresentam uma maior preponderância *bottom-up*, ou seja, a activação da amígdala provoca respostas emocionais. Por outro lado, a regulação das emoções já se encontra mais dependente do contributo *top-down* das estruturas neocorticais, para o processamento e compreensão do estímulo emocional. Talvez a maior dependência do funcionamento executivo na realização desta fase justifique que tenham sido as alterações mais consistentes observadas na PHDA (Graziano & Garcia, 2016).

O último aspecto do processo de gestão emocional implica o envolvimento numa resposta adaptativa, como a empatia. O subprocesso cognitivo da empatia refere-se à capacidade de compreender o estado cognitivo e afectivo do outro. Por outro lado, o subprocesso afectivo refere-se à capacidade de experienciar o estado afectivo do outro e expressar cuidado. Nesta fase, não foi observada diferença expressiva na PHDA, sendo possível que a maior implicação desta área esteja dependente das competências cognitivas (Graziano & Garcia, 2016).



2.4.3 Competências motoras

As competências motoras de motricidade fina, equilíbrio e coordenação encontram-se possivelmente alteradas na PHDA, partilhando a mesma dependência das redes neurais fronto-estriado-cerebelares.

Uma vez que as tarefas de avaliação das funções executivas por vezes exigem uma resposta motora, têm também sido observadas diferenças nalguns componentes motores, como o tempo de reacção, inibição de resposta, temporização de resposta e sincronização da resposta sensório-motora (Hervey et al., 2004; Kofler et al., 2013; Noreika et al., 2013; Rommelse, Altink, Arias-Vásquez, et al., 2008). Estas diferenças podem ser suportadas pelas alterações nas redes neuronais executivas fronto-estriado-cerebelares (Noreika et al., 2013), no sistema dopaminérgico e corpo estriado, assim como pelo atraso da resposta nas funções motoras (Rommelse, Altink, Arias-Vásquez, et al., 2008).

Existe actualmente fundamento para ser considerado um compromisso específico das competências motoras na PHDA, tendo em conta a possível implicação neuronal da área pré-motora, área suplementar motora e somatomotora, no giro pós-central. No entanto, estes conceitos são também observados relativamente à Perturbação do Desenvolvimento da Coordenação (Goulardins et al., 2015) e à Perturbação de Tourette (J. Evans et al., 2016; B. Ferreira et al., 2014; Tsetsos et al., 2016).

Tendo em conta a característica de hiperactividade, foi observada uma *quantidade* de movimento superior, tanto em crianças como em adultos (García Murillo, Cortese, Anderson, Di Martino, & Castellanos, 2015). Foram também observadas alterações de motricidade fina, equilíbrio e coordenação. No entanto, dada a grande variabilidade das alterações motoras observadas, a conceptualização das suas causas pode ter por base a comorbilidade, as

alterações de atenção ou as alterações de inibição. Independentemente da justificação, as alterações motoras observadas sugerem que a sua avaliação seja realizada nos casos com PHDA (Kaiser, Schoemaker, Albaret, & Geuze, 2015).



2.4.4 Competências sensório-perceptivas

São observadas alterações de processamento sensorial central, nas fases de modulação sensorial e interpretação perceptiva.

As perturbações de processamento sensorial são alterações da resposta ao estímulo sensorial, durante a detecção, modulação ou interpretação do estímulo. A modulação refere-se à intensidade da resposta neuronal a um dado estímulo sensorial, podendo resultar em comportamentos de hiper-resposta ou hipo-resposta. Apesar das alterações de detecção sensorial saírem conceptualmente fora do âmbito da PHDA, no processamento da informação sensorial táctil foi observado um aumento da responsividade, não de causa perceptiva, mas de processamento central somatossensorial. Esta hiper-resposta pode estar associada a maiores níveis de ansiedade, através do funcionamento do eixo HPA (Ahmad Ghanizadeh, 2011).

Foram observadas possíveis alterações no processamento auditivo, no entanto, não foi possível inferir o padrão de alterações (Ahmad Ghanizadeh, 2011). A negatividade da incongruência (do inglês, *Mismatch Negativity*) é um componente pré-atencional avaliado através de um som desviante integrado numa sequência repetitiva de sons. A este som desviante é gerada uma resposta neurofisiológica que não depende de resposta comportamental ou de motivação. Dessa forma, é considerada como um indicativo do processamento central pré-atencional. Recentemente, os resultados durante a realização de EEG demonstraram uma diminuição da resposta na PHDA, comparativamente à normalidade (Cheng, Chan, Hsieh, & Chen, 2016).

Em termos olfactivos, foi observado um menor limiar neurológico (hiper-resposta) e menor capacidade de discriminação e identificação (Ahmad Ghanizadeh, 2011). Esta relação do olfacto com as condições neuropsiquiátricas, onde se pode incluir a PHDA, tem sido extensamente estudada. O ponto de partida deste fundamento é estabelecido pela presença de interneurónios inibitórios com receptores de Ácido γ -Aminobutírico (GABA, do inglês, *Gamma-Aminobutyric Acid*) e dopamina nos bolbos olfactivos. Estes interneurónios são responsáveis por receberem a informação dos receptores, através do nervo olfactivo, e de a transmitirem directamente para o córtex piriforme, núcleo olfactivo anterior, partes da amígdala e córtex entorrinal. Estas estruturas, por sua vez, comunicam com estruturas em que foram identificadas alterações funcionais na PHDA, como o hipocampo, ínsula, núcleos da base,

hipotálamo e córtices órbito-frontal e cingulado. No entanto, actualmente, não existe sustentabilidade de evidência para a sua relação (Schecklmann et al., 2013).

Podem também ser possíveis as alterações de integração da informação sensorial visual na PHDA. O processamento visual é realizado entre as ligações occipito-temporais do fluxo ventral, activadas na detecção de *o que é* o objecto, e as ligações occipito-parietais do fluxo dorsal, activadas na localização de *onde está* o objecto (M. Van Lieshout et al., 2013). Através da avaliação das funções executivas numa prova de interferência *Colour-Word*, foi observado que os indivíduos com PHDA tendem a ter mais erros em estímulos apresentados do lado esquerdo (Braun, Delisle, Suffren, & Bolduc, 2013). O nível de atenção ou de alerta, relativamente à informação visual, pode apresentar uma assimetria atípica com maior negligência esquerda, o que pode estar relacionado com a tendência de maiores alterações funcionais e estruturais no hemisfério direito, coerente com o subcapítulo 2.3.2. No entanto, as alterações sensoriais observadas na PHDA, são suportadas por evidência recente, sendo uma das principais áreas a explorar pela sua coerência com as áreas neurológicas.



2.4.5 Competências sociais

As alterações nas competências sociais podem ser consequência das alterações nas restantes competências e da negatividade ambiental associada ao desempenho da PHDA.

O estudo das competências sociais na PHDA é uma das áreas menos aprofundadas, por sair do âmbito central da sua sintomatologia e por poder ser justificado pelas restantes competências. A combinação dos sintomas centrais de hiperactividade, impulsividade e desatenção influenciam as aquisições sociais (Nijmeijer et al., 2008). Até à data, a evidência desta relação tende para o impacto dos sintomas centrais em medidas como a qualidade de vida, função social e auto-estima. Embora esta tendência descarte o foco da investigação da especificidade social, é um sinal positivo do alargamento do paradigma entre a patologia e os sintomas para uma inclusão das alterações de funcionalidade.

As crianças com PHDA tendem a ser mais intrusivas e a iniciarem a interacção com mais frequência, no entanto, apresentam dificuldade em ajustar o seu comportamento ao outro. As dificuldades sociais surgem associadas a: 1) características negativas, por exemplo a agressividade, impulsividade comportamental e verbal, incumprimento de regras e comportamento controlador; 2) excesso de actividade e comportamento intrusivo desadequado aos contextos, por exemplo, gritar, correr, falar e interromper os jogos frequentemente; e 3) desatenção, por exemplo, não ouvir o que é dito e ficar distraído nas brincadeiras (Nijmeijer et al., 2008). As alterações nas funções executivas, regulação emocional, pragmática e na Teoria da Mente foram recentemente envolvidas na justificação das alterações sociais observadas na PHDA, no entanto, os dados apontam para um

envolvimento conjunto e não isolado (Rosello-Miranda, Berenguer-Forner, Baixauli-Fortea, & Miranda-Casas, 2016).

As consequências associadas a estes comportamentos traduzem-se em rejeição, pouca popularidade pelos pares e poucos amigos (Nijmeijer et al., 2008). Os casos com PHDA apresentam menor funcionalidade social e auto-estima, com um impacto negativo ao longo da vida nas relações e envolvimento em actividades de lazer e sociais (Nijmeijer et al., 2008), no entanto, demonstram um adequado auto-reconhecimento das suas próprias competências (Mezulis, Abramson, Hyde, & Hankin, 2004).

Não parece ser suportada a consideração de que as competências sociais e a auto-estima podem melhorar ao longo da vida devido ao aumento da maturidade (Harpin, Mazzone, Raynaud, Kahle, & Hodgkins, 2013). Este efeito negativo foi observado ao longo da vida adulta, possivelmente justificado pela ligação entre a auto-estima e as competências sociais, com a conotação negativa da perturbação e o constante insucesso às exigências ambientais (Cook, Knight, Hume, & Qureshi, 2014).



2.5 Intervenção

A intervenção na PHDA deve assentar numa intervenção multidisciplinar, com a avaliação de todos os contextos e com uma intervenção combinada.

A prática baseada na evidência, cujas origens filosóficas remontam ao século XIX, assenta em factos. Coerentemente com a estrutura científica na nossa sociedade actual, os princípios derivados da sua prática apresentam um peso significativo na construção do conhecimento, sendo que as questões respondidas experimentalmente imperam sobre outras formas de conhecimento (Basso, Izzo, & Giuliani, 2015; Foster & Shurtz, 2013; Ioannidis, 2016a; Sackett, 1997). Uma vez que o âmbito desta tese se centra na compreensão etiológica da PHDA, este subcapítulo da intervenção procura, acima de tudo, expor as intervenções com maior evidência científica.

A construção do melhor nível de evidência para a intervenção tem sido progressivamente construída. A complexidade da PHDA, cedo demonstrada (Rostain, 1991), tem estado assente na necessidade da separação das comorbilidades associadas (Weinberg, Emslie, & Warren, 1991), o que resultou numa baixa validade das revisões iniciais sobre o melhor tipo de intervenção (A. R. B. Jadad, 1999). De uma forma geral, a evidência da intervenção farmacológica tem sido mais frequente e superior, comparativamente às não-farmacológicas (Seixas, Weiss, & Müller, 2012). Por exemplo, em 2008 e 2011, nos casos de agressividade na PHDA a primeira linha de intervenção é a farmacológica, sendo a alternativa comportamental apenas uma hipótese (List & Barzman, 2011; Rostain, 2008).

Nesta tese já foram referidas as fragilidades da evidência nos casos adultos com PHDA, desde a conceptualização etiológica à fundamentação e construção empírica. Naturalmente estes factores são extensíveis ao conhecimento da intervenção, tendo já sido identificadas estas mesmas fragilidades (Gaynes et al., 2012; Goodman et al., 2016). Nesta área, mantêm-se actualmente as falhas empíricas, previamente identificadas, em idades fora da média dos seis anos, na variedade dos instrumentos de avaliação e nas intervenções dificilmente comparáveis (Gaynes et al., 2012; Woods et al., 2014).

Em 2012, são identificadas 13 principais directrizes para a prática na PHDA, representando as recomendações de 10 diferentes associações médicas: as americanas *American Academy of Pediatrics* e *American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*; a neozelandesa *New Zealand Ministry of Health*; as alemãs *Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde* e *Deutsche Gesellschaft für Kinder und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie*; a europeia *European Society for Child and Adolescent Psychiatry*; as britânicas *British Association of Psychopharmacology* e *Institute for Health and Clinical*

Excellence; a escocesa *Scottish Intercollegiate Guideline Network*; e a canadiana *Canadian Attention Deficit Disorder Resource Alliance* (Seixas et al., 2012). Apesar de algumas divergências, são uniformemente identificados os pontos-chave expostos na Tabela 2-6.

Tabela 2-6. Pontos-chave da intervenção na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção com base na prática baseada na evidência

Pontos-chave
Entrevista clínica como principal método de diagnóstico;
Importância do diagnóstico diferencial relativamente à comorbilidade;
Intervenção farmacológica principalmente com estimulantes (outras intervenções com possível eficácia);
Intervenção não-farmacológica principalmente comportamental e escolar;
Intervenção combinada farmacológica e não-farmacológica possivelmente mais eficaz;
Importância da avaliação em equipa.

(Austerman, 2015; Buttross, 2000; Pham & Riviere, 2015; Seixas et al., 2012; Taylor, 1999).

Nos subcapítulos seguintes são explorados mais aprofundadamente as diversas intervenções recomendadas.



2.5.1 Intervenção farmacológica

Existem várias opções farmacológicas, no entanto, mesmo a mais estudada apresenta fragilidades na conclusão sobre a sua eficácia.

A intervenção farmacológica é aquela que, claramente, apresenta maior quantidade de evidência criada. No entanto, esta quantidade nem sempre se traduz numa evidência clara e indiscutível. Com efeito, existem várias opções possíveis no tratamento farmacológico (Tabela 2-7 e Tabela 2-9), com vários princípios de actuação e cujas vantagens económicas, comparativamente às não-farmacológicas ou à ausência de intervenção, estão identificadas (Ferran Catalá-López et al., 2013; E. Q. Wu et al., 2012). Este leque de opções realça a complexidade e a globalidade do comprometimento neurológico na PHDA, assim como da interpretação do mecanismo de acção e sintomas secundários (Savill & Bushe, 2012).

A primeira linha de medicação considerada na PHDA inclui os estimulantes, como o metilfenidato e as anfetaminas. A medicação não-estimulante é considerada uma alternativa, com um efeito menos robusto, incluindo a atomoxetina e os agonistas dos adrenoreceptores α -2 (guanfacina e clonidina). Os antidepressivos tricíclicos e bupropiom são também utilizados, principalmente se os agentes anteriores não tiverem resultado (Sharma & Couture, 2014).

Tabela 2-7. Substâncias activas nas intervenções farmacológicas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Estimulantes	Metilfenidato	Possivelmente bloqueia a recaptação de noradrenalina e de dopamina para o neurónio pré-sináptico e aumenta a libertação destas monoaminas no espaço extraneuronal.
	Dextroanfetamina, Lisdexanfetamina, mistura	Possivelmente promove a libertação de dopamina e noradrenalina dos neurónios pré-sinápticos e inibe ou inverte os transportadores proteicos dos neurotransmissores serotonina, noradrenalina e dopamina.
	Pemolina	Possivelmente passa a barreira hemato-encefálica e imita a dopamina.
Não estimulantes	Atomoxetina	Possivelmente funciona como inibidor da recaptação de noradrenalina pelo transportador pré-sináptico, com efeitos secundários no sistema dopaminérgico.
	Modafinil	Possivelmente activa os neurónios associados aos péptidos que promovem o estado de alerta e suprimem o sono.
	Clonidina	Atravessa a barreira hemato-encefálica e actua no hipotálamo como agonista α -2 adrenoreceptor e estimula os receptores centrais de forma a reduzir o débito simpático.
	Guanfacina	Actua como activador dos adrenoreceptores α -2 no córtex pré-frontal.
	Bupropiom	Inibidor selectivo da recaptação neuronal das catecolaminas noradrenalina e dopamina.

(Chan, Fogler, & Hammerness, 2016; Mészáros et al., 2009; Seixas et al., 2012; Sharma & Couture, 2014).

A medicação estimulante inibe e interage com os transportadores DAT1 e noradrenérgico (NET, do inglês, *Norepinephrine Transporter*), inibindo a recaptação de dopamina e noradrenalina. No entanto, as anfetaminas também têm acesso no terminal pré-sináptico, através do DAT1 e NET, libertando os neurotransmissores armazenados. Os estimulantes inibem a monoamina oxidase, a enzima que metaboliza as catecolaminas (dopamina, noradrenalina e adrenalina), tendo assim um papel de rectificação dos níveis de dopamina e noradrenalina na fenda sináptica. Por outro lado, a medicação não-estimulante surge, principalmente, nos casos de menor resposta aos estimulantes, intolerância aos efeitos secundários, por exemplo insónias, ou à presença de outras condições médicas e mentais (Sharma & Couture, 2014).

Todas as alternativas apresentam evidência do seu efeito positivo (Chan et al., 2016), no entanto, mesmo o metilfenidato, que será a intervenção farmacológica mais estudada na PHDA, ainda hoje é alvo de intensa discussão sobre a sua eficácia e pertinência na intervenção (T. Banaschewski et al., 2016). Mesmo após a evidência criada sobre a eficácia das intervenções não-farmacológicas, actualmente ainda é argumentado que a medicação estimulante deverá ser a primeira linha de intervenção (Sonnack & Brenneman, 2014).



2.5.2 Intervenção não-farmacológica

A intervenção comportamental individual, parental e escolar pode ser complementada na sua eficácia com outras alternativas.

A suposição inicial de que as alterações da PHDA se deviam a pobres competências parentais, levou ao desenvolvimento de várias intervenções comportamentais (Sharma & Couture, 2014). Por esta razão, a intervenção comportamental assume vários tipos com evidência criada: individual, grupal, parental e em contexto escolar. Actualmente, é a intervenção não-farmacológica com maior evidência da sua eficácia na PHDA (Tabela 2-8). Apesar desta evidência, uma das suas fragilidades reside na própria definição. Na literatura, a intervenção comportamental não tem um padrão homogéneo. Desta forma, assume vários termos representativos como intervenção comportamental, psicológica, cognitivo-comportamental, psicossocial ou psico-educacional.

Tabela 2-8. Sumário da evidência das intervenções não-farmacológicas na Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção

Autor; Ano	Número de estudos (anos)	População; intervenção; característica dos estudos incluídos	Resultado da intervenção	Notas
Intervenção parental e familiar				
Bjornstad e Montgomery (2005)	2 (1991-1999)	PHDA crianças e adolescentes; terapia familiar; estudos experimentais randomizados.	+	Várias formas de intervenção parental.
Maughan et al. (2005)	79 (1966-2001)	Crianças 3-16 anos com comportamentos <i>disruptivos</i> (incluindo PHDA); treino parental comportamental; estudos experimentais.	+	Grande variabilidade na qualidade metodológica.
Corcoran e Dattalo (2006)	16 (1980-2003)	PHDA até 18 anos; envolvimento parental no tratamento; estudos com grupo controlo e resultados quantitativos.	?+	Estudos com informação não claramente reportada influenciando o resultado da Metanálise.
Lundahl et al. (2006)	63 (1974-2003)	Comportamentos <i>disruptivos</i> (incluindo PHDA); treino parental; estudos experimentais.	+	Acompanhamento parental individual mais eficaz.
Fabiano (2007)	32 (1976-2006)	PHDA; participação do pai no treino parental comportamental; um grupo com treino comportamental parental.	+	Importância da participação do pai no treino parental comportamental; grande diferença metodológica.
Pelham e Fabiano (2008) *	46 (1998-2006)	PHDA; treino parental comportamental e comportamental escolar; estudos experimentais.	+	Grande diferença metodológica.
Law et al. (2009)	20 Revisões Sistemáticas (não reportado)	Crianças; programas parentais; Revisões Sistemáticas.	+	Procura de evidência da eficácia genérica dos programas parentais.
Zwi et al. (2011)	5 (1993-2010)	Crianças 3-18 anos PHDA; treino parental; estudos experimentais randomizados.	+	Sem informação suficiente para criar princípios de intervenção.

Montoya et al. (2011) *	7 (1993-2009)	PHDA crianças e adolescentes; psico- educação parental e educacional; estudos com um grupo em de intervenção.	+	Evidência limitada. Psico- educação como parte de tratamento multimodal.
Lee et al. (2012)	40 (1977- 2009)	PHDA e comportamentos <i>disruptivos</i> ; treino parental comportamental; estudos experimentais.	+	Sem evidência relativa aos efeitos a longo prazo.
Fettig e Barton (2013)	13 (1997- 2009)	PHDA < 8 anos; intervenção com avaliação funcional parental; estudo experimentais.	+	Importância da avaliação funcional realizada pelos pais.
Von Sydow et al. (2013)	3 de 47 (não reportado claramente)	Doenças mentais < 17 anos (incluindo PHDA); terapia sistémica; estudos experimentais randomizados.	+	Valoriza exteriorização do comportamento.
Tarver et al. (2014)	11 (não reportado claramente)	Crianças com problemas comportamentais (incluindo PHDA); informação direccionada aos pais (manuais, internet, DVD, etc.); estudos experimentais randomizados.	?+	Valoriza exteriorização do comportamento.
Coates et al. (2015)	11 (1992- 2013)	PHDA crianças; intervenção parental; estudos experimentais.	+	Somente alterações na criança.
Mulqueen et al. (2015)	8 (2001-2011)	PHDA pré-escolar; intervenção parental; estudos experimentais randomizados.	+	Assimetria grande nos tamanhos de amostra.
Barlow et al. (2016)	22 (1982- 2015)	Crianças com alterações emocionais e comportamentais < 4 anos (incluindo PHDA); treino parental em grupo; estudos experimentais.	+	Baixa qualidade e diferença entre os estudos incluídos
Rimestad et al. (2016)	16 (1992- 2015)	Crianças pré-escolar com PHDA ou em risco; treino parental; estudos experimentais randomizados.	+	Única revisão identificada com objectivo de analisar a duração dos resultados.

Intervenção comportamental

Weisz et al. (2004)	46 de 298 (1963-2002)	Crianças com alterações comportamentais 3-18 anos (incluindo PHDA); psicoterapia; estudos experimentais.	+	Intervenção cognitivo- comportamental principalmente utilizada na PHDA; grande diversidade de intervenções.
Fabiano et al. (2009)	114 (1966- 2008)	Crianças PHDA; intervenção comportamental; estudos experimentais.	+	Efeito positivo significativo.
Storebo et al. (2011)	11 (1981- 2010)	PHDA 5-18 anos; treino de competências sociais; estudos experimentais randomizados.	?	Grande risco de viés nos estudos identificados.
Ramos-Quiroga et al. (2012)	18 (1999- 2010)	PHDA adultos; tratamento psicológico e cognitivo-comportamental; estudos experimentais.	+	Estudos incluídos com intervenção em grupo.
Chandler (2013)	9 (2002-2011)	PHDA adultos; terapia cognitiva comportamental e outras; estudos experimentais.	+	Objectivo de comparar eficácia da terapia cognitivo-comportamental com outras intervenções comportamentais.
Sonuga-Barke et al. (2013) *	15 de 54 (não reportado claramente)	PHDA crianças; intervenção comportamental; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande variabilidade de metodologias e domínios de avaliação.
Bruce et al. (2014)	13 (1996- 2011)	PHDA adultos; intervenção comportamental na capacidade de condução; estudos experimentais.	?+	Objectivo secundário de identificar intervenções comportamentais que possam influenciar a capacidade de condução.
Daley et al. (2014)	32 (1986- 2012)	PHDA 3-18 anos; intervenção comportamental; estudos experimentais randomizados.	+	Grande diferença metodológica.

Fabiano et al. (2015)	12 (1997-2013)	PHDA < 18 anos; intervenção psicossocial; Revisões Sistemáticas com Metanálise.	?+	Grande heterogeneidade.
Watson et al. (2015)	21 (1998-2010)	PHDA crianças; intervenção psicossocial; Revisões Sistemáticas com e sem Metanálise.	+	Grande heterogeneidade.
Battagliese et al. (2015)	21 (1984-2012)	Crianças com PHDA e crianças com Perturbação de Oposição < 18 anos; terapia cognitivo-comportamental; estudos experimentais randomizados.	+	Efeito moderado na PHDA.
Young et al. (2016)	9 (2002-2014)	PHDA adultos; terapia cognitiva comportamental; estudos experimentais randomizados.	+	Possivelmente a maioria dos participantes dos estudos incluídos também teriam medicação.
Jensen et al. (2016)	2 (2005-2011)	PHDA adultos; terapia cognitiva comportamental; estudos experimentais randomizados.	+	Compara com tratamento "convencional" (não claramente definido).
Weisz et al. (2017)	447 (1963-2013)	PHDA crianças 4-18 anos; intervenção psicológica e comportamental; estudos experimentais randomizados.	+	Grande variabilidade dos estudos quantitativamente analisados.

Intervenção nas competências cognitivas

Chacko et al. (2013)	7 (2002-2012)	PHDA 4-17 anos; memória; estudos experimentais.	+	<i>Cogmed Working Memory Training</i> como provavelmente eficaz.
Melby-Lervag e Hulme (2013)	23 (2002-2013)	PHDA; memória de trabalho; estudos experimentais.	+	Risco de viés de publicação.
Rapport et al. (2013)	25 (1999-2012)	PHDA; funções executivas; estudos experimentais.	?	Grande variabilidade de intervenções.
Sonuga-Barke et al. (2013) *	6 de 54 (não reportado claramente)	PHDA crianças; treino cognitivo; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande variabilidade de metodologias e domínios de avaliação.
Robinson et al. (2014)	13 (2003-2012)	Perturbações do Neurodesenvolvimento e adquiridas (incluindo PHDA); intervenção cognitiva; estudos experimentais.	?+	Baixa qualidade metodológica dos estudos incluídos
Cortese et al. (2015)	16 (2005-2014)	PHDA 3-18 anos; treino cognitivo; estudos experimentais randomizados.	?	Grande variabilidade.
Spencer-Smith e Klingberg (2015)	11 (2005-2013)	Participantes com intervenção de <i>Cogmed Working Memory Training</i> (incluindo PHDA); memória; estudos experimentais.	+	Analisa a eficácia do programa <i>Cogmed Working Memory Training</i> na atenção nas tarefas de vida diária.
Bikic et al. (2016)	12 (2007-2016)	PHDA 5-18 anos; competências de organização; estudos experimentais randomizados.	?+	Do inglês <i>Organizational skills training</i> .

Intervenção em contexto escolar

Pelham e Fabiano (2008) *	46 (1998-2006)	PHDA; treino parental comportamental e comportamental escolar; estudos experimentais.	+	Grande diferença metodológica.
Montoya et al. (2011) *	7 (1993-2009)	PHDA crianças e adolescentes; psico-educação parental e educacional; estudos com um grupo em de intervenção.	+	Evidência limitada. Psico-educação como parte de tratamento multimodal.
DuPaul et al. (2012)	63 (1971-1995)	PHDA crianças; intervenção em contexto escolar; estudos experimentais.	+	Estudos incluídos incidem principalmente no ensino primário.
Richardson et al. (2015)	54 (1980-2012)	PHDA crianças; intervenção em contexto escolar; estudos experimentais.	+	Múltiplos objectivos e revisões incluídos; estudos incluídos incidem principalmente no ensino primário.

Gaastra (2016)	89 (1970-2013)	PHDA 1º-12º ano escolaridade e 6-17 anos; intervenção em contexto escolar; estudos experimentais.	+	Analisa comportamento <i>disruptivo</i> .
Intervenção com utilização de exercício físico				
Grassmann et al. (2014)	3 (1983-2012)	PHDA; efeito de exercício físico nas funções executivas; estudos experimentais.	?+	Poucos estudos; pouca definição do termo <i>exercício físico</i> .
Cerrillo-Urbina et al. (2015)	8 (2002-2015)	PHDA 6-18 anos; exercício físico; estudos experimentais randomizados.	+	Pouca definição do termo <i>exercício físico</i> .
Neudecker et al. (2015)	21 (2001-2013)	PHDA 6-18 anos; exercício físico; estudos experimentais.	?+	Grande variabilidade de exercício físico
Vysniauske et al. (2016)	10 (1983-2014)	PHDA até 18 anos; exercício físico; estudos experimentais.	+	Pouca qualidade nos estudos incluídos.
Intervenção com <i>neurofeedback</i>				
Arns et al. (2009)	15 (1995-2007)	PHDA crianças; <i>neurofeedback</i> ; estudos experimentais.	+	Considerada intervenção eficaz.
Sonuga-Barke et al. (2013) *	8 de 54 (não reportado claramente)	PHDA crianças; <i>neurofeedback</i> ; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande variabilidade de metodologias e domínios de avaliação.
Vollebregt et al. (2014)	10 (1996-2012)	PHDA; <i>neurofeedback</i> ; estudos experimentais.	o	Grande heterogeneidade.
Micoulaud-Franchi et al. (2014)	5 (2009-2014)	PHDA crianças; <i>neurofeedback</i> ; estudos experimentais randomizados.	+	Grande heterogeneidade de metodologia.
Intervenção através da alimentação e de nutrientes				
Dieta				
Sonuga-Barke et al. (2013) *	15 de 54 (não reportado claramente)	PHDA crianças; restrição alimentar e exclusão de colorantes; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande variabilidade de metodologias e domínios de avaliação.
Heilskov Rytter et al. (2015)	52 (1976-2012)	PHDA crianças; restrição alimentar e adição de nutrientes; estudos experimentais.	?+	Grande variabilidade de metodologias de domínios de avaliação.
Zinco				
Sarris et al. (2011) *	3 de 16 (2001-2011)	PHDA; zinco; estudos experimentais randomizados.	?+	Poucos estudos; restrição em idioma inglês exclui estudos redigidos em mandarim.
Ghanizadeh e Berkem (2013)	3 (2004-2011)	PHDA crianças; zinco; estudos experimentais randomizados.	?	Resultados mistos.
Ferro				
Sarris et al. (2011) *	1 de 16 (2001-2011)	PHDA; ferro; estudos experimentais randomizados.	?+	Poucos estudos; restrição em idioma inglês exclui estudos redigidos em mandarim.
Ácidos gordos				
Raz e Gabis (2009)	15 (não reportado claramente)	PHDA crianças; ômega 3 e 6; estudos experimentais.	o	Conclusão principalmente fundamentada nos estudos randomizados.
Sarris et al. (2011) *	4 de 16 (2001-2011)	PHDA; ômega 3 e 6; estudos experimentais randomizados.	?o	Poucos estudos; restrição em idioma inglês exclui estudos redigidos em mandarim.
Grassmann et al. (2013)	12 (1987-2012)	PHDA crianças; ômega 3 e 6; estudos experimentais.	?+	Grande variabilidade nas doses administradas.
Sonuga-Barke et al. (2013) *	11 de 54 (não reportado claramente)	PHDA crianças; ômega 3 e 6; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande variabilidade de metodologias e domínios de avaliação.

Hawkey e Nigg (2014)	16 (2001-2012)	PHDA crianças; ómegas 3; estudos experimentais.	?+	Eficácia pouco expressiva.
Puri e Martins (2014)	18 (1987-2012)	PHDA crianças; ómegas 3 e 6; estudos experimentais.	?+	Grande variabilidade de metodologias.
Carnitina				
Sarris et al. (2011) *	3 de 16 (2001-2011)	PHDA; carnitina; estudos experimentais randomizados.	?+	Poucos estudos; restrição em idioma inglês exclui estudos redigidos em mandarim.
Magnésio				
Ghanizadeh (2013)	3 (1998-2006)	PHDA crianças; magnésio; estudos experimentais.	?+	Todos os estudos com tratamento combinado.
Melatonina				
Bendz e Scates (2015)	4 (2003-2009)	PHDA crianças; melatonina (sintetizada) para insônia; estudos experimentais.	+	Não identificada a comorbidade com distúrbio de sono; estados variados de medicação.

Intervenção por medicina herbal

Thaler et al. (2009)	4 (2001-2007)	Alterações psicológicas e comportamentais (incluindo PHDA); intervenção herbal (essências florais de Bach); estudos experimentais.	?-	Poucos estudos; baixa qualidade metodológica dos estudos incluídos.
Sarris et al (2011) *	5 de 16 (2001-2011)	PHDA; intervenção herbal (<i>Ginkgo biloba</i> , <i>Hypericum perforatum</i> , <i>Ningong granule</i> , <i>Pinus marinus</i>); estudos experimentais randomizados.	?	Resultados mistos, mas pouco expressivos; restrição ao idioma inglês exclui estudos redigidos em mandarim.
Wong et al. (2012)	12 (1999-2007)	PHDA; intervenção herbal; estudos experimentais randomizados.	?	Todos os estudos realizados na China; graves problemas metodológicos.
Kean et al. (2016)	5 (1987-2014)	Crianças e adolescentes (incluindo PHDA); intervenção herbal (<i>Bacopa monnieri</i>); qualquer desenho de estudo.	?+	Melhorias cognitivas e comportamentais; metodologias mistas.
Anheyer et al. (2017)	9 (1987-2015)	PHDA crianças; intervenção herbal (<i>Evening primrose oil</i> , <i>Melissa officinalis</i> , <i>Valeriana officinalis</i> , <i>Ginkgo biloba</i> , <i>Pinus marinus</i> , <i>Hypericum perforatum</i> , <i>Passiflora incarnata</i>); estudos experimentais randomizados.	?	Resultados mistos, mas pouco expressivos; baixa qualidade metodológica.

Intervenção por homeopatia

Altunc et al. (2007)	3 de 16 (1990-2005)	Crianças e adolescentes (incluindo PHDA); intervenção em homeopatia; estudos experimentais randomizados.	?+	Resultados mistos; poucos estudos.
Coulter e Dean (2007)	4 (1997-2005)	PHDA crianças; intervenção em homeopatia; estudos experimentais randomizados.	o	Poucos estudos; grande heterogeneidade.
Shaddel et al. (2014)	8 de 16 (1997-2013)	Crianças com Dificuldades Intelectuais e Desenvolvimentais (incluindo PHDA (?)); intervenção em homeopatia; estudos experimentais.	?	Grande heterogeneidade.

Intervenção por osteopatia

Posadzki et al. (2013)	1 de 17 (não reportado claramente)	Crianças (incluindo PHDA); tratamento osteopático manipulativo; estudos experimentais randomizados.	?+	Apenas um estudo que considera uma melhoria de 50% dos sintomas da PHDA.
------------------------	------------------------------------	---	----	--

Intervenção por acupunctura

Lee et al. (2011)	3 (2007-2009)	PHDA crianças; acupunctura; estudos experimentais randomizados.	?+	Grande heterogeneidade e baixa qualidade metodológica.
Li et al. (2011)	0	PHDA crianças; acupunctura; estudos experimentais randomizados.	Não aplicável	Não apresenta estudos que obedecem aos critérios de inclusão.
Ni et al. (2015)	13 (sem informação)	PHDA crianças; acupunctura; estudos experimentais randomizados.	+	Revisão em mandarim. Informação extraída do <i>abstract</i> .
Intervenção segundo o conceito <i>mindfulness</i>				
Black et al. (2009)	3 de 16 (não reportado claramente)	Crianças (incluindo PHDA); meditação; estudos experimentais.	?+	Resultados mistos; grandes limitações metodológicas dos estudos incluídos.
Cairncross e Miller (2016)	10 (2008-2014)	PHDA crianças; intervenção baseada em <i>mindfulness</i> ; estudos experimentais.	+	Grande heterogeneidade; possível viés de publicação.
Intervenção recorrendo a multimédia				
Rivero et al. (2015)	14 (não reportado claramente)	PHDA; intervenção com videojogo com componente cognitiva; estudos experimentais.	?	Uso ou não de medicação pouco claro; pouca clareza metodológica dos estudos incluídos.
Intervenção quiroprática				
Karpouzis et al. (2010)	0	PHDA crianças; quiroprática; estudos experimentais randomizados.	Não aplicável	Considerada revisão "vazia" por não apresentar estudos que obedecem aos critérios de inclusão.

Legenda: * Revisão também incluída noutra secção; "?" Intervenção inconclusiva em termos de resultado; "?-" Intervenção possivelmente sem efeito; "?+" Intervenção possivelmente com melhoria; "?o" Intervenção possivelmente sem efeito; "+-" Intervenção com melhoria; "o" Intervenção sem efeito; DVD *Digital Video Disc*, Disco Digital de Vídeo; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção parental e familiar: (Barlow, Bergman, Kornør, Wei, & Bennett, 2016; Bjornstad & Montgomery, 2005; Coates, Taylor, & Sayal, 2015; Corcoran & Dattalo, 2006; G. a Fabiano, 2007; Fettig & Barton, 2013; Law, Plunkett, Taylor, & Gunning, 2009; P. Lee, Niew, Yang, Chen, & Lin, 2012; B. Lundahl, Risser, & Lovejoy, 2006; Maughan, Christiansen, Jenson, Olympia, & Clark, 2005; Montoya, Colom, & Ferrin, 2011; Mulqueen, Bartley, & Bloch, 2015; Pelham & Fabiano, 2008; Rimestad, Lambek, Zacher Christiansen, & Hougaard, 2016; Tarver, Daley, Lockwood, & Sayal, 2014; Von Sydow, Retzlaff, Beher, Haun, & Schweitzer, 2013; Zwi, Jones, Thorgaard, York, & Dennis, 2011). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (Carr, 2014; G. S. Diamond, Serrano, Dickey, & Sonis, 1996); pelo idioma (Von Sydow, Beher, Schweitzer-Rothers, & Retzlaff, 2006).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção comportamental: (Battagliese et al., 2015; Bruce, Unsworth, & Tay, 2014; Chandler, 2013; David Daley et al., 2014; G. A. Fabiano et al., 2009; G. A. Fabiano, Schatz, Aloe, Chacko, & Chronis-Tuscano, 2015; C. M. Jensen, Amdisen, Jørgensen, & Amfred, 2016; Ramos-Quiroga et al., 2012; O. J. Storebø et al., 2011; S. M. R. Watson, Richels, Michalek, & Raymer, 2015; Weisz et al., 2017; Weisz, Hawley, & Jensen Doss, 2004; Z. Young, Moghaddam, & Tickle, 2016). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (Zirkelback & Reese, 2010); pelo idioma (Auclair, Harvey, & Lepage, 2016; W. J. Park, Park, & Hwang, 2015).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção cognitiva: (Bikic, Reichow, McCauley, Ibrahim, & Sukhodolsky, 2016; Chacko et al., 2013; Samuele Cortese, Ferrin, et al., 2015; Melby-Lervåg & Hulme, 2013; Mark D. Rapport, Orban, Kofler, & Friedman, 2013; Robinson, Kaizar, Catroppa, Godfrey, & Yeates, 2014; Spencer-Smith & Klingberg, 2015). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (E. Sonuga-Barke, Brandeis, Holtmann, & Cortese, 2014).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção em contexto escolar: (DuPaul, Eckert, & Vilaro, 2012; Gaastra et al., 2016; Montoya et al., 2011; Pelham & Fabiano, 2008; Richardson et al., 2015).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção com utilização de exercício físico: (Cerrillo-Urbina et al., 2015; Grassmann, Alves, Santos-Galduróz, & Galduróz, 2014; Neudecker, Mewes, Reimers, & Woll, 2015; Vysniauske, Verburgh, Oosterlaan, & Molendijk, 2016). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela população (Allison, Faith, & Franklin, 1995).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção por *neurofeedback*: (Martijn Arns, de Ridder, Strehl, Breteler, & Coenen, 2009; Micolaud-Franchi et al., 2014; Vollebregt, Van Dongen-Boomsma, Buitelaar, & Slaats-Willemsse, 2014). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (Martijn Arns, Heinrich, & Strehl, 2014; Moriyama et al., 2012); por ser inacessível (Liew, 2014).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção na alimentação: (Bendz & Scates, 2010; A Ghanizadeh & Berk, 2013; Ahmad Ghanizadeh, 2013; Grassmann et al., 2013; Hawkey & Nigg, 2014; Heilskov Rytter et al., 2015; Puri & Martins, 2014; Raz & Gabis, 2009; Sarris, Kean, Schweitzer, & Lake, 2011; E. J. S. Sonuga-Barke et al., 2013). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (Gow et al., 2015; Stevenson et al., 2014); pela população (R. E. Cooper et al., 2015).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção por medicina herbal: (Anheyer, Lauche, Schumann, Dobos, & Cramer, 2017; Kean, Downey, & Stough, 2016; Sarris et al., 2011; Thaler, Kaminski, Chapman, Langley, & Gartlehner, 2009; Wong, Kim, & Lee, 2012).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção por homeopatia: (Altunç, Pittler, & Ernst, 2007; Coulter & Dean, 2007; Shaddel, Ghazirad, & Bryant, 2014). **Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação:** pela metodologia (Ernst, 2010).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção por osteopatia: (Posadzki, Lee, & Ernst, 2013).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção por acupuntura: (M. S. Lee, Choi, Kim, Kim, & Ernst, 2011; S. Li et al., 2011; Ni, Zhang, Han, & Yin, 2015).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção segundo o conceito *mindfulness*: (Black, Miliam, & Sussman, 2009; Cairncross & Miller, 2016).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção recorrendo a multimédia: (Rivero, Herrera Nunez, Pires, & Amodeo Bueno, 2016; Rivero, Nuñez, Pires, & Bueno, 2015).

Revisões sistemáticas com resultados incluídos na intervenção quiroprática: (Karpouzis, Bonello, & Pollard, 2010).

Para além da intervenção comportamental, surgem outras, coincidentes com os pressupostos etiológicos descritos no subcapítulo 2.3, focadas nas competências cognitivas, especialmente nas funções executivas, e nos factores alimentares e nutricionais. A possibilidade de outros tipos de intervenção surge nos últimos anos, como resultado da realização de estudos experimentais com opções alternativas. Na comparação global da evidência entre as intervenções não-farmacológicas e as farmacológicas, destacam-se três grandes pontos:

- as intervenções não-farmacológicas apresentam uma quantidade significativamente inferior de evidência criada, com um rácio aproximado de 1:10;
- nem todas as intervenções não-farmacológicas são representadas pelo nível de evidência máximo, ao contrário da farmacológica;
- e existe grande heterogeneidade da amostragem e da metodologia nos estudos não-farmacológicos, dificultando a sua comparação e a construção de revisões.

De uma forma geral, as intervenções não-farmacológicas, principalmente as alternativas, demonstram evidência potencial da sua utilização, no entanto, há uma necessidade prioritária de uniformizar as metodologias utilizadas e aprofundar a sua investigação (G. A. Fabiano et al., 2015). A facilidade da construção de estudos experimentais com intervenções farmacológicas, é um dos pontos fortes que justificam, coerentemente à sua evidência, que sejam a principal forma de intervenção na PHDA. Contrariamente, as intervenções comportamentais são inerentemente mais subjectivas, o que significa que dificilmente terão um nível de evidência equiparado. Desta forma, apesar de terem um rácio menor, a consistência dos seus resultados (Tabela 2-8) já permite sugerir que também sejam consideradas na primeira linha de tratamento (David Daley et al., 2014).



2.5.3 Comparação entre intervenções

A intervenção combinada apresenta os melhores resultados.

As primeiras intervenções comportamentais não tiveram um resultado generalizado nos casos com PHDA e, paralelamente, o desenvolvimento do conhecimento neuroquímico da perturbação suportou o desenvolvimento da intervenção farmacológica (Sharma & Couture, 2014). Juntamente com o facto de que ambas as intervenções farmacológicas e não-farmacológicas comportamentais apresentam evidência que suporta a sua utilização como



primeira linha de intervenção, a eficácia do seu uso combinado corresponde à principal conclusão da comparação entre as várias intervenções (Tabela 2-9). Coerentemente com os subcapítulos anteriores, cada intervenção apresenta uma tendência positiva da sua eficácia, sendo as intervenções farmacológica e comportamental as que apresentam mais suporte de evidência. No entanto, também em consonância com esta exposição, uma das principais limitações destas revisões, assenta na assimetria, de quantidade e qualidade, da evidência entre estas mesmas intervenções. Ou seja, a definição dos critérios de inclusão delineados nestas revisões comparativas tende a resultar numa maior quantidade de estudos farmacológicos, com maior facilidade de análise quantitativa de eficácia, devido às possibilidades, ética e analiticamente, mais amplas (Charach A, Dashti B, Carson P, Booker L, Lim CG, Lillie E, Yeung E, Ma J, Raina P, 2011; Science, 2012). Enquadrado com estas características, a intervenção combinada demonstra ter a maior garantia de sucesso (Tabela 2-9).

Tabela 2-9. Sumário da evidência do resultado a curto prazo, de duas ou mais intervenções farmacológicas e não-farmacológicas, na Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção

Autor; ano	Número de estudos (ano); população; medição do resultado; característica dos estudos incluídos	Intervenções										Notas					
		Farmacológica						Não-farmacológica			Combi nação						
		Estimulante		Não-estimulante				Comportamenta					Não-comporta mental				
Metilfenidato	Pemolina Dextro/Lisdex/mis tura anfetamina	Atomoxetina	Modafinil	Clonidina	Guanfacina	Bupropiom	Indivíduo	Pais	Professores	Grupo	Social	Nutrição	Neurofeedback	Treino cognitivo	Estimulante + comportamental		
Crianças																	
Klassen et al. (1999)	26 (1985-1999); PHDA < 18 anos; escala funcional preenchida pelos pais ou professor; estudos experimentais.	+											?		?	Poucos estudos e grande heterogeneidade.	
Purdie et al. (2002)	74 (1990-1998); PHDA; escalas mistas; metodologia mista.			?												?	Método de pesquisa reportado amplo e não direccionado para a intervenção; grande heterogeneidade.
Majewicz- Hefley e Carlson (2007)	8 (1980-2004); PHDA 5-12 anos; escala para sintomas centrais e funcionais; tratamento combinado de 2-24 meses de tratamento.			+												+	Medidas de efeito associadas a sintomas centrais e funcionais. Intervenções combinadas pouco especificadas.
Van der Oord et al. (2008)	24 (1985-2006); PHDA 6-12 anos; escala funcional preenchida pelos pais ou professor; estudos experimentais.	+														+	Analisa estudos com outras condições. Análise agrupada da Intervenção comportamental.

Keen e Hadjiko umi (2011)	70 (múltiplas amostras por questão); PHDA < 18 anos; escala para sintomas centrais e funcionais: estudos experimentais e revisões.	?+ ?	?+ ?+ ?+	?	?+	Revisão de revisões com várias questões de estudo.
Mihandoost (2015)	17 (2000-2013); PHDA; escala de avaliação das competências sociais; estudos experimentais.		+	+	+	Método de pesquisa e seleção de estudos fracamente reportado.
Adolescentes						
Smith et al. (2000)	29 (1962-1998); PHDA 12-18 anos em ensino secundário; escalas mistas; metodologia mista.	+		?		O método de pesquisa poderá ter resultado em maior amostra de estudos farmacológicos.
Sibley et al. (2014)	53 (2000-2013); PHDA 10.0-19.9 anos; escala para sintomas centrais e funcionais; não revisões.		+	+	o o	Incluídos todos os desenhos de estudo à exceção de revisões.
Adultos						
Moriyama et al. (2013)	8 (2004-2011); PHDA > 18 anos; não reportado claramente; Revisões Sistemáticas com meta análise.	+	+	+	+	Restrita só a revisões com Metanálise. Somente uma revisão relativa a intervenções não-farmacológicas.

Legenda: "?" Intervenção inconclusiva em termos de resultado; "?+" Intervenção possivelmente com melhoria; "+" Intervenção com melhoria; "o" Intervenção sem efeito; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção. Os resultados agregados representam os resultados da categoria ou a falta de especificação na revisão.

Revisões sistemáticas com resultados incluídos (Keen & Hadjiko, 2011; Klassen, Miller, Raina, Lee, & Olsen, 1999; Majewicz-Hefley & Carlson, 2007; Mihandoost, 2015; Moriyama, Polanczyk, Terzi, Faria, & Rohde, 2013; Purdie et al., 2002; Sibley, Kuriyan, Evans, Waxmonsky, & Smith, 2014; B. H. Smith, Waschbusch, Willoughby, & Evans, 2000; Van der Oord, Prins, Oosterlaan, & Emmelkamp, 2008). Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação: por inacessibilidade (Bachmann, Bachmann, Rief, & Matthejat, 2008; Chan et al., 2016; Dopfner & Lehmkuhl, 2002; Kondo, Chrisman, & March, 2003); por pouca especificidade à PHDA (S. Miller, Wampold, & Varhely, 2008).



2.5.4 Resultados a curto e a longo prazo

As intervenções utilizadas apontam para a durabilidade dos seus efeitos.

A evidência dos subcapítulos anteriores foi referente, principalmente, a resultados imediatos até um ano após a intervenção. Também num período de tempo a longo prazo, superior a um ano, as intervenções farmacológica, não-farmacológica, principalmente comportamental, e combinada, apresentam evidência do seu efeito (Tabela 2-10). Também a longo prazo a intervenção combinada demonstra ser a mais duradoura, principalmente na auto-estima, competências sociais e académicas (Arnold, Hodgkins, Caci, Kahle, & Young, 2015; J. Parker, Wales, Chalhoub, & Harpin, 2013).

As principais características do estudo a longo prazo são referentes:

- ao número significativamente inferior de estudos que reportam o acompanhamento para além do primeiro ano de intervenção. Provavelmente associado à necessidade superior de recursos para o acompanhamento a longo prazo;
- à heterogeneidade dos métodos de comparação da eficácia das intervenções, à semelhança dos subcapítulos anteriores;
- à variabilidade das combinações de tratamento, dentro dos grupos de intervenções farmacológicas e não-farmacológicas;
- e ao desconhecimento das possíveis interações entre as várias intervenções.

Tabela 2-10. Sumário da evidência do resultado a longo prazo, de duas ou mais intervenções farmacológicas e não-farmacológicas, na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Autor; ano	Número de estudos (ano); população; medição do resultado; característica dos estudos incluídos	Modalidade			Notas
		Farmacológica	Não-farmacológica	Combinação	
Crianças					
Shaw et al. (2012)	351 (1980-2010); PHDA > 10 anos; <i>follow-up</i> após, pelo menos, dois anos; estudos experimentais.	+	+	+	Reporta extensamente resultados, mas agrupa as intervenções.
Parker et al. (2013)	8 (1982-2012) PHDA < 16 anos; <i>follow-up</i> entre 1-8 anos; estudos experimentais.	+	+	+	Limita pesquisa a intervenções não-farmacológicas recomendadas.
Arnold et al. (2015b)	176 (1980-2012); PHDA > 10 anos; <i>follow-up</i> após, pelo menos, dois anos; estudos analíticos.	+	+	+	Apresenta resultados comparativos entre as intervenções agrupadas.
Arnold et al. (2015a)	51 (1981-2011); PHDA > 10 anos; <i>follow-up</i> após, pelo menos, dois anos; estudos analíticos.	+	+	+	Apresenta resultados comparativos entre as intervenções agrupadas.

Legenda: "+" Intervenção com melhoria; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção. Os resultados agregados representam o resultado para o tipo de intervenção em questão.

Revisões sistemáticas com resultados incluídos (Arnold, Hodgkins, Caci, et al., 2015; Arnold, Hodgkins, Kahle, Madhoo, & Kewley, 2015; J. Parker et al., 2013; M. Shaw et al., 2012). Revisões sistemáticas com resultados excluídos com justificação: por partilhar a sua metodologia com umas das revisões já incluídas (Hodgkins et al., 2012); pela metodologia (Rajeh, Amanullah, Shivakumar, & Cole, 2017).



2.6 Conclusão do capítulo

Apesar de existir um volume significativo de publicações na PHDA pode ser interpretado que a ciência na PHDA se encontra em crise.

Este capítulo do Estado da Arte procurou priorizar a utilização de Revisões Sistemáticas de forma a fornecer uma perspectiva global do nível máximo de evidência no estudo da PHDA, identificar áreas fracas e fortes do conhecimento de décadas de investigação e dar suporte a todas as decisões subsequentes nesta tese.

Foram identificados três grandes âmbitos de estudo referentes à etiologia, à descrição de competências e à intervenção. Dentro de cada um, existem áreas que, pelo volume de evidência, podem ser consideradas como as principais referências. Na etiologia, pode ser considerado o estudo neuroanatômico, sendo actualmente a principal área utilizada na interpretação do comportamento. O estudo genético assume também importância, pela sua inter-relação com a neuroanatomia. Na descrição de competências, as principais áreas são referentes ao estudo do controlo inibitório e das funções executivas. Por fim, na intervenção, o estudo farmacológico corresponde, largamente, à área mais estudada.

Uma vez que os capítulos seguintes serão focados na construção de uma nova teoria etiológica, os subcapítulos deste Estado da Arte foram focados na etiologia da PHDA. Com os subcapítulos referentes à descrição de competências e da intervenção foi pretendido, acima de tudo, resumir a principal evidência e resultados, evitando uma descrição exaustiva que pudesse sair fora do âmbito das perguntas de investigação desta tese.

Como resultado da pesquisa para o Estado da Arte foi identificado um total de 655 Revisões Sistemáticas que, por leitura integral, foram agrupadas de acordo com as suas temáticas (Tabela 2-11).

De uma forma geral, foi observado que existe um volume significativo de publicações associadas à PHDA assimetricamente distribuídas pelas várias áreas de conhecimento. No entanto, mesmo com um volume superior a 650 revisões, e mesmo nas áreas mais investigadas, foram observadas dificuldades em processar respostas pois a evidência tende a ser redundante, transversalmente confusa e pouco conclusiva.

Tabela 2-11. Principais categorias utilizadas na catalogação inicial das Revisões Sistemáticas, com e sem Metanálise, na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Principais categorias						
Factores de risco n=321						
Comorbilidade n=58	Competências n=62	Comportamentais n=21	Contextuais n=30	Genéticos n=48	Neurológicos n=74	Saúde n=46
Tratamento n=341						
Farmacológico n=186	Não-farmacológico n=37					
Epidemiologia n=48						
Total n=655						

A soma dos valores numéricos apresentados não corresponde aos valores totais uma vez que a mesma revisão pode ter atribuída mais do que uma categoria.

Tabela original.

A Figura 2-5 representa a distribuição temporal das Revisões Sistemáticas relativas à PHDA. Na sua análise, apresenta uma distribuição temporal com um aumento significativo nos últimos anos.

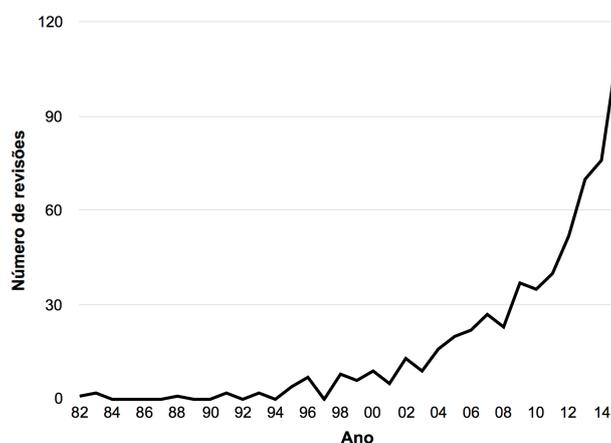


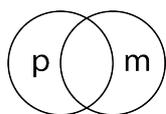
Figura 2-5. Distribuição anual das Revisões Sistemáticas sobre a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção em 2015

Figura original (Apple Inc, 2015).

Esta subida é coerente com o aumento de popularidade das Revisões Sistemáticas no final da década de 1980 e do uso da Metanálise nas áreas biomédicas na década de 1990 (Ioannidis, 2016b). No entanto, apesar deste aumento, padece da limitação de as Revisões Sistemáticas e Metanálises poderem estar a ser sobreproduzidas e ao invés de clarificarem a evidência, tornam-se redundantes e confusas. Esta limitação foi observada na qualidade da evidência analisada no Estado da Arte, onde as tentativas de conclusões assentes foram, muitas vezes, impossibilitadas quando a evidência reportada foi enquadrada com a antecedente.

É com base neste enquadramento que pode ser interpretado que a ciência na PHDA se encontra em *crise* (Kuhn, 1970). Os principais paradigmas gerados têm sido exaustivamente

testados ou não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década. Existe a necessidade de regressar à fase de criação de novas construções teóricas. De forma a contribuir para a resolução desta necessidade identificada, a metodologia traçada desta tese procurou criar evidência conclusiva que suporte os conceitos-chave para futuros paradigmas.



3 Metodologia

Esta tese pretende a ser uma Teoria Descritiva e Relacional, com uma investigação do tipo de Identificação de Lacunas entre a PHDA e o Microbioma Humano, de construção Explicativa em duas fases, Emergente e Construtiva, e exposta em três perguntas de investigação.

Kuhn (1970), um dos autores influentes no estudo histórico e filosófico da ciência (Kuhn, 1970; Quin, 1997), preconiza que a ciência se divide em duas fases principais: 1) a fase da *revolução científica* e de *mudanças de paradigmas*, em que ocorre a criação ou substituição de ideias e modelos; e 2) o período da ciência *normal*, em que ocorre a aceitação dos paradigmas, o seu teste empírico e a consequente *resolução dos quebra-cabeças* associados (Kuhn, 1970; Quin, 1997; S. A. West & Kiers, 2009).

Durante a fase *normal*, a ciência foca-se na *resolução dos quebra-cabeças* derivados dos paradigmas e das ideias criadas durante a fase precedente da *revolução científica*. A investigação é direccionada para tentar responder às suposições criadas, confirmando-as ou provocando mudanças nos paradigmas até à sua aceitação. À semelhança da Biologia (S. A. West & Kiers, 2009), o volume e o ritmo da criação da evidência científica relacionada com a PHDA suportam o conceito de que o seu estudo se encontra na fase *normal*, em que os vários paradigmas têm sido exaustivamente testados e reformulados (Kuhn, 1970).

No entanto, ocasionalmente, nesta fase de teste dos paradigmas, também surgem factos incompatíveis com os modelos preconizados. Neste caso, os paradigmas não são suportados pela evidência gerada, que é contrária ou inconclusiva. Desenvolve-se, assim, uma fase de *crise* (Kuhn, 1970; Quin, 1997). O resultado desta *crise* origina novas investigações que, juntamente com a evidência *contraditória* criada, geram novos paradigmas. Kuhn (1970) descreve este mecanismo como a fase de *revolução científica* (Kuhn, 1970).

Claro que durante a fase *normal* de ciência também surgem factos que questionam os paradigmas vigentes e potenciam a sua alteração. No entanto, no estudo da PHDA existem áreas de conhecimento cujo total de revisões qualitativas e quantitativas ascende a mais de cem, no entanto, mantêm a inconsistência dos seus resultados. Assim, o capítulo do Estado da Arte demonstrou, acima de tudo, que o estudo científico da PHDA se encontra em fase de *crise* tendo uma necessidade de regressar à fase de criação teórica.



3.1 Perguntas de investigação

Esta tese foi metodologicamente construída de forma a realizar uma conceptualização teórica sobre a etiologia da PHDA, que contribua para a resolução da fase de *crise* identificada. Foi aceite a consideração de Shepherd & Suddaby (2016) de que a construção de teorias não é exclusiva de um domínio de elite académica, mas sim dependente de uma construção técnica e metodológica rigorosa (Shepherd & Suddaby, 2016) que deve oferecer uma perspectiva para além da apresentação de resultados empíricos e da validação do conhecimento existente (Alvesson & Sandberg, 2013).

Um dos métodos mais utilizados na produção de perguntas de investigação de construções teóricas refere-se à *Identificação de Lacunas* (do inglês, *Gap-Spotting*) (Alvesson & Sandberg, 2013; J. Sandberg & Alvesson, 2011). Este método procura identificar falhas no conhecimento existente ligando conceitos e levando a novas conclusões e perguntas de investigação. Apesar de ser inerente à criação do conhecimento científico a procura de unir conceitos e gerar respostas e perguntas, este tipo de investigação deve aproximar-se do propósito de uma construção teórica. É especialmente importante na produção de novas questões de pesquisa, ampliação do conhecimento, resolução de dúvidas e integração com o conhecimento existente para que, por sua vez, possa ocorrer o levantamento de questões inovadoras que desafiem os pressupostos estabelecidos (Eastwood et al., 2014; J. Sandberg & Alvesson, 2011).

A identificação de potenciais teorias de *Identificação de Lacunas* deve assentar em dois processos: 1) a estruturação do conhecimento através de revisões, em que é procurado compilar a evidência e julgar a sua coerência para que, através de uma metodologia rigorosa, seja possível reforçar as revisões realizadas e desafiar as teorias existentes; e 2) a *problematização* (do inglês, *problematization*) do conhecimento existente, principalmente, salientando as áreas incompletas (J. Sandberg & Alvesson, 2011). Desta forma, a consideração de que o estado de *crise* na PHDA surgirá, provavelmente, associado à exploração exaustiva dos paradigmas existentes e que não consideram os grandes avanços tecnológicos da última década, representa que as perguntas de investigação desta tese terão de criar ligações teóricas entre: 1) os conceitos-chave associados à principal área etiológica neuroanatômica da PHDA; e 2) os conceitos-chave de outra área de conhecimento derivado dos avanços tecnológicos.

Assim, esta tese delineou três perguntas de investigação:



- tendo em conta que o estudo neuroanatômico corresponde à principal área etiológica da PHDA, quais os seus pressupostos?

- tendo em conta que as várias teorias explicativas da PHDA ainda não explicam os diversos aspectos etiológicos, poderá existir uma área científica emergente que apresente pressupostos viáveis de explicar os seus sintomas centrais e o restante conjunto de características descritas?

- e podem as alterações do Microbioma Humano estar etiológicamente relacionadas com a PHDA?



3.2 Perspectiva filosófica: Ontologia

Embora as ideias filosóficas sejam maioritariamente *invisíveis* durante uma investigação, a sua escolha molda a prática metodológica do trabalho. O plano de investigação envolve a intersecção entre a Filosofia, o desenho de estudo e a metodologia utilizada (Creswell, 2009). O desenho de investigação é um processo que se inicia na escolha do pensamento filosófico, ao nível da Ontologia e Epistemologia, seguido das dimensões metodológicas da sua construção (MacKenzie, 2011). A Ontologia é a natureza da realidade social, metafísica, e o ponto de partida da investigação. A Epistemologia corresponde aos pressupostos envolvidos com a forma como é obtido o conhecimento, representando a metodologia a forma exacta como essa realidade é apreendida (Dorairaj, 2013). Assim, neste subcapítulo foi pretendido enquadrar as abordagens filosóficas aplicáveis a esta tese, justificar a sua escolha e descrever o desenho de estudo utilizado para corresponder ao objectivo traçado.

A perspectiva filosófica corresponde à orientação sobre a realidade e sobre o objecto de estudo (Creswell, 2009). Representa a natureza da realidade e o pressuposto de como o investigador adquire o conhecimento dessa mesma realidade (Creswell, 2009; Dorairaj, 2013). A Ontologia é o ponto de partida a partir do qual as decisões epistemológicas e metodológicas devem coerentes. Para esta tese quatro principais paradigmas foram considerados: Pós-Positivismo, Construtivismo, Transformativo (do inglês, *Transformative*) e Pragmatismo (Tabela 3-1).

Tabela 3-1 Quatro principais paradigmas aplicáveis a esta tese

Pós-Positivismo	Construtivismo
Determinação; Reduccionismo; Observação empírica e avaliação; Verificação de teorias.	Compreensão; Múltiplas interpretações dos participantes; Construção social e histórica; Criação de teorias.
Transformativo	Pragmatismo
Envolvimento político; Orientação para o poder e justiça; Colaborativo; Focado na Mudança.	Consequência das acções; Centrado nos problemas; Pluralismo; Orientação para a prática da realidade.

Tabela traduzida (Creswell, 2009).



3.2.1 Pós-Positivismo

Os pressupostos do Pós-Positivismo representam o método tradicional de investigação, por vezes denominado de *método científico*. Representam uma corrente de pensamento que surge no século XIX, desafiando a consideração tradicional do Positivismo da verdade absoluta do conhecimento. Considera que o conhecimento é conjectural e que a verdade absoluta não pode ser identificada, devendo os dados e a evidência quantitativamente refinar as considerações em estudo. Considera que as causas provavelmente determinam os resultados, sendo os problemas abordados através da sua simplificação em hipóteses que são rigorosamente medidas, testadas e verificadas experimentalmente. O principal objectivo da investigação é desenvolver pressupostos que sejam relevantes, que partem de uma teoria, e que possam explicar a relação em estudo, de forma objectiva e com métodos que confirmem a sua validade (Creswell, 2009).



3.2.2 Construtivismo

O Construtivismo é uma perspectiva tipicamente associada à investigação qualitativa. Considera que os indivíduos compreendem a sua realidade através de interpretações subjectivas das suas experiências. Estas interpretações são variadas, levando o investigador a identificar a complexidade associada ao invés de reduzir as ideias em categorias. O processo da criação do conhecimento é sempre social, derivado da interacção comunitária humana, pretendendo considerar, o mais possível, as perspectivas dos participantes envolvidos no estudo com questões de investigação amplas e com o objectivo de interpretar as diversas perspectivas para gerar um padrão ou uma teoria interpretativa (Creswell, 2009).



3.2.3 Transformativo

O paradigma Transformativo considera que a investigação deve estar politicamente envolvida para causar mudanças que confrontem a opressão social e as necessidades individuais de grupos minoritários ou marginalizados. Esta posição surgiu durante as décadas de 1980 e 1990, após as considerações de que os pressupostos do Pós-Positivismo impunham leis e teorias que não se enquadravam com os assuntos de poder, justiça social e opressão e que o Construtivismo não se estendia até aos grupos marginalizados. A investigação deve conter um objectivo específico relacionado com temas como a desigualdade, opressão, dominação, supressão ou alienação, sendo o ponto focal do estudo. Os participantes podem auxiliar nas perguntas desenvolvidas, recolher dados, analisar a informação ou ter o benefício da investigação de forma a não aumentar a marginalização (Creswell, 2009).



3.2.4 Pragmatismo

O Pragmatismo deriva das acções, situações e consequências em vez de condições antecedentes, como no Pós-Positivismo. Tem como intuito a solução para os problemas e, em vez de se focar nos métodos, os investigadores focam-se nos problemas de investigação e utilizam todas as abordagens disponíveis para compreender esse mesmo problema. Por esta característica, está associado tanto à metodologia quantitativa como à qualitativa e, dessa forma, denominada de metodologia mista. O Pragmatismo não está vinculado a outro paradigma filosófico ou metodologia, o que confere ao investigador a liberdade para escolher os métodos, técnicas e procedimentos preferenciais. Considera que a realidade não é uma unidade absoluta, pelo que a metodologia mista confere a possibilidade de recolher e analisar a informação que melhor resposta pode dar ao objectivo principal de compreender *o quê e como* investigar. Dessa forma, após a definição do objectivo da investigação deve ser claramente estabelecido o intuito da metodologia mista, quantitativa e qualitativa (Creswell, 2009).



3.2.5 Escolha da perspectiva filosófica

Com esta tese foi pretendido realizar uma conceptualização teórica sobre a etiologia da PHDA e que contemple os grandes avanços tecnológicos da última década. Apesar do extenso conhecimento na PHDA, a inclusão de uma área de investigação emergente inevitavelmente implica a conjugação de dois temas com uma grande assimetria de evidência e, adicionalmente, representa as primeiras etapas de uma construção teórica. Assim, por um lado, foi pretendido estruturar a extensa evidência da PHDA, o que poderia permitir uma abordagem assente no Pós-Positivismo. No entanto, por outro lado, a procura de uma área de conhecimento válida para a etiologia da PHDA e a sua sequente estruturação da evidência estão dependentes de uma abordagem mais flexível. Desta forma, o Pragmatismo, com a sua flexibilidade associada e centrada no problema, permitiria a conjugação de metodologias para a recolha dos argumentos que servirão para as primeiras fases da construção teórica.

Assim, esta tese foi construída à luz do Pragmatismo, o que se traduziu em vários aspectos:

- a metodologia foi moldada para ser centrada na aquisição dos pressupostos dos seus dois temas, a PHDA e o Microbioma Humano, e na sua relação conceptual;
- foi utilizada uma metodologia mista, que só assim possibilitou a realização das primeiras fases de uma construção teórica sobre o possível envolvimento etiológico do Microbioma Humano na PHDA;

- foi utilizado livremente um pluralismo de tipos de raciocínio, que permitiu criar vários argumentos preliminares com múltiplos níveis de coerência;

- a relação entre estes dois temas foi focada nos mecanismos de acção, de *como* funciona e *quais* os principais mecanismos possíveis;

- e os argumentos preliminares, aqui construídos, tiveram em consideração os vários contextos sociais, históricos, antropológicos, geológicos e biológicos.



3.3 Desenho de investigação: Epistemologia

Neste subcapítulo foi pretendido expor as abordagens de investigação disponíveis, quantitativa, qualitativa e mista, e expor a justificação da utilização de uma metodologia mista de tendência qualitativa (Tabela 3-2).

Tabela 3-2 Abordagens ao desenho de investigação

Desenho quantitativo	Métodos Mistos	Desenho Qualitativo
Desenho experimental; Desenho não-experimental, como o tipo <i>survey</i> .	Sequência explicativa; Sequência exploratória; Transformativo; Múltiplas fases.	Pesquisa narrativa; Fenomenologia; <i>Grounded theory</i> ; Etnografia; Estudos de caso.

Legenda: Métodos Mistos, do inglês, *Mixed Methods*.

Tabela traduzida e adaptada (Creswell, 2009).

Estas três abordagens são distintas entre si, não como categorias rigidamente divididas, mas como um contínuo, com as abordagens quantitativa e qualitativa nos seus extremos e a metodologia mista incorporando ambos os elementos (Creswell, 2009).



3.3.1 Desenho quantitativo

No final do século XIX e durante o século XX, a investigação quantitativa estava relacionada com o Pós-Positivismo, principalmente na área da Psicologia (Creswell, 2009). Esta abordagem foca-se na experimentação e no teste de hipóteses, analisando relações causais entre as variáveis em estudo. Utiliza dados numéricos de uma amostra representativa, recorrendo à análise estatística com o objectivo de confirmar ou rejeitar a hipótese inicial (Dorairaj, 2013). Nesta abordagem destacam-se as sondagens e os estudos de opinião, que resultam numa descrição numérica da amostra, e estudos experimentais, que avaliam a eficácia de uma intervenção (Creswell, 2009).



3.3.2 Desenho qualitativo

A pesquisa qualitativa teve a sua origem na Antropologia, Sociologia e Humanidades (Creswell, 2009). Esta abordagem foca-se nos fenómenos sociais e culturais através da interacção com os indivíduos envolvidos no tema do estudo. Envolve o uso de dados visuais e textuais obtidos por entrevistas, observações e documentos com o objectivo de compreender os participantes e os contextos envolvidos de forma a construir uma explicação (Dorairaj, 2013). Destacam-se a pesquisa narrativa, para o estudo de opiniões e histórias de vida dos participantes, a fenomenológica, focada na experienciação dos indivíduos a um fenómeno específico, a *grounded theory*, uma teoria abstracta e genérica construída com base nas perspectivas dos participantes, a etnografia, focada nos padrões culturais de uma população através da observação e entrevista, e os estudos de caso, focados na análise aprofundada de um tema, evento, actividade ou indivíduo (Creswell, 2009).



3.3.3 Métodos mistos

A utilização de uma metodologia mista, denominada Métodos Mistos (do inglês, *Mixed Methods*), surgiu nas últimas décadas, após a fase em que o Pós-Positivismo foi dominante, nas décadas de 1950 a 1970, e após a mudança para o Construtivismo entre as décadas de 1970 e 1990 (Denscombe, 2008). A metodologia por Métodos Mistos assenta na concepção de que todos os métodos apresentam pontos fracos e vieses e que a integração de várias metodologias neutraliza as possíveis fraquezas. Assim, combina a integração da pesquisa quantitativa e qualitativa e dos seus dados derivados adoptando, tendencialmente, uma perspectiva assente no Pragmatismo (Creswell, 2009; Denscombe, 2008). Nestas abordagens destacam-se o método misto paralelo convergente, em que o investigador recolhe os dados qualitativos e quantitativos em simultâneo e realiza uma análise com base nas várias metodologias, o método misto sequencial explicativo, em que o investigador analisa qualitativamente os resultados quantitativos realizados previamente, e o método misto sequencial exploratório, em que o investigador realiza uma fase quantitativa após uma fase qualitativa prévia (Creswell, 2009).



3.3.4 Escolha do desenho de investigação

Iniciar uma teoria representa a necessidade de uma construção metodológica rigorosa. Um desenho de estudo quantitativo permitiria a estruturação de hipóteses e a recolha e análise de dados coerentes com este princípio. De facto, a extensa bibliografia sobre a PHDA poderia

permitir esta abordagem. No entanto, para corresponder à fase inicial de construção teórica deverá ocorrer uma estruturação do conhecimento gerado, em vez do teste de hipóteses que possam gerar mais conhecimento. A abordagem quantitativa poderia ser útil na agregação do conhecimento ou, quando possível, numa fase final de confirmação das hipóteses geradas pela construção teórica. No entanto, o Estado da Arte da PHDA demonstrou uma grande assimetria transversal às várias áreas de conhecimento em que, mesmo nas mais investigadas, a evidência pode ser redundante e desagregadora. A estruturação do conhecimento somente recorrendo a dados quantitativos poderia mostrar-se insuficiente para o objectivo pretendido. A conjugação entre uma análise quantitativa e, quando possível, qualitativa poderia ser mais coerente com o objectivo desta tese.

Por outro lado, o objectivo de incluir na construção teórica uma área de estudo científico que contemplasse os grandes avanços tecnológicos da última década, inevitavelmente implicou abordar uma área recente e que poderia não apresentar uma robustez de conhecimento idêntica às décadas de investigação na PHDA. A metodologia qualitativa seria necessária para a identificação e a interpretação dos conceitos potenciais para este objectivo. Adicionalmente, a abordagem qualitativa encontra-se mais ajustada à fase inicial de construção teórica, focada na elaboração de hipóteses.

Desta forma, para o objectivo e para os temas traçados, um desenho de investigação com Métodos Mistos representou o maior potencial na obtenção da evidência existente, na conjugação desta evidência e no desenvolvimento e construção dos argumentos teóricos. Coerentemente, o Pragmatismo surge associado a este desenho de investigação. Foi pretendida a aproximação ao tipo de investigação por método misto paralelo convergente (do inglês, *Convergent parallel mixed methods*), pela necessidade em conjugar os dados de metodologias quantitativas e qualitativas, de forma a realizar uma análise compreensiva dos possíveis pressupostos teóricos, salientando pontos de convergência e de contradição da informação (Creswell, 2009).



3.3.5 Definição metodológica

As teorias podem ser definidas de várias formas, desde mecanismos de acumulação de conhecimento à legitimação do conhecimento existente (Alvesson & Kärreman, 2007; Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese, a definição de teoria respeita a descrição de Shepherd & Suddaby (2016), em que uma teoria corresponde à exposição de conceitos e das suas relações, que especificam *como* e *quando* um fenómeno ocorre, dentro de limites conceptuais definidos (Shepherd & Suddaby, 2016). Respeitando esta definição, esta construção teórica foi construída em duas fases que pretendem apurar os conceitos-chave que devem ser conceptualmente utilizados na posterior construção etiológica.



As teorias podem ser classificadas como Descritivas, Relacionais e Explicativas (Fawcett & Downs, 1986). As teorias Descritivas correspondem ao nível mais básico. Descrevem *o que é* e o estado dos eventos (Fawcett & Downs, 1986). São utilizadas quando o nível de entendimento é desconhecido ou básico. Dessa forma, necessitam assentar em pesquisa exploratória, podendo não conseguir atingir um método empírico (J. Sandberg & Alvesson, 2011). As teorias Relacionais especificam as relações entre as dimensões estudadas. Explicam *como* os temas estão relacionados. Este tipo de teorias só é desenvolvido após as teorias Descritivas serem testadas (Fawcett & Downs, 1986). As teorias Explicativas projectam-se para além da relação, estabelecem ligações causais e preditivas entre os temas e expõe *porque* são observadas as alterações *relacionais* entre os temas estudados (Fawcett & Downs, 1986).

Apesar da extensa investigação sobre a PHDA, foi demonstrado anteriormente que, pelo aumento do conhecimento, surgem factos que são incompatíveis com os modelos preconizados, levando a uma fase de *crise* e à necessidade de globalmente serem repensados alguns paradigmas. Assim, para esta teoria importou perceber claramente *o que é*, ou seja, *qual* o estado actual dos eventos e *onde* o nível de entendimento é desconhecido ou básico. Foram procurados de forma exploratória os argumentos que permitissem avançar novas hipóteses explicativas, enquadradas com os paradigmas anteriores. O estudo recente do Microbioma Humano obrigou a que, metodologicamente, esta tese apresentasse características que correspondesse a uma teoria descritiva assente numa pesquisa exploratória. Por outro lado, apesar da relação entre a PHDA e o Microbioma ainda não se encontrar em fase experimental, a construção de suposições e hipóteses, de como o Microbioma Humano está etiologicamente relacionado com a PHDA, tem também uma característica relacional.



3.3.6 Método de construção teórica

Relativamente ao método de construção teórica, esta tese adoptou o modo *Explicativo* (Eastwood et al., 2014, 2016). Uma Construção Teórica Explicativa (do inglês, *Explanatory Theory Building*) tem como objectivo identificar os mecanismos que produzem os fenómenos de estudo e compreender a sua relação com os resultados observados. Utiliza a *indução*, *dedução*, *afastamento* (do inglês, *abduction*) e *retrodução* (do inglês, *retroduction*) como as suas principais formas de raciocínio (Tabela 3-3) de forma a concretizar a relação abstracta identificada.

Tabela 3-3 Tipos de raciocínio utilizados

Indução:

Traçar conclusões universais válidas para um todo a partir de várias observações; observar similaridades entre um conjunto de observações.

Exemplo: podem os conceitos-chave do Microbioma Humano estar relacionados com os conceitos-chave da PHDA?

Dedução:

Chegar a conclusões lógicas válidas a partir de premissas estabelecidas; chegar ao conhecimento de fenómenos individuais com base nas leis universais.

Exemplo: aplicando os princípios biológicos ao Microbioma Humano e à PHDA, como podem estar relacionados?

Afastamento:

Interpretar e recontextualizar fenómenos individuais dentro de limites conceptuais; compreender um fenómeno de forma diferente através da sua observação à luz de outras conceptualizações.

Exemplo: tendo em conta os aspectos microbiológicos, o que pode estar no centro etiológico da PHDA?

Retrodução:

Reconstruir as condições básicas de um fenómeno a partir de sua descrição e análise.

Exemplo: podem os pressupostos do Microbioma Humano explicar o conhecimento já existente da PHDA?

(Eastwood et al., 2014).

A *Construção Teórica Explicativa* inicia a sua investigação com uma análise exploratória e descritiva do fenómeno em estudo, seguido de um processo analítico que envolve a identificação dos conceitos-chave, *retrodução*, *afastamento*, comparação entre teorias e, por fim, a concretização de estudos que testem as hipóteses levantadas (Figura 3-1).



Figura 3-1 Fases da *Construção Teórica Explicativa*

Figura traduzida e adaptada ("CmapTools," 2017; Eastwood et al., 2014).

A Fase *Emergente* conduz ao desenvolvimento de um modelo conceptual e inclui métodos mistos, como a utilização da *indução*, *dedução* e *afastamento*, de forma a realizar uma análise exploratória do conhecimento disponível. A Fase *Construtiva* define os limites conceptuais da teoria utilizando a abstracção, comparação de teorias e a identificação das melhores hipóteses a serem consideradas. A Fase *Confirmatória* concretiza as suposições teóricas e operacionaliza a criação das hipóteses que serão posteriormente testadas (Eastwood et al., 2014).

A metodologia desta tese é relativa às fases *Emergente* e *Construtiva* (Figura 3-2). Esta tese centra-se na construção das duas primeiras fases de forma a contribuir para a possibilidade

de serem desenvolvidos estudos numa fase final de construção de hipótese e de desenhos experimentais. Pelo nível recente de conhecimento relativo aos conceitos-chave do Microbioma Humano a Fase *Confirmatória* não é actualmente possível.

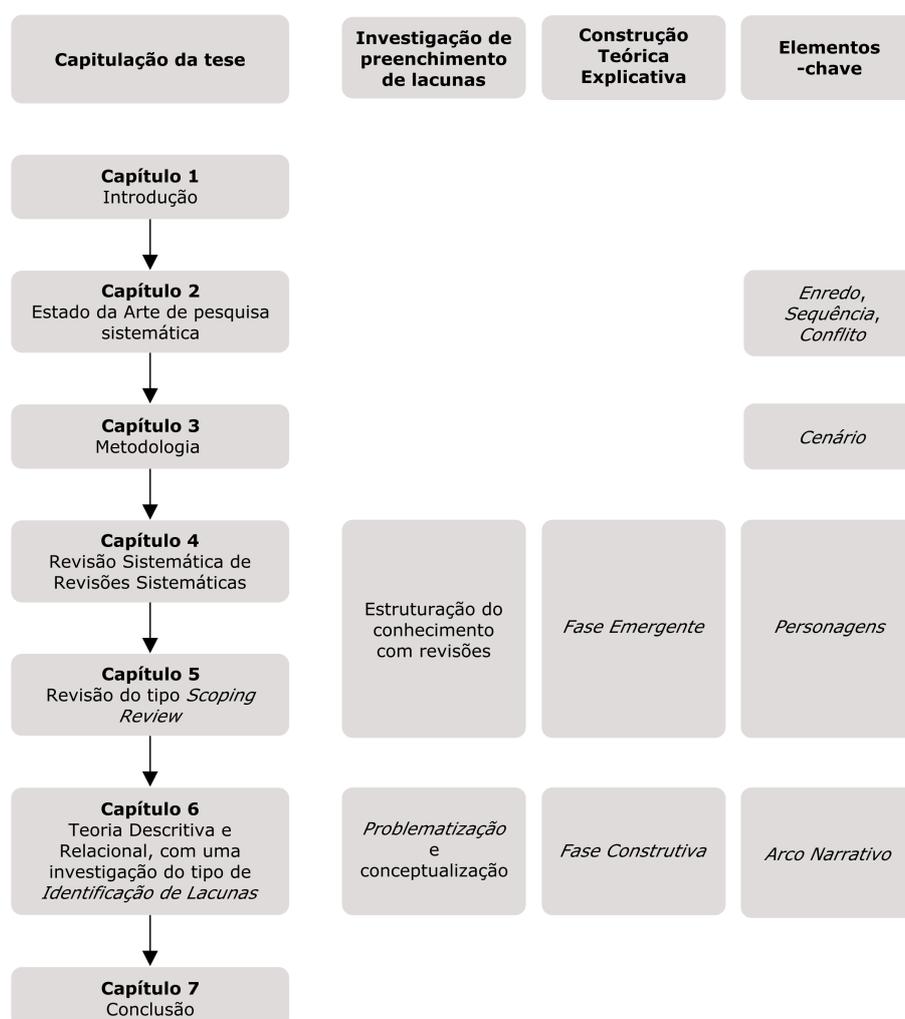


Figura 3-2 Visão global da organização metodológica desta tese

Conceitos com base na bibliografia (Eastwood et al., 2014, 2016; J. Sandberg & Alvesson, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016).

Figura original ("CmapTools," 2017).

Na Fase *Emergente* foi pretendido identificar os conceitos-chave associados à PHDA, que complementassem o Estado da Arte, e ao Microbioma Humano de forma a definir os limites conceptuais. Dada a extensa literatura relativamente ao principal estudo etiológico neuroanatômico, foi pretendido cimentar quais as alterações que são observadas na PHDA através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas. Dado o nível de conhecimento actual do Microbioma Humano, a construção dos seus conceitos-chave apenas foi possível através de uma revisão do tipo *Scoping Review*.

Na Fase *Construtiva* foram integrados os conceitos-chave identificados durante a Fase *Emergente* de forma a conceptualizar como o Microbioma Humano pode estar envolvido na

etiologia neuroanatômica da PHDA. Nesta fase esta tese atinge o nível de teoria (Figura 3-3), exposta em 11 argumentos, do argumento A ao K, suportados em coerência científica, assentes nos princípios de construção de teorias (do inglês, *theory building*) e com base nas principais directrizes, nomenclatura, formulação de perguntas de pesquisa e métodos revistos utilizados na construção de teorias científicas relevantes (Alvesson & Kärreman, 2007, 2011; Alvesson & Sandberg, 2013; Carpiano & Daley, 2006; Fawcett & Downs, 1986; Karreman & Levay, 2017; D. L. Morgan, 2018; J. Sandberg & Alvesson, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016).

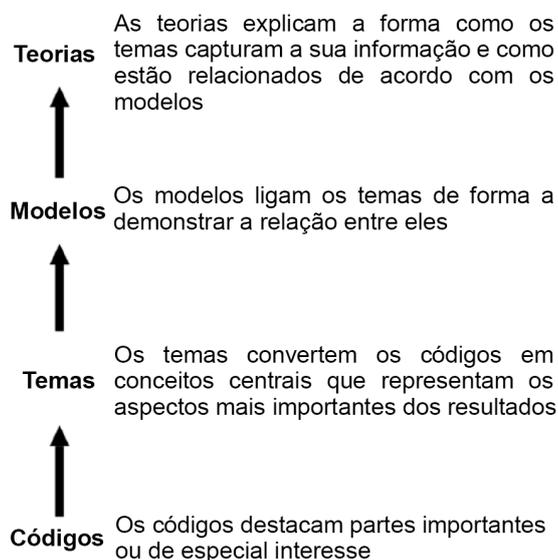


Figura 3-3 De códigos a teorias
Figura traduzida e adaptada (D. L. Morgan, 2018).



3.3.7 Organização metodológica

Uma teoria, para além das suas considerações metodológicas, deve conseguir comunicar claramente as explicações conceptualizadas, devendo a organização da sua narrativa atentar a este objectivo (Shepherd & Suddaby, 2016). Nesse sentido, esta construção teórica foi organizada em torno de seis elementos-chave considerados necessários para a sua organização expositiva: *enredo*, *sequência*, *conflito*, *cenário*, *personagens* e *arco narrativo* (Shepherd & Suddaby, 2016). De uma forma geral, estes elementos encontram-se associados aos passos metodológicos distintos realizados nesta tese (Figura 3-2):

- o *enredo*, *sequência* e o *conflito* foram representados no Estado da Arte;
- o *cenário* foi representado pela definição das perguntas de investigação;
- as *personagens* foram relativas às alterações neuroanatômicas da PHDA e ao Microbioma Humano;
- e o *arco narrativo* foi construído ao longo da conceptualização.

O *enredo* representa o que sustenta a construção teórica. Mais do que acumular a informação e hipóteses de um tema, o *enredo* enquadra a argumentação teórica dando-lhe coerência

individual e como um todo (Shepherd & Suddaby, 2016). Respeitando esta consideração, esta tese assenta numa pesquisa inicial sistemática em que foi pretendido catalogar, pelas suas temáticas, as diversas publicações existentes referentes à PHDA. Dado o extenso volume de informação criado na PHDA, foi dado especial destaque às revisões sistemáticas, procurando assegurar uma total abrangência desta evidência. Acima de tudo, foi pretendido formar conclusões e construir os pilares teóricos sobre os quais deve assentar o conhecimento actual da PHDA. Assim, de acordo com a construção de teorias, a construção deste *enredo* assenta na coerência individual de cada subcapítulo, como área de estudo, mas também na coerência global representativa do Estado da Arte da PHDA.

A consideração da *sequência* da aquisição e formação dos conceitos-chave serve o propósito de temporalmente unificar os componentes envolvidos na criação da evidência e da construção teórica (Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese foi representada pelos inícios de subcapítulo do Estado da Arte realizados com base nos primeiros estudos publicados, progredindo para uma conclusão com base nos resultados mais recentes, o que permite um enquadramento temporal da criação da evidência.

O *conflito* corresponde ao ponto de partida para a necessidade da criação de uma teoria. Ocorre a identificação de questões em aberto, explicações incoerentes e pontos de tensão na explicação dos fenómenos associados (Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese, corresponde aos pontos de *conflito* da evidência científica da PHDA que, através da pesquisa descrita no Estado da Arte, apresentou resultados conflituosos ou redundantes.

O *cenário* de uma construção teórica está relacionada com o enquadramento dos seus conceitos associados e representa o quarto elemento-chave resultante das perguntas de investigação (Shepherd & Suddaby, 2016). Na interpretação temporal do desenvolvimento e dos pontos de conflito da evidência científica da PHDA foi observado que este cenário de *crise* surgirá, provavelmente, associado à exploração exaustiva de paradigmas passados ou de paradigmas que não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década. Assim, as perguntas de investigação foram traçadas de forma a permitir a construção de um *cenário* que possa atender a esta necessidade.

As *personagens* correspondem aos conceitos-chave, aos pilares utilizados na construção de argumentos teóricos (Shepherd & Suddaby, 2016). Desta forma, a criação das perguntas de investigação permitiu a identificação das *personagens*, os conceitos-chave, a serem consideradas.

Por fim, o *arco narrativo* corresponde à construção literária, principalmente, na fase da conceptualização teórica e à sua narrativa, que culminou com a explicação total dos argumentos expostos.



3.4 Metodologia de investigação

O terceiro principal elemento do plano de investigação é representado pelos métodos específicos utilizados para a recolha, análise e interpretação da informação (Creswell, 2009). A escolha de um desenho de investigação por Métodos Mistos deve assumir várias formas de recolher a informação, de vários locais, utilizando questões abertas e fechadas. Deve desenvolver um racional misto e que integre diferentes níveis de investigação. Desta forma, de acordo com a visão global da Tabela 3-4, foram traçados três passos metodológicos distribuídos nas duas fases *Emergente* e *Construtiva*.

Tabela 3-4 Tendências da abordagem por Métodos Mistos

Abordagem por Métodos Mistos
Paradigma filosófico: Pragmatismo.
Estratégias de investigação: Sequencial, exploratório e transformativo.
Metodologia: Questões abertas e fechadas; Abordagens estabelecidas e emergentes; Análise quantitativa e qualitativa.
Prática de investigação: Recolha de informação quantitativa e qualitativa; Desenvolvimento de um racional misto; Integração da informação em diferentes níveis de investigação; Apresentação visual dos procedimentos.

Tabela traduzida e adaptada (Creswell, 2009).



3.4.1 Fase *Emergente*, primeira *personagem*: Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas

A primeira revisão desta tese, com os seus resultados no capítulo 4, corresponde à primeira *personagem* da Fase *Emergente*, com o objectivo de cimentar os conceitos-chave neuroanatômicos através de revisões. A escolha da utilização de revisões justificou-se pela coerência com o primeiro ponto de uma investigação de *Identificação de Lacunas*, mas

também pelo facto de que as Revisões Sistemáticas, Metanálises, Revisões de Revisões (também denominadas *Umbrella Review* ou *Overview*) e Revisões Sistematizadas (M. J. Grant & Booth, 2009; Munn, Stern, Aromataris, Lockwood, & Jordan, 2018; Samnani, Vaska, Ahmed, & Turin, 2017) serem metodologicamente traçadas para sintetizar, de forma conclusiva, o acumular da evidência científica gerada e oferecer uma crítica objectiva, comparativamente às tradicionais revisões narrativas (Finckh & Tramèr, 2008). Por estas características, estas ferramentas de revisão tornaram-se bastante utilizadas, tendo mesmo algumas áreas de conhecimento, nomeadamente as áreas de estudo genético, conduzido Metanálises prospectivas (Greenhalgh, Howick, & Maskrey, 2014; Ioannidis, 2016b).

Claro que as revisões não previnem a possível existência de viés, pois estão dependentes da qualidade metodológica dos estudos incluídos, dos critérios de elegibilidade e do viés reportado. Isto é principalmente observado nas áreas científicas mais relacionadas com o comportamento, em que as características inerentes aos estudos dependentes de respostas comportamentais acarretam limitações metodológicas (Greenhalgh et al., 2014; Ioannidis, 2016b). No entanto, o seu carácter sistemático permite gerar uma fundamentação teórica assente no mais alto nível de evidência e, através da Metanálise, permite a combinação de estudos independentes, o que pode melhorar a precisão estatística (Finckh & Tramèr, 2008).

No caso da PHDA, independentemente das suas características metodológicas, um volume superior a 650 Revisões Sistemáticas demonstra, claramente, que existe um volume significativo de produção científica, já num nível final de evidência e de construção de conclusões.

Assim, com o objectivo de estruturar o conhecimento dos mecanismos etiológicos mais reconhecidos na PHDA e criar os conceitos-chave que possam ser utilizados numa conceptualização foram identificadas duas principais possibilidades para a primeira revisão:

- seleccionar a área de conhecimento mais consistente em termos de resultados. Esta possibilidade foi descartada pelo facto de que a consistência era, muitas vezes, derivada de um menor volume de publicações, não fornecendo uma visão ampla para uma construção teórica;

- ou seleccionar a área de conhecimento com maior volume de evidência, apesar de poder ser menos consistente. Foi seleccionada esta opção relativamente ao estudo neuroanatómico.

O estudo neuroanatómico da PHDA apresenta mais de cem revisões publicadas e assume-se como o tema central etiológico. Dado este volume de revisões publicadas, a primeira revisão desta tese procurou aumentar o nível de evidência através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas, com o objectivo de formar conceitos conclusivos sobre as diferenças neuroanatómicas observadas em crianças e adultos com PHDA, comparativamente à normalidade. Foi realizada de acordo com as rigorosas directrizes *Cochrane* (The Cochrane

Collaboration, 2011) e representa, actualmente, o nível máximo de evidência nesta área, sendo inovador no estudo da PHDA pela sua metodologia e nível de evidência.

Foram igualmente tidas em consideração outras sugestões (Booth et al., 2011; Radua, 2015; V. Smith, Devane, Begley, & Clarke, 2011; The Joanna Briggs Institute, 2014) e exemplos que apresentavam metodologias de acordo as orientações *Cochrane* (M. Clarke, 2008; V. Smith, Devane, Begley, Clarke, & Higgins, 2007, 2009; C. Williams et al., 2006), de forma a adequar o mais possível a apresentação do seu conteúdo.

A metodologia de pesquisa foi sistematizada e organizada de forma a minimizar as perdas de informação (Montori, Wilczynski, Morgan, & Haynes, 2005; M. Sampson et al., 2009; V. Smith et al., 2011; The Cochrane Collaboration, 2011; Wilczynski & Haynes, 2007).

As revisões incluídas foram sujeitas a avaliação de qualidade. Tendo em conta as várias alternativas para esta avaliação (Guyatt et al., 2011; A. R. Jadad, Cook, & Browman, 1997; Liberati et al., 2009; Moher et al., 2015; Russo, 2007; Santisteban, Kim, Pepine, & Raizada, 2016; B. Shea, Boers, Grimshaw, Hamel, & Bouter, 2006; B. J. Shea et al., 2007, 2009, V. Smith et al., 2011, 2007; The Cochrane Collaboration, 2011; The Joanna Briggs Institute, 2014), foi seleccionada a avaliação pela *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Este método, apesar de mais extenso, assegura uma avaliação mais completa, o que se adequa às exigências desta tese.

A análise das revisões foi igualmente estruturada de forma a assegurar o rigor dos resultados (A. R. Jadad et al., 1997; Russo, 2007; Schunemann et al., 2008; V. Smith et al., 2007, 2009; The Joanna Briggs Institute, 2014), sendo realizada por dois revisores em que as divergências foram resolvidas por consenso. Igualmente, todas as decisões relativas à categorização, priorização e selecção de quaisquer resultados ou estudo foram decididas por consenso com um revisor independente.

Não foi encontrado registo de nenhum protocolo ou revisão coincidente com o tema e metodologia aqui aplicada.

Foi pretendido, acima de tudo, corresponder à necessidade de uma metodologia rigorosa numa investigação de *Identificação de Lacunas* e numa construção teórica (Alvesson & Sandberg, 2013).



3.4.1.1 Objectivo

O objectivo desta revisão foi identificar as alterações neuroanatómicas observadas em crianças e adultos com PHDA, comparativamente a crianças e adultos sem patologia, através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas que utilizassem métodos de diagnóstico neurológicos e que reportassem as diferenças neuroanatómicas encefálicas em termos de volume, área, probabilidade de activação ou composição química.

Objectivo de acordo com a estrutura *PICOS*: *P*, problema ou população; *I*, intervenção; *C*, comparador ou controlo; *O*, *outcome* ou resultado; e *S*, desenho de estudo, do inglês *study design*.



3.4.1.2 Critérios de inclusão

Nesta revisão foram incluídas as revisões que obedecessem aos seguintes critérios:

- ser uma Revisão Sistemática, com ou sem Metanálise, que revisse estudos que utilizassem um instrumento de diagnóstico neuroanatômico, estrutural ou funcional;
- que utilizasse os métodos de avaliação em participantes com diagnóstico de PHDA, sem comorbilidade, e num grupo controlo representativo da normalidade;
- que reportasse quais as diferenças anatómicas observadas nas áreas encefálicas;
- que comparasse os resultados entre a PHDA e o grupo controlo;
- e que estivesse redigida em inglês, castelhano, português, francês ou italiano.



3.4.1.3 Método de pesquisa

Inicialmente, tendo em conta o objectivo geral desta tese, foi realizada uma pesquisa que permitisse identificar todas as Revisões Sistemáticas relativas à PHDA. A pesquisa inicial foi realizada electronicamente, sem limite de tempo, no dia 11 de Dezembro de 2015. Foram utilizadas as bases de dados *PubMed*, *Scopus*, *Web of Science*, *Cochrane Database of Systematic Reviews* e *Database of Abstracts of Reviews of Effects*. Foram utilizadas duas *queries* de forma a minimizar a fuga de revisões relevantes: “(((adhd[Title/Abstract] OR hyperactivity[Title/Abstract])) AND (“meta analysis”[Title/Abstract] OR “meta analytic”[Title/Abstract] OR “systematic review”[Title/Abstract])) NOT (rat[Title/Abstract] OR autism[Title/Abstract] OR “brain injury”[Title/Abstract] OR cardiac[Title/Abstract] OR stroke[Title/Abstract]))” e (“Review”[Publication Type] OR “Review Literature as Topic”[Mesh] OR “Meta-Analysis as Topic”[Mesh] OR “Meta-Analysis”[Publication Type])) AND “Attention Deficit Disorder with Hyperactivity”[Mesh]” (Montori et al., 2005; V. Smith et al., 2011; The Cochrane Collaboration, 2011; The Joanna Briggs Institute, 2014). As duas *queries* foram replicadas semanalmente, sendo incluídos os novos resultados que obedecessem aos critérios de inclusão. A última actualização foi realizada a 23 de Abril de 2017.

As revisões identificadas nesta pesquisa, foram catalogadas de acordo com o tema e objectivo (Tabela 2-11). Através das referências bibliográficas das revisões que abordassem a área de neurologia na PHDA foram procuradas revisões adicionais que pudessem não ter sido identificadas com as duas pesquisas realizadas. Neste conjunto total de revisões de neuroanatomia na PHDA, foram aplicados os critérios de inclusão para identificar as revisões elegíveis para esta Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas.

3.4.1.4 Recolha e análise

Os resultados destas duas pesquisas foram importadas para o gestor de referências Mendeley (Mendeley Ltd., 2016), que permitiu excluir todas as referências duplicadas. Através do título e *abstract*, foram identificadas as revisões relativas à PHDA. Estas, através de leitura integral, foram catalogadas de acordo com o seu tema e objectivo sendo identificadas revisões adicionais através das referências utilizadas.

Seleção das revisões

No conjunto total de revisões de neuroanatomia na PHDA foram aplicados os critérios de inclusão. As revisões foram agrupadas em cinco grandes grupos de acordo com o seu objectivo: 1) diferenças encefálicas globais comparativas à normalidade; 2) diferenças encefálicas globais em condições específicas comparativas à normalidade; 3) diferenças comparativamente aos tipos da PHDA; 4) diferenças encefálicas comparativamente a comportamentos específicos; e 5) diferenças encefálicas com grupos com comorbilidade. Foram incluídas todas as revisões cujo objectivo comum fosse uma avaliação neuroanatômica e comparativa entre participantes com PHDA e um grupo controlo.

Extracção e gestão da informação

As revisões em que foram aplicados os critérios de inclusão foram sujeitas a leitura integral e avaliação, sendo posteriormente a sua informação extraída e organizada em cinco tabelas principais: Sumário das revisões incluídas (Tabela 4-1); Resumo dos critérios de qualidade das revisões incluídas (Tabela 4-2); Principais diferenças neuroanatômicas observadas (Tabela 4-3); Principais redes neuronais e competências comprometidas (Tabela 4-4); Principais recomendações (Tabela 4-5).

Foram também criadas 11 Tabelas Suplementares, com detalhe total do processo da inclusão das revisões e das análises mais pormenorizadas: Contagem e sobreposição dos estudos individuais nas revisões elegidas (Tabela 4-6); Avaliação das revisões elegidas de acordo com a *checklist* PRISMA (Tabela 4-7); Tomada de decisão relativa à exclusão de revisões quantitativas de fMRI (Tabela 4-8); Sumário das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos (Tabela 4-9); Resumo dos critérios de qualidade das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos (Tabela 4-10); Resultados da revisão de revisões em crianças com PHDA (Tabela 4-11); Resultados da revisão de revisões em adultos com PHDA (Tabela 4-12); Resultados da revisão de revisões em crianças e adultos com PHDA (Tabela 4-13); Variações funcionais de acordo com a tarefa em crianças e adultos (Tabela 4-14); Variações nas diferenças neuroanatômicas com a idade (Tabela 4-15); Variações nas diferenças neuroanatômicas com a intervenção farmacológica (Tabela 4-16).

As informações extraídas foram: autor; ano; objectivo da revisão; número de estudos; intervalo de anos dos estudos incluídos; tipo dos estudos incluídos; tipos de participantes; bases de

dados pesquisadas; anos e data da pesquisa; método de comparação dos artigos incluídos; avaliação de viés e heterogeneidade; presença dos 27 itens de avaliação da *checklist* PRISMA; regiões anatómicas alteradas; o tipo de alteração; medidas estatísticas quantificadoras das alterações; e resultados qualitativos agregados.

Para as revisões com uma análise quantitativa do método de fMRI, foram tidas considerações de uniformização de resultados. Assim, independentemente da referência utilizada nas coordenadas encefálicas reportadas, esses valores foram convertidos para o nome da área encefálica em questão, sendo extraídas somente as estimativas ALE com o valor de p corrigido (Laird et al., 2009).

Avaliação da qualidade metodológica das revisões incluídas

As revisões incluídas foram avaliadas pela sua metodologia e qualidade da evidência apresentada, de acordo com a *checklist* PRISMA, constituída por 27 tópicos de avaliação, divididos em sete secções (Tabela 4-7) (Liberati et al., 2009; Moher et al., 2015).

Síntese dos resultados

Não sendo possível a apresentação dos resultados de forma quantitativa, os resultados foram conjugados para uma análise qualitativa (V. Smith et al., 2011, 2007, 2009; The Cochrane Collaboration, 2011).



3.4.2 Fase *Emergente*, segunda *personagem*: revisão do tipo *Scoping Review*

A escolha da segunda *personagem*, com os seus resultados no capítulo 5, deriva da interpretação de que a *crise* científica na PHDA estará associada à exploração exaustiva de paradigmas passados, ou de paradigmas que não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década. Foi procurado identificar uma área emergente do conhecimento científico que pudesse contribuir para a compreensão e para a etiologia da PHDA. Dada esta característica emergente, o volume de publicações não permite uma estruturação da evidência ao mesmo nível que a revisão anterior. Face a estas características foi necessário seleccionar o tipo de revisão que melhor correspondesse a este objectivo. Dentro das várias possibilidades (M. J. Grant & Booth, 2009; Munn et al., 2018; Samnani et al., 2017), foi seleccionada uma revisão do tipo *Scoping Review*. Este tipo de revisão corresponde a uma síntese do conhecimento que adopta uma pesquisa exploratória focada nos conceitos-chave, tipos de evidência e lacunas da investigação de uma área de estudo, através de uma pesquisa, selecção e síntese sistemática do conhecimento (Tabela 3-5) (Colquhoun et al., 2014). É

utilizada para uma avaliação preliminar do volume e âmbito da literatura, com o objectivo de identificar a essência e a extensão da evidência, podendo incluir resultados de investigações ainda a decorrer (Khalil et al., 2016). Esta revisão foi organizada com base nas recomendações descritas para este tipo de revisão (Colquhoun et al., 2014; Khalil et al., 2016). Às cinco etapas sugeridas foi acrescentada uma etapa preliminar, dada a necessidade prévia de identificar a área de estudo desta revisão.

Tabela 3-5 Caracterização da revisão do tipo *Scoping Review*

Revisão do tipo <i>Scoping Review</i>	
Descrição:	Revisão com avaliação preliminar do volume e âmbito da literatura disponível e com o objectivo de identificar a essência e extensão da evidência.
Método de pesquisa:	A pesquisa completa é determinada pelas limitações de tempo e âmbito. Pode incluir resultados de investigações ainda a decorrer.
Avaliação dos estudos:	Sem avaliação formal da qualidade.
Síntese dos resultados:	Em tabela ou por narrativa.
Análise dos resultados:	Caracteriza a quantidade e a qualidade da literatura por desenho de estudo ou por outros aspectos centrais, tentando construir uma revisão viável.

Tabela traduzida e adaptada (M. J. Grant & Booth, 2009).



3.4.2.1 Etapa preliminar: identificação da área de estudo

Com o objectivo de identificar uma área emergente, etiologicamente viável e relevante para a PHDA, foi realizada uma pesquisa electrónica inicial, sem limite de tempo, no dia 8 de Outubro de 2014, nas bases de dados *PubMed* e *Web of Science* utilizando respectivamente duas *queries*: *"("Pediatrics"[Mesh] OR "Psychiatry"[Mesh] OR "Neurodevelopmental Disorders"[Mesh] OR "Attention Deficit Disorder with Hyperactivity"[Mesh])"* e *"TS=(pediatric OR pediatrics OR children OR psychiatric OR psychiatry OR neurodevelopmental OR adhd)"*. Foram construídas *queries* que fornecessem uma visão ampla das publicações associadas à PHDA. Os resultados destas duas pesquisas foram importadas para o gestor de referências Mendeley (Mendeley Ltd., 2016) que permitiu excluir todas as referências duplicadas. Através do título e *abstract* foram acompanhadas as novas publicações com o objectivo de identificar áreas de estudo científicas emergentes e que pudessem contribuir para o entendimento da PHDA. Os resultados das duas *queries* foram actualizados semanalmente até ao dia 22 de Dezembro de 2016 em que foi tomada a decisão relativa à segunda *personagem* desta construção teórica.

Foram identificadas três áreas de estudo científico com grande desenvolvimento tecnológico na actualidade: 1) o estudo da farmacogenética; 2) o estudo de conectomas; e 3) o estudo do Microbioma Humano. Relativamente ao estudo dos conectomas foi interpretado que representa, actualmente, uma área demasiado vanguardista e detalhada do funcionamento cerebral para facilitar a compreensão da sua aplicação nas redes neurais do ser humano. Adicionalmente, apresenta um volume consideravelmente inferior de publicações, o que poderá resultar na falta de conceitos-chave para serem utilizados numa conceptualização teórica. A farmacogenética analisa a forma como os genes alteram a resposta a diferentes medicações. Os seus resultados apresentam coerência com o tema da primeira revisão desta tese e apontam para que a etiologia da PHDA vá mais além do que as catecolaminas (dopamina e noradrenalina) e que o funcionamento da PHDA deverá ser analisado de uma forma mais complexa (Bonvicini et al., 2016; Contini et al., 2013; Kambeitz, Romanos, & Ettinger, 2014; Krause, 2008; G. Polanczyk et al., 2005; G. Polanczyk, Bigarella, Hutz, & Rohde, 2010; Rohde, Zeni, Polanczyk, & Hutz, 2004; Sharma & Couture, 2014), no entanto, esta área de estudo ultrapassaria os limites conceptuais deste programa de doutoramento.

O estudo do Microbioma Humano é também resultante do recente desenvolvimento tecnológico de sequência genética, no entanto, a sua relação ocorre com o funcionamento dos sistemas corporais e não com o efeito farmacológico. Foi já considerada a hipótese de estar etiologicamente associado às Perturbações do Neurodesenvolvimento, como o caso da PEA, no entanto, não existe actualmente nenhuma publicação que demonstre explicitamente como pode estar ligado à etiologia da PHDA. Adicionalmente, a publicação dos principais resultados do estudo microbiano atinge o seu pico após 2013 (ano do início desta tese e da pesquisa inicial de catalogação), como resultado do Projecto do Microbioma Humano (do inglês, *Human Microbiome Project*), nos Estados Unidos da América (Human Microbiome Project Consortium, 2012; PubMed, 2010), e o Projecto Europeu Metagenómica do Tracto Intestinal Humano (do inglês, *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*) (PubMed, 2008). Surge em 2017 o primeiro estudo que identifica diferenças na constituição do microbioma intestinal entre participantes com PHDA e um grupo controlo representativo da normalidade, com possível ligação com o circuito de recompensa (Aarts et al., 2017). Assim, foi identificada evidência preliminar de que as alterações do Microbioma Humano pudessem estar relacionadas com a etiologia da PHDA, correspondendo ao centro teórico desta tese. Tendo em conta o estado recente desta área de estudo, esta revisão do tipo *Scoping Review* pretendeu identificar os conceitos-chave associados ao Microbioma Humano que pudessem ser utilizados na conceptualização teórica etiológica construída na Fase *Construtiva*, em conjunto com os conceitos relativos às áreas neuroanatômicas afectadas na PHDA.



3.4.2.2 Etapa 1: objectivo da investigação

Com esta revisão foi pretendido identificar os conceitos-chave, actualmente em vigor, da evidência do estudo científico do Microbioma Humano e expor os principais pressupostos que pudessem ser conceptualmente associados à etiologia da PHDA.



3.4.2.3 Etapa 2: identificação dos estudos incluídos

Após a pesquisa preliminar, foi realizada uma segunda pesquisa electrónica inicial, sem limite de tempo, no dia 22 de Dezembro de 2016 (Bartels, 2013; The Cochrane Collaboration, 2011). Foram utilizadas as bases de dados *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science* utilizando respectivamente três *queries*: "(*Gastrointestinal Microbiome*)[Mesh] OR *Microbiota*[Mesh]", "(TITLE-ABS-KEY ("human microbiome")) OR (TITLE-ABS-KEY ("human microbiota")) OR (TITLE-ABS-KEY ("gastrointestinal microbiome"))" e "TS=(*human microbiome* OR *human microbiota* OR *gastrointestinal microbiome*)". Os resultados destas três pesquisas foram importadas para o gestor de referências Mendeley (Mendeley Ltd., 2016) que permitiu excluir as referências duplicadas. Através do título e *abstract* foram seleccionadas as publicações que pudessem ser relevantes para o tema, sendo sujeitas a leitura integral. Adicionalmente, até ao dia 16 de Abril de 2017, foram incluídas publicações identificadas através das referências bibliográficas dos estudos lidos e do refinamento da pesquisa inicial. Posteriormente a essa data, e até ao dia 4 de Abril de 2018, apenas foram consideradas para leitura as novas publicações que fossem especificamente referentes à PHDA e adicionassem relevância para esta construção teórica.



3.4.2.4 Etapa 3: selecção dos estudos incluídos

Tendo em conta a fase inicial da evidência, foram consideradas para inclusão todas as publicações de jornais de carácter científico e que estivessem redigidas em inglês, castelhano, português, francês ou italiano. Dessa forma, para abranger o máximo de publicações para consideração, não foi utilizada uma avaliação formal da qualidade e nenhum critério de exclusão relativamente à metodologia utilizada nos estudos. No entanto, foi estabelecida a prioridade de leitura das revisões e dos estudos resultantes dos Projectos do Microbioma Humano. As referências bibliográficas destas primeiras publicações lidas permitiram estipular a prioridade de leitura dos estudos já incluídos na pesquisa inicial e, pontualmente, de estudos adicionais.



3.4.2.5 Etapa 4: extracção da informação

Dada a flexibilidade associada à pesquisa exploratória e à organização expositiva necessária, não foram tabelados os estudos incluídos. Nas publicações sujeitas a leitura integral, pela heterogeneidade da sua tipologia, foi extraída a informação relativa ao enquadramento,

metodologia, resultados, ideias-chave da conclusão e conceitos associados. Esta informação foi utilizada na descrição dos conceitos-chave associados ao Microbioma Humano.



3.4.2.6 Etapa 5: agregação dos resultados

Não sendo possível a apresentação quantitativa, os resultados foram conjugados numa exposição qualitativa e estruturados de forma a demonstrar o estado actual do estudo científico do Microbioma Humano. A descrição foi construída de forma a realizar uma transição progressiva desde os conceitos abrangentes microbiológicos até à relação com a saúde e doença do ser humano. Foi procurado adoptar uma organização em dois principais subcapítulos que reflectam os conceitos-chave associados ao Microbioma Humano saudável.



3.4.3 Fase *Construtiva*: conceptualização

O capítulo 6 representa a construção teórica da ligação etiológica entre a PHDA e o Microbioma Humano. O *arco narrativo* corresponde à construção literária da teoria e que culmina com a explicação total da conceptualização criada (Shepherd & Suddaby, 2016). Tendo em conta que uma teoria tem como objectivo organizar a informação, mas deve, também, comunicar claramente através de uma explicação coerente do fenómeno (Shepherd & Suddaby, 2016), a linha de escrita desta tese procurou conduzir o leitor fluidamente até à conclusão final.

Após atender aos rigorosos requisitos metodológicos de uma teoria, a conceptualização assentou em coerência, respeitando a principal característica de uma construção teórica (Shepherd & Suddaby, 2016). Foi nesta Fase *Construtiva* que esta tese desenvolveu os conceitos que constituem uma teoria, expostos em 11 argumentos, dos argumentos A ao K, suportados em coerência científica, assente nos princípios de construção de teorias e com base nas principais directrizes, nomenclatura, formulação de perguntas de pesquisa e métodos revistos utilizados na construção de teorias científicas relevantes (Alvesson & Kärreman, 2007, 2011; Alvesson & Sandberg, 2013; Carpiano & Daley, 2006; Fawcett & Downs, 1986; Karreman & Levay, 2017; D. L. Morgan, 2018; J. Sandberg & Alvesson, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016).

Respeitando que deve ser mantida uma abordagem ampla (Boxenbaum & Rouleau, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016), foi realizada uma construção progressiva da coerência, desde a ligação conceptual entre o Microbioma Humano e o Sistema Nervoso, até à estreita ligação entre o Microbioma Humano e a etiologia da PHDA. Assim, a Fase *Construtiva* relaciona os dois núcleos mais consistentes dos dois temas a serem conceptualmente ligados: as

alterações neuroanatômicas, relativamente à PHDA, e o microbioma intestinal, relativamente ao Microbioma Humano.

Vários argumentos sustentaram a viabilidade de uma construção teórica que relacionasse estas duas *personagens*:

- as teorias devem procurar um equilíbrio entre a continuidade, representada pela literatura do conhecimento existente, e a novidade, representada pelo conhecimento emergente de novas observações empíricas (Shepherd & Suddaby, 2016). Esta característica é coerente com as duas principais *personagens* disponíveis: 1) as alterações neuroanatômicas, a principal área de estudo etiológico da PHDA; e 2) a novidade científica do Microbioma Humano;

- as teorias de *Identificação de Lacunas* devem optar por utilizar conceitos-chave existentes em vez de criar novas ideias de raiz a serem utilizadas (Boxenbaum & Rouleau, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese foi respeitada esta sugestão pela escolha das duas áreas mais estudadas na PHDA e no Microbioma Humano, respectivamente, a área etiológica neuroanatômica e o microbioma intestinal.

- as construções teóricas devem utilizar conceitos centrais no conhecimento do investigador (Boxenbaum & Rouleau, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese correspondendo à neuroanatomia e Biologia;

- as construções teóricas representam os trabalhos mais dependentes de reflexão, abstração e tempo de trabalho (Shepherd & Suddaby, 2016). Dada a possibilidade da utilização de cinco matrículas, no âmbito deste programa de doutoramento, existiam condições de tempo para a elaboração desta conceptualização podendo ser priorizada a complexidade e a extensão da informação utilizada e criada;

- os conceitos a serem utilizados nas teorias de *Identificação de Lacunas* devem seleccionar a informação com base na sua coerência (Boxenbaum & Rouleau, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese foi representada na escolha da utilização do Microbioma Humano uma vez que, apesar da ligação preliminar à PHDA, já apresenta ligação à PEA, Perturbação Depressiva, Doença de Alzheimer, entre outras.

Na construção desta ligação entre o Microbioma Humano e a etiologia neuroanatômica da PHDA foi procurado obedecer às várias estratégias frequentemente utilizadas (Shepherd & Suddaby, 2016):

- variações ontológicas, em que foram conceptualizados os argumentos na sua essência. Foram representadas pela análise biológica do ser humano como um *organismal* dependente das relações microbianas e pelo enquadramento do ser humano no cenário evolutivo;

- variações de complexidade na utilização dos conceitos, de forma a criar proposições e hipóteses. Foram representadas pelos 11 argumentos cujo nível de complexidade varia entre um nível muito baixo e um nível muito alto;

- variações temporais da análise empírica, de forma a cruzar a evidência passada com a mais recente. Foram representadas pela conceptualização entre as ligações geológicas, antropológicas e biológicas;

- e o cruzamento a vários níveis de análise, de forma a facilitar a mudança de paradigmas. A conceptualização, com as suas variações de complexidade e interligação entre os seus 11 argumentos, representa, por si só, uma tentativa da criação de um novo paradigma (Shepherd & Suddaby, 2016).

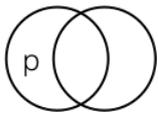


3.5 Conclusão do capítulo

Este capítulo representa o final da primeira Parte A, com a descrição da metodologia associada. Foram fundamentadas as escolhas que determinaram que este trabalho seguisse uma perspectiva assente no Pragmatismo, com um desenho de investigação de Métodos Mistos, aplicados em duas fases, *Emergente* e *Construtiva*, de forma a dar resposta às perguntas de investigação de *Identificação de Lacunas*. De uma forma geral, a conjugação de dois temas com uma grande assimetria de evidência ditou as escolhas tomadas e resultaram num trabalho que pretende ser uma teoria descritiva. Apesar de não ser contemplada uma fase *Confirmatória* foi tentado, sempre que possível, atingir um nível relacional que possa dar suporte a investigações confirmatórias e experimentais.

Assim, a metodologia desta tese foi traçada de forma a representar os primeiros passos da primeira Teoria que conceptualiza como os factores ambientais influenciam o sistema digestivo e alteram o microbioma intestinal, que através do sistema imunológico, provocam alterações no sistema neurológico, coerentes com as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA.

Parte B - Fase
Emergente:
estruturação com
revisões



4 Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas das diferenças neuroanatômicas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Vieira de Melo, B. B., Trigueiro, M. J., & Rodrigues, P. P. (2018). Systematic overview of neuroanatomical differences in ADHD: Definitive evidence. Developmental Neuropsychology, 43(1), 52–68. <https://doi.org/10.1080/87565641.2017.1414821>

O estudo neuroanatômico é uma das áreas mais estudadas na PHDA nas últimas décadas, dando suporte a vários modelos e teorias que contemplam alterações neurais específicas. O progresso dos vários métodos de diagnóstico tem ampliado a evidência desta área, o que resulta num volume de publicações que ascende a mais de cem revisões. Isto acresce a importância desta área na compreensão etiológica da PHDA e permite responder à pergunta de investigação sobre os principais conceitos-chave etiológicos da PHDA.

Assim, dado este volume de informação, já no nível de revisões, foi pretendido identificar as diferenças neuroanatômicas observadas na PHDA através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas que reportassem diferenças no volume, área, probabilidade de activação e composição química. Foi realizada de acordo com as rigorosas directrizes *Cochrane* (The Cochrane Collaboration, 2011) e representa, actualmente, o nível máximo de



evidência nesta área, sendo inovador no estudo da PHDA pela sua metodologia e nível de evidência.



4.1 Resultados

O resumo do processo de selecção encontra-se representado na Figura 4-1.

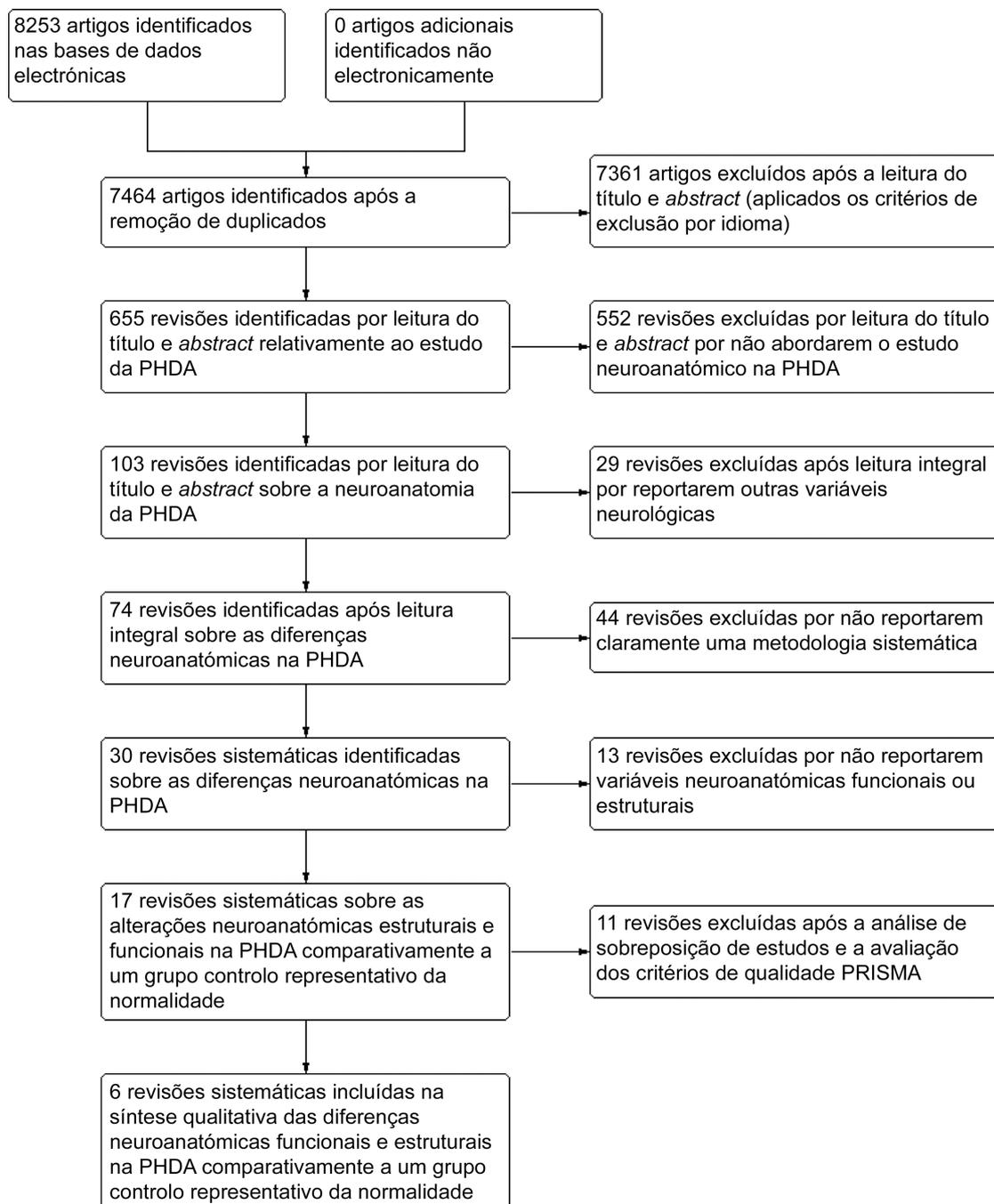


Figura 4-1. Fluxo de inclusão de estudos

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção; PRISMA *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*.

Figura original (The Cochrane Collaboration, 2014).





A pesquisa nas bases de dados identificou 8253 artigos. Através do gestor de referências foram excluídos os duplicados, resultando em 7464 artigos. Pela leitura do título e *abstract* foram identificadas 655 revisões referentes à PHDA, sendo excluídas as restantes por não serem revisões e pelo idioma utilizado. Através da leitura integral, foram identificadas 103 revisões relativas à área de neurologia na PHDA, sendo 74 referentes a alterações neuroanatômicas na PHDA e, destas, 30 eram Revisões Sistemáticas com uma avaliação estrutural ou funcional por CT, ERP, EEG, PET, SPECT, fMRI, MRI, MRI-VBM, MRI-DTI, MRI-DTI-TBSS, MRS, fNIRS, TMS e rs-fcMR. Foram excluídas as revisões que apresentassem metodologia pouco clara na sua pesquisa, recolha e análise. Destas, 17 revisões foram elegidas por apresentarem um objectivo em comum: identificar as diferenças neuroanatômicas, entre a PHDA e um grupo controlo, através de uma avaliação estrutural ou funcional (Aoki et al., 2013; L. Chen et al., 2016; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein, Bannon, Xavier Castellanos, & Milham, 2006; Durston, de Zeeuw, & Staal, 2009; Ellison-Wright, Ellison-Wright, & Bullmore, 2008; Hart, Radua, Mataix-Cols, & Rubia, 2012; Hart, Radua, Nakao, Mataix-Cols, & Rubia, 2013; Hutchinson, Mathias, & Banich, 2008; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Paloyelis et al., 2007; Perlov et al., 2009; A. E. Spencer et al., 2014; Tannock, 1998; Valera, Faraone, Murray, & Seidman, 2007; van Ewijk, Heslenfeld, Zwiers, Buitelaar, & Oosterlaan, 2012).

Será de seguida exposto o processo de tomada de decisão relativamente à selecção das revisões a serem incluídas nesta revisão. Como resultado deste processo, foram incluídas seis Revisões Sistemáticas, correspondendo a um total de 145 estudos individuais, um intervalo de tempo entre 1990-2015, com o uso de MRI, MRI-VBM, fMRI, MRS e MRI-DTI-TBSS e mais de 4414 participantes.



4.1.1 Processo de tomada de decisão para exclusão das revisões analisadas

As 17 revisões elegidas pelo seu objectivo comum, compreendiam avaliações realizadas por MRI (com VBM e DTI-TBSS), fMRI e MRS. No início deste processo foram sujeitas à análise da sobreposição dos estudos incluídos (Tabela 4-6) e da avaliação da sua qualidade de acordo com os critérios PRISMA (Tabela 4-7).

Com esta contagem da sobreposição de estudos foi pretendido, acima de tudo, não utilizar estudos repetidos, priorizando a qualidade máxima das revisões, mesmo que para o cumprimento desse objectivo alguns estudos não fossem abrangidos. Dos 191 estudos totais utilizados nas 17 revisões com objectivo comum, 46 não serão integrados nesta revisão, pela exclusão, total ou parcial, da revisão respectiva.

A exclusão de 8 das 17 revisões, dividiu-se em três decisões: revisões com método de avaliação MRI, fMRI e MRS. Contribuiu também para estas decisões, a qualidade da revisão, de acordo com os critérios PRISMA.



4.1.1.1 Critérios usados no processo de tomada de decisão para exclusão das revisões analisadas

As decisões tomadas realizaram-se de acordo com os critérios:

- para o mesmo método de avaliação (MRI, fMRI ou MRS), foram incluídas as revisões que apresentassem na sua análise estudos não incluídos noutras revisões;

- com sobreposição de estudos, foram priorizadas as revisões que realizassem uma análise quantitativa, comparativamente à análise qualitativa ou somente descritiva dos estudos analisados;

- e para o mesmo tipo de análise, foram priorizadas as revisões que apresentassem melhor avaliação pelos critérios PRISMA.

As revisões que apresentavam resultados quantitativos utilizavam a totalidade dos estudos da sua amostra. Nesse sentido, essas revisões foram incluídas ou não. No entanto, caso uma revisão quantitativa utilizasse os estudos com sobreposição com outra revisão, mas realizasse uma análise com a procura de outro resultado, então foi incluída nesta revisão (revisões que apresentam o símbolo “o” na Tabela 4-6).

No caso das revisões com apresentação de resultados qualitativa, existiu a possibilidade de fragmentar os seus resultados e utilizar somente os estudos que são exclusivos a essa mesma revisão. Caso isso fosse possível, a revisão foi incluída, sendo sinalizada, igualmente, com o símbolo “o” na Tabela 4-6. No entanto, foram apresentados os resultados destes estudos somente se apresentassem um resultado conjugado entre, pelo menos, três estudos. Ou seja, revisões em que foi possível aceder ao resultado dos seus estudos exclusivos analisados, mas apresentassem resultados entre somente um ou dois estudos, não foram apresentados nos resultados desta revisão.

Outros critérios específicos serão referidos na exclusão de cada revisão mencionada de seguida.



4.1.1.2 Exclusão de revisões com o método de Imagem por Ressonância Magnética

Seis revisões utilizavam a MRI como método de diagnóstico, o que permite resultados estruturais, de volume ou área, das diferenças entre a PHDA e o grupo controlo (L. Chen et al., 2016; Durston et al., 2009; Ellison-Wright et al., 2008; Tannock, 1998; Valera et al., 2007; van Ewijk et al., 2012).



Foi excluída a revisão realizada em 1998 por Tannock (Tannock, 1998) por apresentar sobreposição dos seus estudos com a revisão quantitativa de 2007 (Valera et al., 2007), dos quatro estudos que apresenta exclusivos, dois apresentam amostra com comorbilidade e um apresenta uma amostra pouco clara, e apresenta poucos critérios de qualidade PRISMA.

Foi excluída a revisão de 2008 (Hutchinson et al., 2008) por apresentar sobreposição total com a revisão de 2007 (Valera et al., 2007), obter dos estudos somente a avaliação relativa ao corpo caloso, obtendo os mesmo resultados que a revisão de 2007 (Valera et al., 2007) e por apresentar menos critérios PRISMA.

Foi excluída a revisão de 2012 (van Ewijk et al., 2012) por apresentar na sua análise quantitativa uma sobreposição parcial com a revisão de 2016 (L. Chen et al., 2016), que apresenta igualmente análise quantitativa, mas com mais estudos, participantes e critérios PRISMA.

A revisão de 2009 (Durston et al., 2009) foi incluída parcialmente nesta revisão. Apesar de apresentar sobreposição parcial com a revisão quantitativa de 2007 (Valera et al., 2007) e apresentar menos critérios PRISMA, apresenta 21 estudos exclusivos com resultados apresentados em tabela comparativa. Desta forma, os resultados obtidos em pelo menos três estudos foram recolhidos para a tabela resultados (Tabela 4-11). Por este mesmo critério, não foram utilizados quaisquer resultados dos seus estudos exclusivos que utilizem o método de avaliação fMRI.



4.1.1.3 Exclusão de revisões com o método de Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear

Três revisões utilizam o método de diagnóstico por MRS, que permitiu identificar alterações na composição química de zonas neuroanatômicas, comparativamente à PHDA e ao grupo controlo (Aoki et al., 2013; Perlov et al., 2009; A. E. Spencer et al., 2014).

Foi excluída a revisão de 2009 (Perlov et al., 2009). Comparativamente à revisão de 2013 (Aoki et al., 2013), ambas apresentam seis artigos exclusivos e dez partilhados. Destes dez partilhados, oito são utilizados por Perlov (Perlov et al., 2009) na sua análise quantitativa, o que representa uma sobreposição total com a revisão de 2013 (Aoki et al., 2013), mas que apresenta mais critérios PRISMA. Os seis exclusivos, utilizados em análise qualitativa, não apresentam resultados conjugados em pelo menos três estudos.

Foi excluída a revisão de 2014 (A. E. Spencer et al., 2014) por apresentar sobreposição dos seus estudos com a revisão de 2013 (Aoki et al., 2013), que apresenta mais quantidade de critérios PRISMA. Os seus três estudos exclusivos avaliam regiões diferentes, sendo assim excluídos.



4.1.1.4 Exclusão de revisões com o método de Imagem por Ressonância Magnética Funcional

Oito revisões utilizam o método de diagnóstico por fMRI, o que permite obter informação da diferença de activação em locais neuroanatômicos, entre a PHDA e o grupo controlo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006; Hart et al., 2012, 2013; Hutchinson et al., 2008; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Paloyelis et al., 2007).

A grande sobreposição de estudos entre as várias revisões impossibilita a aplicação dos critérios de forma tão simples, como realizado anteriormente. Duas revisões apresentam os seus resultados qualitativamente, em tabela comparativa. Uma dessas revisões é excluída (Paloyelis et al., 2007). A outra (Durstun et al., 2009), referida já anteriormente, é parcialmente incluída pelos resultados relativos ao método MRI.

As restantes seis revisões, apresentam os seus resultados quantitativamente com múltiplas combinações na agregação de resultados. Por esta grande variedade, foi necessário identificar qual o foco dos resultados de cada uma das revisões quantitativas (Tabela 4-8).

Relativamente à revisão de Cortese et al., (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012), pela maior qualidade PRISMA e agregação de estudos incluídos, realizando igualmente análises específicas, foi considerado prioritário perante os restantes. Foi assim incluída a totalidade dos seus resultados nesta revisão.

Pela sobreposição de objectivos foram excluídas as revisões de 2006 e 2015 (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015). Os resultados das restantes revisões (Hart et al., 2012, 2013; McCarthy et al., 2014) foram excluídos por apresentarem resultados em tarefas específicas já incluídas no objectivo geral das funções executivas, evitando assim a duplicação de resultados. No entanto, os seus resultados serão referenciados posteriormente para compreender o padrão das alterações nas tarefas específicas, sendo considerados sub-resultados dos resultados obtidos por fMRI.

Para evitar a sobreposição de resultados nas revisões incluídas, quando os mesmos estudos são agrupados de forma diferente para obter outros resultados (crianças, crianças e adolescentes, crianças e adultos ou adultos), será escolhido somente o grupo com maior quantidade de estudos incluídos. Os restantes resultados serão utilizados apenas na abordagem descritiva.



4.1.1.5 Descrição das revisões excluídas

As Tabelas Suplementares 4-9 e 4-10 resumizam as revisões excluídas após o processo de tomada de decisão descrito.





4.1.2 Descrição das revisões incluídas

Foram assim incluídas as revisões descritas nas Tabelas 4-1 e 4-2.

Tabela 4-1. Sumário das revisões incluídas

Autores da revisão e ano de publicação	Objectivo da revisão	Número total de estudos incluídos na revisão (número por método de avaliação)	Intervalo de anos dos estudos incluídos na revisão	Número total de participantes (número por método de avaliação)
Valera et al. (2007)	Identificar as diferenças no volume e área estrutural, entre crianças com PHDA e a normalidade.	21 MRI	1990-2004	1163 MRI
Ellison-Wright et al. (2008)	Identificar as alterações estruturais de matéria cinzenta encefálica em crianças com PHDA comparativamente à normalidade.	6 MRI-VBM	2001-2007	257 MRI-VBM
Durston et al. (2009)	Identificar alterações estruturais, funcionais e genéticas em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade.	86 (45 MRI; 41 fMRI)	1991-2009	Não reportado
Samuele Cortese et al. (2012)	Identificar diferenças neuroanatômicas funcionais entre crianças e adultos com PHDA, crianças com PHDA e adultos com PHDA e comparativamente à normalidade na generalidade das tarefas das funções executivas, tarefas inibitórias, memória de trabalho e atenção.	55 fMRI	2005-2011	1542 fMRI
Aoki et al. (2013)	Identificar alterações na composição química nas regiões anatómicas encefálicas entre crianças e adultos com PHDA e a normalidade e a relação com a idade.	16 MRS	2001-2010	505 MRS
Chen et al. (2016)	Identificar alterações na matéria branca em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade através de MRI-DTI-TBSS.	10 MRI-DTI-TBSS	2009-2015	947 MRI-DTI

Legenda: DTI *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão; fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional; MRI *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética; MRS *Magnetic Resonance Spectroscopy*, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; TBSS *Tract-Based Spatial Statistics*, Estatística Espacial Baseada em Tractos; VBM *Voxel-Based Morphometry*, Análise de Morfometria *voxel a voxel*.

(Aoki et al., 2013; L. Chen et al., 2016; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Durston et al., 2009; Ellison-Wright et al., 2008; Valera et al., 2007).



Tabela 4-2. Resumo dos critérios de qualidade das revisões incluídas

Autores da revisão e ano de publicação	(i) Tipo de estudos; (ii) tipos de participantes	Base(s) de dados pesquisada(s); anos de publicação pesquisados: data da pesquisa	Comparação dos estudos incluídos	Avaliação do viés de publicação	Avaliação de heterogeneidade
Valera et al. (2007)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças vs. controlos	<i>PubMed</i> e <i>PsycINFO</i> : sem limite: Janeiro de 2005	Tabela comparativa	Avaliado estatisticamente	Avaliado estatisticamente
Ellison-Wright et al. (2008)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças vs. controlos	<i>PubMed</i> : sem limite: Março 2008	Análise ALE	Não reportado	Não reportado
Durston et al. (2009)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças e adultos vs. controlos	<i>PubMed</i> e <i>ISI Web of Science</i> : não reportado: não reportado	Tabela comparativa	Não reportado	Não reportado
Samuele Cortese et al. (2012)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos; PHDA crianças vs. controlos; PHDA adultos vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>PsycINFO</i> , <i>Ovid Medline®</i> , <i>Embase</i> , <i>Web of Science</i> , <i>Eric</i> , <i>Cinhal</i> e <i>NeuroSynth</i> : 2005-2011: Junho 2011	Tabela comparativa; análise ALE	Não reportado	Não reportado claramente
Aoki et al. (2013)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>Medline</i> , <i>Embase</i> e <i>Web of Science</i> : 1980-2012: não reportado	Tabela comparativa; medida de efeito	Avaliado estatisticamente	Avaliado estatisticamente
Chen et al. (2016)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>Web of Science</i> , <i>Embase</i> , <i>EBSCO</i> , <i>Clinical Key</i> e bases de dados <i>Science Direct</i> : até Outubro 2015: não reportado	Tabela comparativa; análise ALE	Não reportado claramente	Não reportado

Legenda: ALE *Activation Likelihood Estimation*; PHDA *Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção*.

(Aoki et al., 2013; L. Chen et al., 2016; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Durston et al., 2009; Ellison-Wright et al., 2008; Valera et al., 2007).



4.1.3 Qualidade metodológica das revisões incluídas

Com a metodologia sistemática desta revisão, a conjugação dos critérios de inclusão procurando revisões igualmente sistemáticas, os critérios usados no processo de tomada de decisão e os critérios PRISMA foi procurado assegurar a qualidade máxima das revisões e dos resultados incluídos. Esse resultado poderá ser observado pelo número de critérios observados nas revisões incluídas (Tabela 4-7) com uma média de 20 critérios, em 25

possíveis, nas cinco revisões com resultados totais incluídos, e uma média de 18 critérios contabilizando com a inclusão de uma revisão adicional com resultados parciais.

Assim, foi procurado minimizar as limitações metodológicas associadas ao processo sistematizado de uma revisão. Individualmente cada Revisão Sistemática apresenta limitações vinculadas aos seus estudos incluídos, principalmente na heterogeneidade entre estudos, na pouca reprodutibilidade dos métodos utilizados, na variação entre os critérios de inclusão da amostra e na metodologia isolada entre cada método de imagem.



4.1.4 Diferenças neuroanatômicas observadas

A Tabela 4-3 resume as principais diferenças neuroanatômicas observadas. Os resultados detalhados encontram-se nas Tabelas Suplementares 4-11, 4-12 e 4-13.

Tabela 4-3 Principais diferenças neuroanatômicas observadas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

- Diminuição do volume total cerebral, mais especificamente no hemisfério direito, lobos frontal e parietal, núcleos da base, globo pálido, corpo caloso e cerebelo;
- Hipoactivação frontal, mais especificamente nos giros pré-central, medial e inferior frontal;
- Níveis aumentados de NAA no córtex pré-frontal medial;
- Diminuição dos valores de anisotropia fraccional na matéria branca do corpo caloso;
- Outras regiões encefálicas são consistentemente identificadas com padrões de activação parcialmente consistentes, como o córtex cingulado, ínsula, núcleos da base e lobos parietal, temporal e occipital.

Legenda: NAA N-Acetilaspártato.

Tabela original.

4.1.4.1 Diferenças neuroanatômicas observadas em crianças

A Tabela Suplementar 4-11 apresenta detalhadamente as alterações identificadas em crianças com PHDA, comparativamente a um grupo controlo representativo da normalidade.

Alterações estruturais identificadas: relativamente a crianças com PHDA, são identificadas alterações em várias regiões anatómicas. Em termos estruturais, é observada uma diminuição do volume total cerebral (Durston et al., 2009; Valera et al., 2007), mais especificamente no hemisfério direito (Valera et al., 2007) e lobo frontal (Durston et al., 2009). No lobo parietal a diminuição de volume é atribuída à menor espessura cortical (Durston et al., 2009). Noutras regiões encefálicas é também observado menor volume. Nos núcleos da base, no corpo estriado, é observado um menor volume do núcleo caudado direito (Durston et al., 2009; Valera et al., 2007) e do putâmen (Ellison-Wright et al., 2008). No globo pálido é igualmente observado menor volume à direita (Ellison-Wright et al., 2008). No corpo caloso é observado menor



volume no esplénio (Valera et al., 2007). No cerebelo é observado menor volume nos hemisférios esquerdo e direito, assim como no vérmis (Valera et al., 2007).

Alterações funcionais identificadas: em termos funcionais é observado um padrão de hipoactivação do lobo frontal na área motora suplementar (BA 6), do giro frontal superior e medial bilateralmente (BA 6, 9 e 46) e dos sulcos pré-central e frontal inferiores direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). É observada alteração de funcionalidade nos restantes lobos cerebrais, no entanto, não de forma tão generalizada e uniforme. No lobo parietal é observado um padrão de hipoactivação na região inferior direita (BA 40) e giro pós-central direito e hiperactivação no giro angular direito e sulco subparietal direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). No lobo temporal é identificada hipoactivação no giro temporal superior direito (BA 22) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). No lobo occipital é observada hiperactivação do giro occipital medial direito (BA 19) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

Os diferentes padrões de activação são observados com maior frequência nas regiões do córtex cingulado, insular e nos núcleos da base. Na região do córtex cingulado são observados padrões de hipoactivação no giro paracingulado bilateral (BA 32) e hiperactivação na região posterior e medial direita (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). No córtex insular é observada hiperactivação na matéria branca subopercular direita (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). Nos núcleos da base é observada alteração funcional no putâmen, com padrão de hipoactivação bilateral (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

Alterações de constituição química identificadas: a revisão incluída (Aoki et al., 2013) reporta os seus resultados de forma combinada entre crianças e adultos estando nesse subcapítulo expostos os seus resultados.

4.1.4.2 Diferenças neuroanatômicas observadas em adultos

A Tabela Suplementar 4-12 apresenta detalhadamente as alterações identificadas em adultos com PHDA, comparativamente a um grupo controlo representativo da normalidade.

Alterações funcionais identificadas: relativamente a adultos com PHDA são identificadas alterações funcionais nas regiões cerebrais frontal, parietal e occipital. No lobo frontal é observada hipoactivação do sulco central e giros pré-central e frontal medial direitos (BA 10) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

Alterações de constituição química identificadas: a revisão incluída (Aoki et al., 2013) reporta os seus resultados de forma combinada entre crianças e adultos estando nesse subcapítulo expostos os seus resultados.



4.1.4.3 Diferenças neuroanatômicas observadas em crianças e adultos

A Tabela Suplementar 4-13 apresenta detalhadamente as alterações identificadas em crianças e adultos com PHDA, comparativamente a um grupo controlo representativo da normalidade.

Alterações estruturais identificadas: relativamente a adultos e crianças com PHDA são observadas alterações estruturais no lobo occipital e corpo caloso, no esplénio e tapete, com diminuição dos valores de anisotropia fraccional (L. Chen et al., 2016). Nenhuma das restantes revisões apresenta resultados relativamente a alterações estruturais por MRI, com análise quantitativa composta por crianças e adultos.

Alterações de constituição químicas identificadas: em termos de constituição química são observados níveis aumentados de NAA no córtex pré-frontal medial (Aoki et al., 2013). Nenhuma das restantes revisões apresenta resultados relativamente a alterações de constituição neuroquímica por MRS, com análise quantitativa composta por crianças e adultos.

Alterações funcionais identificadas: relativamente a alterações funcionais, a revisão de Cortese et al. (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012) apresenta resultados agregados com crianças a adultos, no entanto, tendo em conta o menor tamanho da amostra com adultos, foram expostos na tabela somente os resultados com crianças.



4.2 Discussão

A conjugação de diferentes metodologias de avaliação neuroanatômica estrutural, funcional e de composição química permitiu demonstrar o envolvimento de várias estruturas encefálicas. Dentro das variações, tanto de resultados como de metodologia de avaliação, foi observado um padrão de hipoativação frontal, com alterações funcionais no córtex cingulado e estruturais no corpo caloso, cerebelo e núcleos da base (Figura 4-2).

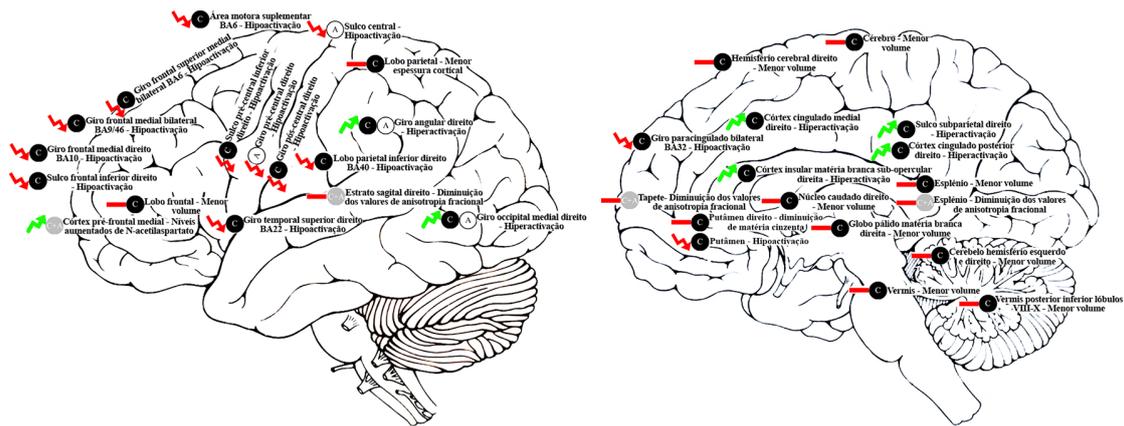


Figura 4-2. Diferenças neuroanatômicas observadas em crianças, adultos e crianças e adultos com Perturbação de Hiperatividade e Déficit de Atenção

Legenda: "A" Adultos; BA *Broadmann Area*, Área de Broadmann; "C" Crianças; "C+A" Crianças e adultos.

Figura original (Adobe Systems Incorporation, 2015, 2017).

Os níveis metabólicos podem indicar uma implicação da rede de modo padrão e fronto-parietal de controlo cognitivo

Relativamente aos níveis metabólicos químicos, na revisão incluída foi somente observado um aumento significativo dos níveis de NAA no córtex pré-frontal medial. Dada a incerteza do seu significado, importa enquadrar a sua interpretação. O NAA é sintetizado do aspartato e acetilcoenzima A na mitocôndria dos neurónios, à semelhança do N-Acetilaspártatilglutamato (NAAG). Ambos são libertados pelo neurónio no fluído extracelular após a sua estimulação. O NAAG tem como alvo os receptores nos astrócitos, onde é hidrolisado de volta a NAA, juntando-se ao NAA inicialmente libertado e sendo ambos hidrolisados nos oligodendrócitos nas membranas. O NAAG serve assim como um mecanismo de homeostasia no sistema neuronal e vascular, mantendo a capacidade de os neurónios obterem energia. Desta forma, o NAA e NAAG são substâncias metabolicamente ligadas e sintetizadas nos neurónios de acordo com o seu nível de utilização de glucose. Por esta razão, os estudos que reportam os níveis de NAA muitas vezes reportam os níveis da soma entre NAA e NAAG em que é



principalmente reconhecido que os valores de NAA reflectem o estado de activação das regiões (Aoki et al., 2013). Com base nesta interpretação, o valor elevado de NAA no córtex pré-frontal é incoerente com os resultados de hipoactivação frontal, através de fMRI. No entanto, noutra revisão incluída com resultados de fMRI foi referenciado o estado de hiperactivação no córtex pré-frontal medial em repouso, em indivíduos com PHDA (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). Uma vez que os participantes são avaliados em repouso por MRS, estes níveis elevados de NAA no córtex pré-frontal medial podem reflectir este mesmo estado de hiperactivação em repouso.

Numa análise específica da avaliação em repouso por fMRI na PHDA (J. Posner, Park, & Wang, 2014), estas variações de actividade surgiram associadas às redes de modo padrão e de controlo cognitivo fronto-parietal (Cole & Schneider, 2007; Harding, Yücel, Harrison, Pantelis, & Breakspear, 2015; J. Posner et al., 2014). A rede de modo padrão inclui a região do pré-cúneo e os córtices cingulado posterior, pré-frontal medial e parietal inferior (J. Posner et al., 2014; Yeo et al., 2011), enquanto a rede de controlo cognitivo é constituída pelo córtex cingulado anterior dorsal, área motora suplementar, córtex pré-frontal dorsal lateral, junção frontal inferior e córtices insular anterior e parietal posterior (Cole & Schneider, 2007; Harding et al., 2015; J. Posner et al., 2014) (Figura 4-3).

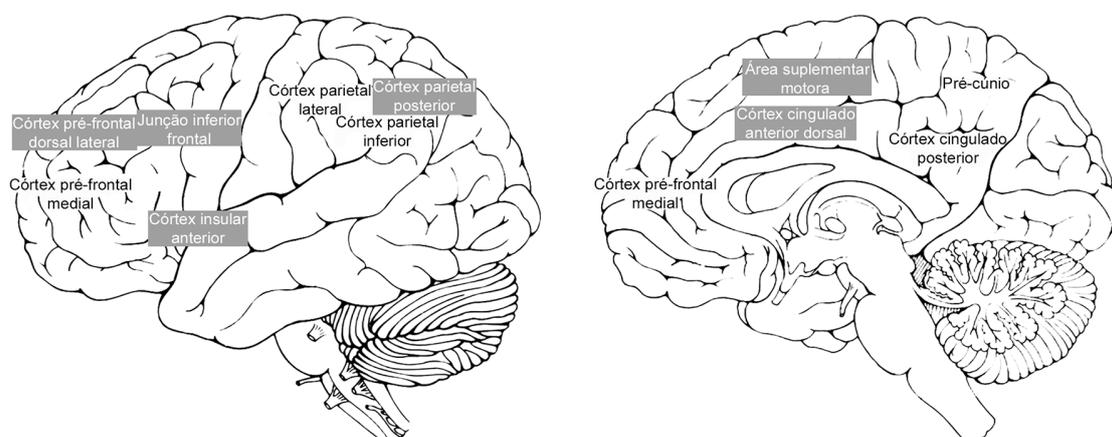


Figura 4-3. Redes de modo padrão e de controlo cognitivo fronto-parietal

A rede de modo padrão está escrita a cinzento, enquanto a rede de controlo cognitivo fronto-parietal está escrita em branco com fundo cinzento.

Figura original (Adobe Systems Incorporation, 2015, 2017).

Estas duas redes funcionam de forma oposta em relação às exigências do nível de atenção. À medida que as exigências exteriores de atenção vão aumentando, a rede de controlo cognitivo, que está envolvida em processos complexos cognitivos, como a memória de trabalho e mudanças de tarefa, encontra-se progressivamente mais activada, enquanto a activação diminui na rede de modo padrão, que está envolvida em processos de pensamento abstracto divagante e não centrado em tarefas.

Os níveis aumentados de NAA não são convergentes com a possível redução destes níveis observados qualitativamente por Perlov et al., nem com as consequentes interpretações de

que a PHDA pode apresentar sinais de disfunção neuronal no córtex pré-frontal (Perlov et al., 2009) e um subdesenvolvimento dos processos neuronais e nas sinapses das regiões que envolvem a atenção (Perlov et al., 2009; Stanley et al., 2006). Adicionalmente, a revisão de Perlov et al. apresenta resultados quantitativos com um aumento significativo dos níveis de colina no estriado esquerdo e lobo frontal direito em crianças e no córtex cingulado anterior bilateralmente em adultos (Perlov et al., 2009). Os níveis de colina podem reflectir o *turn-over* das células das membranas, podem estar relacionados com substâncias que contêm colina e estão envolvidas no metabolismo energético e podem reflectir a sua relação com o neurotransmissor colinérgico (Perlov et al., 2009). São observados aumentos significativos de colina em alterações neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer e Esclerose Múltipla, e em casos de isquemia e traumatismo craniano, provavelmente devido à libertação de componentes contendo colina durante a perda de integridade membranosa. Estes níveis podem igualmente estar associados ao cancro, provavelmente devido a um aumento da densidade celular. De uma forma geral, estes valores aumentados na PHDA ainda não são claros e passíveis de suportarem conclusões estáveis (Perlov et al., 2009). Aliás, numa das revisões incluídas (Aoki et al., 2013) estes valores de colina não são identificados como significativos, e o autor justifica a diferença do resultado pelo uso de metodologia não adequada às diferenças observadas entre os estudos, podendo estes valores elevados serem resultado de um erro de tipo 1.

Paralelamente aos níveis de colina e NAA, a soma dos valores de glutamato e glutamina tem estado no centro da investigação espectroscópica na PHDA. De uma forma geral, tem sido observado um aumento dos valores dos metabolitos¹⁴ glutamatérgicos no estriado e córtices cingulado anterior e pré-frontal de crianças com PHDA, com normalização após intervenção farmacológica (A. E. Spencer et al., 2014). Existe a possibilidade destes valores serem representativos da activação do sistema glutamatérgico, uma vez que o seu cálculo é influenciado pelos valores de glutamato e glutamina. O glutamato está localizado nas suas reservas pré-sinápticas e na sinapse, como neurotransmissor. No entanto, como neurotransmissor é imediatamente metabolizado em glutamina. Assim, os níveis observados da soma dos valores de glutamato e glutamina não são representativos do *local* do glutamato (Aoki et al., 2013). Para além destas limitações técnicas, os valores aumentados desta soma, quando revistos qualitativamente, não são coerentes com as revisões quantitativas, que previamente não observaram alterações destes mesmos valores (Aoki et al., 2013; Perlov et al., 2009). Actualmente, à semelhança dos valores de colina, estes valores aumentados da soma de glutamato e glutamina, na PHDA, ainda não são claros e passíveis de suportarem conclusões estáveis.

¹⁴ Produtos metabólicos de acções corporais.

Ou seja, os valores aumentados de NAA surgem isoladamente como significativos. Sendo interpretados como o desenvolvimento dos processos neuronais e sinapses, não suportam o conceito de na PHDA haver um desenvolvimento inferior neuronal no córtex pré-frontal. Sendo interpretados como um aumento da activação, reportam uma hiperactivação em repouso no córtex pré-frontal, uma das regiões da rede de modo padrão, que é esperado que esteja mais activa.

Os resultados revistos de outros metabolitos em diferentes regiões não são ainda sustentados. Somente com o cruzamento com os resultados das avaliações funcionais é possível obter uma interpretação mais complexa dos diferentes níveis de activação. No entanto, os resultados apresentados nesta revisão, por fMRI, não são realizados isoladamente em repouso, mas sim na realização de tarefas. Assim, com os resultados das revisões incluídas não há possibilidade de inferir se estes valores de hiperactivação são observados em toda a rede de modo padrão e, posteriormente, se essa maior activação em repouso pode ser uma justificação da maior frequência de pensamento divagante e não centrado em tarefas que caracteriza a PHDA. No entanto, esta possível interpretação é convergente com o modelo que considera que as falhas de atenção poderão ser o resultado de a rede de modo padrão impedir a atenção mantida, por interferir ou impedir o funcionamento da rede fronto-parietal de controlo cognitivo (J. Posner et al., 2014).

A interpretação adicional dos resultados em repouso da Electroencefalografia, não mostra coerência com os níveis metabólicos

A EEG foi uma das primeiras medidas que permitiu avaliar sistematicamente a actividade cortical. As revisões que reportavam resultados quantitativos por EEG foram excluídas por não reportarem regiões neuroanatômicas com a mesma pormenorização que os restantes métodos. No entanto, tendo em conta que parte da sua metodologia de avaliação é realizada também em repouso, os seus resultados poderão contribuir para a questão levantada anteriormente. Apesar dos seus resultados apresentarem algumas inconsistências, foi sendo cimentado um padrão de aumento das ondas teta, principalmente na região frontal (F.X. Castellanos & Acosta, 2002; Sigi Hale et al., 2000; Tannock, 1998; Willis & Weiler, 2005), aumento do rácio teta e beta (Snyder & Hall, 2006) e um aumento das ondas delta com diminuição de actividade das ondas alfa e beta nas regiões posteriores (Willis & Weiler, 2005).

Estes resultados suportaram duas interpretações relacionadas com a PHDA sobre o baixo nível de alerta cortical e o atraso da maturação cerebral. O padrão de aumento das ondas de menor frequência delta e teta na região frontal, de diminuição das ondas de maior frequência alfa e beta e o aumento do rácio teta e beta suportam a interpretação relativa ao baixo nível de alerta cortical (F.X. Castellanos & Acosta, 2002; Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Sigi Hale et al., 2000; Tannock, 1998; Tye et al., 2011; Willis & Weiler, 2005). O hipocampo foi identificado como sendo responsável pelo ritmo teta, enquanto os circuitos tálamo-corticais ao ritmo alfa (Willis & Weiler, 2005). Recentemente, as diferentes frequências são relacionadas

com estados mentais e fisiológicos: as ondas delta são predominantes durante o sono profundo; as ondas teta são também associadas à recepção da informação sensorial e à memória espacial; as ondas alfa são comuns em estados de relaxamento vígil e podem estar associados à sincronização dos processos neuronais; as ondas beta podem indicar um aumento da activação e memória de trabalho; e as ondas gama são relacionadas com o nível de alerta, ocorrendo após a estimulação sensorial (Rudo-Hutt, 2015).

Adicionalmente, através da análise da *coerência* (do inglês, *coherence*) do EEG, um procedimento que analisa a covariação dos sinais de EEG em diferentes locais, foram observados valores de hipercoerência frontal (Sigi Hale et al., 2000; Tye et al., 2011). Estes valores elevados de *coerência* são representativos do maior emparelhamento entre as regiões corticais e, conseqüentemente, de menor diferenciação cortical (Tye et al., 2011; Willis & Weiler, 2005). Este facto suporta as duas interpretações do EEG relativamente à PHDA. Por um lado, porque a maior *coerência* é relativa às ondas lentas delta e teta na região frontal e, por outro lado, porque esta menor diferenciação cortical diminui com a idade, suportando a segunda interpretação relativa ao atraso de maturação cortical na PHDA (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Tye et al., 2011; Willis & Weiler, 2005).

Assim, parece haver um padrão de menor nível de alerta, principalmente frontal, o que não é coerente com os níveis de NAA aumentados, possivelmente indicativos de hiperactivação frontal. Tendo em conta que a metodologia da avaliação por EEG pode implicar situações de repouso, de olhos fechados ou abertos, ou realizando tarefas (Willis & Weiler, 2005) é expectável que estes resultados sejam resultado da combinação destas diferentes metodologias. No entanto, estas conclusões são maioritariamente baseadas em repouso com os olhos abertos ou fechados (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Tye et al., 2011).

Para além da relação entre o aumento das ondas teta e um estado de hipoalerta, as ondas alfa tem estado negativamente relacionadas com o nível de alerta no SNC (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015) e positivamente ligadas a comportamento mais expansivo (Rudo-Hutt, 2015), indicando assim um aumento do alerta cortical na região posterior encefálica, onde é observada a diminuição de ondas alfa na PHDA (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015). As ondas beta, surgem relacionadas com estados de activação mental e de maior concentração (Loo & Makeig, 2012), também diminuídas na PHDA. Dessa forma, é facilmente compreensível o terceiro resultado do EEG na PHDA sobre o aumento do rácio teta e beta, pois é influenciado tanto pelo aumento das ondas teta como pela diminuição das ondas beta. Este rácio, mais recentemente tem sido negativamente relacionado com o tempo de reacção em adultos, com e sem PHDA, enquanto que uma diminuição neste rácio está associado a reacções mais rápidas (Loo & Makeig, 2012).

Ou seja, convergindo estas conclusões de hipoactivação frontal, tendencialmente avaliada em repouso por EEG, com os níveis elevados de NAA, indicativos de hiperactivação, não é observada coerência entre os resultados. Para estes resultados por EEG é mais facilmente



observada a coerência com os resultados funcionais por fMRI, de hipoactivação frontal e hiperactivação posterior (Figura 4-2). Esta coerência entre os resultados EEG e fMRI poderá ser justificada pelas décadas de investigação nestas áreas de conhecimento. A avaliação por MRS, relacionada com a PHDA, está claramente na sua fase inicial o que retira a possibilidade de serem traçadas conclusões fiáveis sobre o resultado isolado dos níveis de NAA. Actualmente, ainda não é possível saber o seu significado.

A interpretação adicional dos resultados por Electroencefalografia e Potenciais de Eventos Relacionados com Imagem por Ressonância Magnética Funcional contribui para a implicação da rede de modo padrão e fronto-parietal de controlo cognitivo

As áreas encefálicas reportadas por EEG e a convergência dos resultados desta revisão por fMRI, são igualmente convergentes com as regiões associadas à rede de modo padrão (Figura 4-3). Esta associação, apesar de ser simples, pode já ter algum fundamento viável. Na avaliação simultânea com EEG e fMRI, o padrão associado a um elevado nível de alerta, com diminuição delta e teta e aumento alfa e beta, pode estar positivamente relacionado com esta rede de funcionamento neuronal (Hlinka, Alexakis, Diukova, Liddle, & Auer, 2010; Rudo-Hutt, 2015). Da mesma forma, pode igualmente representar uma implicação na rede fronto-parietal de controlo cognitivo, tendo em conta o interfuncionamento entre estas duas redes.

Na procura desta compreensão, os resultados por ERP podem adicionar argumentos. A aplicação dos ERP é uma actividade medida por EEG, que permite avaliar a actividade cerebral na presença de estímulos, mais frequentemente, visuais e auditivos, ou na realização de tarefas. O tempo de resposta às deflexões positivas ou negativas do comprimento de onda permitiu inferir alterações nos centros de alerta, com hipoactivação subcortical (F.X. Castellanos & Acosta, 2002; Tannock, 1998), especificamente na região frontal (Sigi Hale et al., 2000) e cingulada anterior e dorsal lateral (J. M. Swanson et al., 1998), com alterações de desempenho em tarefas de inibição e atenção (Tye et al., 2011). O facto destes resultados serem sempre avaliados na realização de tarefas, significa que representam os momentos em que o córtex cingulado anterior dorsal se encontra mais activo, via o funcionamento da rede fronto-parietal de controlo cognitivo. Esta hipoactivação identificada pode assim implicar que as alterações observadas na PHDA poderão ir para além da rede de modo padrão implicando, também, a rede fronto-parietal de controlo cognitivo. À semelhança da suposição realizada anteriormente para a rede de modo padrão, a relação entre os resultados por EEG, ERP e fMRI pode já ter algum fundamento viável, pela possível relação funcional das ondas alfa e teta e a rede de controlo cognitivo (Carp & Compton, 2009; P. S. Cooper et al., 2015). Por sua vez, esta suposição da implicação de ambas as redes, com base em várias metodologias, tanto em repouso como na realização de tarefas, são convergentes com a suposição realizada por Posner et al. (J. Posner et al., 2014) através da análise qualitativa de estudos em repouso por fMRI.

A interpretação por EEG, apesar do tempo de investigação, deve ser feita de forma cautelosa. Como já referido, a EEG foi uma das primeiras medidas que permitiu avaliar sistematicamente a actividade cortical. Dadas as suas características fidedignas na quantificação dos resultados, principalmente para as frequências teta e delta (Tye et al., 2011), foi mesmo considerada a possibilidade dos valores das ondas teta e do rácio teta e beta serem utilizados como biomarcadores para a PHDA. No entanto, os resultados sempre se mantiveram inconsistentes entre estudos e não possibilitaram esse mesmo objectivo (M. Arns et al., 2013; Rudo-Hutt, 2015; Tye et al., 2011), possivelmente explicado pelo seu funcionamento técnico, como exposto no subcapítulo 2.3.2.1.

Para ultrapassar estas limitações de forma a interpretar completamente a informação captada, serão necessários meios mais avançados de processamento de dados, que permitam gerar resultados temporais e de frequência dos sinais captados e das fontes corticais e as suas projecções ao longo do córtex (Loo & Makeig, 2012). Mais recentemente uma análise computacional tem permitido gerir a quantidade de informação obtida pela EEG (Herreras, Makarova, & Makarov, 2015; Urigüen & Garcia-Zapirain, 2015), abrindo novas possibilidades de interpretação da informação obtida.

Ou seja, não foi pretendido exaustivamente criticar este método de avaliação, nem criar um conceito negativo relativamente à EEG. Foi pretendido realçar que grande parte do conhecimento criado em torno da EEG foi realizado com estas limitações referenciadas. Tendo em conta que essas mesmas limitações e métodos de compensação foram identificados, é possível que tenha sido criado novamente espaço para uma nova aplicação desta técnica, de forma isolada ou em conjunto com outras formas de diagnóstico, como já tem sido observado com a fMRI. Como exposto anteriormente, os resultados por EEG são coerentes com as várias argumentações neuronais, o que pode ser indicativo de que, apesar de todas as limitações, foram apresentados resultados fiáveis. No entanto, deve ser tido em consideração que a maioria do conhecimento neuroanatômico foi despoletado pelos métodos iniciais, como por EEG. Consequentemente, as primeiras regiões implicadas tornaram-se progressivamente mais estudadas.

Os resultados funcionais por Imagem por Ressonância Magnética Funcional suportam um possível envolvimento de várias redes neuronais

Quando, nesta análise, são incluídos os resultados por fMRI, a implicação da rede de modo padrão é coerente com os seus resultados, especificamente em repouso (Konrad & Eickhoff, 2010; Paloyelis et al., 2007; J. Posner et al., 2014; Yeo et al., 2011). Por outro lado, a implicação em regiões relativas à rede fronto-estriada (Figura 4-2) é convergente com uma das implicações mais repetidamente observadas (Bush, Valera, & Seidman, 2005; Cherkasova & Hechtman, 2009; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Cubillo, Halari, Smith, Taylor, & Rubia, 2012; Durston, 2003; Emond, Joyal, & Poissant, 2009; Kelly, Margulies, & Castellanos, 2007; Paloyelis et al., 2007; J. Posner et al., 2014; Weyandt et al., 2013).



Nas regiões das redes de modo padrão e fronto-parietal de controlo cognitivo é observado um padrão misto de hiperactivação nas regiões centrais e posteriores e hipoactivação frontal. Como estes resultados são obtidos durante a realização de tarefas, o padrão identificado pode representar um funcionamento não sincronizado destas redes perante estas exigências de atenção. Assim, pode significar que as falhas de atenção poder-se-ão dever não só pela alterações na rede de modo padrão, mas pela incoerência com o funcionamento fronto-estriado que impede uma activação e desactivação correcta entre as duas redes (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; J. Posner et al., 2014). Assim, estes resultados suportam a primeira consideração desta discussão sobre a implicação destas duas redes.

No entanto, os resultados por fMRI identificam regiões que vão para além destas duas redes, o que pode permitir a consideração de que existem mais redes neurais alteradas na PHDA. Esta possibilidade é convergente com as revisões mais antigas da utilização de fMRI (Cherkasova & Hechtman, 2009; Durston, 2003; Kelly et al., 2007).

Convergindo as regiões identificadas nesta revisão (Figura 4-2) com a distribuição das sete redes corticais realizada por Yeo et al. (2011) (Figura 2-3), são observadas alterações funcionais nas regiões das redes somatomotora, límbica, visual e de atenção dorsal e ventral (Yeo et al., 2011). Esta interpretação redirecciona as alterações neuroanatómicas na PHDA, não só para além da rede de modo padrão e fronto-parietal, mas para uma alteração global das redes neurais. De facto, este padrão global é coerente com a complexidade dos comportamentos observados na PHDA nas várias competências cognitivas, motoras, sensório-perceptivas, regulação emocional e sociais (Tabela 4-4).

Tabela 4-4 Principais redes neuronais e competências comprometidas na Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção

Redes neuronais comprometidas na PHDA	Competências comprometidas na PHDA
Rede de modo padrão.	
Rede de controlo cognitivo fronto-parietal.	Atenção e hiperactividade.
Redes ventral e dorsal da atenção.	Emocionais e inibitórias.
Rede límbica.	Cognitivas.
Rede visual.	Sensório-perceptivas.
Rede somatomotora.	Motoras e de praxis.
Redes fronto-estriado-parietais-cerebelares.	Social.
Redes córtico-estriado-talâmo-corticais.	

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção.

Tabela original. Conteúdo com base nos capítulos 2 e 4.

A rede ventral da atenção inclui as regiões localizadas na junção temporo-parietal, giro supramarginal e região insular, enquanto a rede dorsal inclui as regiões do sulco interparietal, visual frontal, anterior ao sulco pré-central (BA 6), e do sulco parieto-occipital (Yeo et al., 2011). Nos resultados apresentados é observado um padrão maioritariamente de hipoactivação na rede ventral da atenção. Tendo em conta a função desta rede na monitorização de eventos de destaque, por exemplo estímulos ou comportamentos relevantes, e na interrupção adequada

de tarefas, uma hipoactivação pode justificar a desatenção aquando da necessidade de filtrar a informação contextual adequada.

Relativamente à rede dorsal da atenção, os resultados apresentados demonstram um comprometimento parcial, com hipoactivação na região anterior ao sulco pré-central. A hipoactivação na região visual pode implicar o funcionamento desta rede, pois é coerente com o seu papel na gestão de processos de controlo executivo *top-down*, orientados para objectivos e, principalmente, em actividades que requerem atenção visual. No entanto, uma vez que a rede dorsal da atenção é influenciada pelo funcionamento da ventral, esta hipoactivação pode significar não uma alteração na sub-rede dorsal, mas uma falha de comunicação entre as redes. Esta suposição é coerente com outras publicações, pois a hipoactivação frontal está implicada nas tarefas de controlo inibitório (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014), e com os resultados anteriores que identificam um padrão de hipoactivação nos giros frontal, pré-central bilateral (BA 6, 8, 9, 10 e 47) (Dickstein et al., 2006) e frontal medial esquerdo (McCarthy et al., 2014). Actualmente, os resultados ainda são inconsistentes pois podem ser observados os dois padrões de hipoactivação e hiperactivação destas regiões (F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Hart et al., 2013; Paloyelis et al., 2007).

A implicação da rede somatomotora é representada nos resultados pela hipoactivação nos giros pré e pós-central, temporal superior direito e área suplementar motora. Assim, à semelhança da discussão dos pontos anteriores, caso estes resultados signifiquem uma possível implicação do funcionamento desta rede, então, por sua vez, poderão justificar as alterações que são observadas na PHDA nas competências motoras e de esquema corporal (García Murillo et al., 2015; Kaiser et al., 2015; Paloyelis et al., 2007).

Analogamente, a possível implicação da rede visual é representada nos resultados de hiperactivação. Conjugando com os resultados da rede dorsal da atenção e da região visual, então poderão justificar as alterações observadas na PHDA no desempenho das competências de atenção e perceptivas visuais (Brown, Roth, & Katz, 2015; F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Germano, Pinheiro, Okuda, & Capellini, 2013; Mullane & Klein, 2008; Yeo et al., 2011).

Numa apreciação qualitativa global das revisões que utilizam fMRI, esta discussão só foi permitida pois foi baseada nas regiões com os resultados mais consistentes. Caso estes mesmos resultados sejam analisados na activação conjunta e individual, mesmo com sobreposição de estudos, são observadas inconsistências nos resultados qualitativos e quantitativos (Aron & Poldrack, 2005; Broome, He, Iftikhar, Eyden, & Marwaha, 2015; Bush et al., 2005; Cao, Shu, Cao, Wang, & He, 2014; F. X. Castellanos, 1997; F.X. Castellanos & Acosta, 2002; Cherkasova & Hechtman, 2009; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Cubillo et al., 2012; Cubillo & Rubia, 2010; Dickstein et al., 2006; Durston, 2003; Durston et al., 2009; Emond et al., 2009; Thomas Frodl, 2010; Giedd et al., 2001; Hart et al., 2012, 2013; Herrmann,



Biehl, Jacob, & Deckert, 2010; Kelly et al., 2007; Konrad & Eickhoff, 2010; Lei et al., 2015; Mana, Paillere Martinot, & Martinot, 2010; Matthews et al., 2013; McCarthy et al., 2014; Noordermeer et al., 2016; Noreika et al., 2013; Paloyelis et al., 2007; Plichta & Scheres, 2014; J. Posner et al., 2014; Katya Rubia, 2011; Katya Rubia, Alegria, Cubillo, et al., 2014; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a, 2014b; Schweren, de Zeeuw, & Durston, 2013; Sigi Hale et al., 2000; James M. Swanson et al., 2007; Tannock, 1998; Weyandt et al., 2013; Willis & Weiler, 2005; Yeo et al., 2011).

Esta inconsistência dos resultados pode advir do uso de diferentes tarefas e de conjugações de tarefas, da heterogeneidade entre as várias amostras e das limitações técnicas do método. A fMRI obtém os seus resultados através da detecção por campo magnético do aumento da actividade neural, por aumento do fluxo sanguíneo cerebral local e por mudanças na concentração de oxigenação. Os resultados obtidos na PHDA são essencialmente por análise das variações de concentração da oxigenação, cujo contraste é obtido pela mudança do campo magnético em torno das células vermelhas, dependendo do estado de oxigenação da hemoglobina. Isto permite uma alta resolução espacial de forma não invasiva, no entanto, como o contraste nas mudanças de concentração de oxigenação deriva de uma resposta hemodinâmica lenta às mudanças metabólicas, uma das suas limitações é a baixa resolução temporal (G. H. Glover, 2011). Assim, os resultados são dependentes das características de vascularização das várias regiões. A tentativa de correcção desta sensibilidade pode aumentar a possibilidade de falsos positivos ou negativos (Zacà, Agarwal, Gujar, Sair, & Pillai, 2014).

Por outro lado, a sua alta sensibilidade às mudanças de campo magnético, implicam que é susceptível a alterações de sinal ou distorções espaciais causadas pelas diferenças dos tecidos em redor, como no caso das junções entre ar e tecido dos córtices órbito-frontal, medial e inferior temporal (G. H. Glover, 2011; Zacà et al., 2014), regiões fundamentais nos estudos realizados na PHDA. Adicionalmente, esta mesma sensibilidade implica a possibilidade dos resultados serem alterados pelo movimento do participante ou por outras flutuações cardíacas e respiratórias (Zacà et al., 2014), sendo um cenário bastante provável de acontecer durante a avaliação de crianças, principalmente, com hiperactividade inerente da PHDA. O barulho durante o funcionamento pode igualmente condicionar o desempenho de provas que sejam dependentes principalmente da informação auditiva (G. H. Glover, 2011).

Independentemente destas restrições de técnicas, os resultados funcionais incluídos não implicam outras estruturas como os núcleos da base, cerebelo e corpo caloso que têm sido referenciadas noutras revisões com fMRI. No entanto, são identificadas nos resultados realizados por métodos de análise estrutural.

Os resultados estruturais implicam o corpo caloso e as redes cerebelares e estriadas e suportam a implicação de várias redes neuronais

Os resultados estruturais por MRI demonstram alterações estruturais de menor volume global do encéfalo e, especificamente, do hemisfério direito, região cerebelar frontal, corpo estriado, núcleo caudado, putâmen, globo pálido, corpo caloso e hemisférios e vérmis cerebelares. Não são identificadas regiões com aumento de volume.

Esta implicação do cerebelo e do corpo estriado, nos núcleos da base, são coerentes com os resultados funcionais que implicavam alterações para além da rede fronto-parietal (Cherkasova & Hechtman, 2009; Durston, 2003; Kelly et al., 2007). Conjugados com os resultados funcionais, pode ser considerada a possível implicação do funcionamento das redes fronto-estriado-parietais-cerebelares. Esta interpretação é coerente com estudos anteriores (Paloyelis et al., 2007; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a; Weyandt et al., 2013).

A implicação destas redes é convergente com os circuitos neuronais paralelos córtico-estriado-tálamo-corticais, que se projectam do córtex para o estriado e tálamo e de regresso ao córtex, sendo responsáveis por mediar as funções sensório-motoras, cognitivas e límbicas (J. Posner et al., 2014). Adicionalmente, é suportada pelos resultados já discutidos de que a diminuição das ondas alfa por EEG estará possivelmente ligada a alterações nos circuitos tálamo-corticais (Willis & Weiler, 2005).

Assim, esta convergência de resultados permite suportar a hipótese de que haverá uma implicação de todas as redes neuronais na PHDA. Esta hipótese é recentemente suportada em resultados que conjugam EEG, fMRI e o estudo da codificação neuronal por conectomas que consideram uma implicação dos sistemas estriados, cerebelares, da atenção, sensório-motores e da rede de modo padrão (Cao et al., 2014).

Estes resultados de MRI, à semelhança dos resultados por fMRI, são os mais recorrentemente identificados, apesar de haverem variações menos significativas (Arnsten & Rubia, 2012; F. X. Castellanos, 1997; F.X. Castellanos & Acosta, 2002; F X Castellanos & Acosta, 2004; L. Chen et al., 2016; Cubillo et al., 2012; Durston, 2003; Durston et al., 2009; Ellison-Wright et al., 2008; Emond et al., 2009; Etchepareborda & Díaz Lucero, 2009; S V Faraone & Biederman, 1998; T. Frodl & Skokauskas, 2012; Giedd et al., 2001; Herrmann et al., 2010; Hutchinson et al., 2008; Kelly et al., 2007; Krain & Castellanos, 2006; F. Levy et al., 1998; Mana et al., 2010; Matthews et al., 2013; Nakao, Radua, Rubia, & Mataix-Cols, 2011; Noordermeer et al., 2016; Rapoport et al., 2001; Rommelse, Geurts, Franke, Buitelaar, & Hartman, 2011; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014b; Schweren et al., 2013; Seidman, Valera, & Bush, 2004; Seidman, Valera, & Makris, 2005; P. Shaw & Rabin, 2009; Sigi Hale et al., 2000; Soliva-Vila & Vilarroya-Oliver, 2009; Steinhausen, 2009; J. Swanson, Castellanos, Murias, LaHoste, & Kennedy, 1998; J. M. Swanson et al., 1998; James M. Swanson et al., 2007; Tannock, 1998; Toga, Thompson, &



Sowell, 2006; Valera et al., 2007; van Ewijk et al., 2012; Weyandt et al., 2013; Willis & Weiler, 2005). Estes resultados, são igualmente convergentes com as principais resultados obtidos por CT, apesar de, comparativamente à MRI, apresentarem diferenças nas limitações técnicas do método, especificidade, estrutura global dos estudos e das revisões que os integram (S V Faraone & Biederman, 1998; Giedd et al., 2001; Sigi Hale et al., 2000).

Esta hipótese de que haverá uma implicação de todas as redes neuronais na PHDA encontra suporte adicional noutros resultados por MRI. Especificamente na análise da matéria cinzenta, é observada diminuição no putâmen e globo pálido. Tendo em conta que a constituição da matéria cinzenta está no corpo celular dos neurónios, dendrites, sinapses e células da glia, a sua redução é convergente com os resultados obtidos por PET e SPECT, que demonstram a redução dos níveis de transportadores de dopamina nos núcleos da base (Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a; Zimmer, 2009). Esta implicação dopaminérgica é igualmente convergente com os resultados apresentados nesta revisão, que apontam para uma possível implicação de todos dos sistemas funcionais neuronais. Não só pela implicação das regiões de *origem* do sistema dopaminérgico (Ellison-Wright et al., 2008; T. Frodl & Skokauskas, 2012; Nakao et al., 2011), mas, principalmente, pelas alterações de funcionamento (Durston et al., 2009; James M. Swanson et al., 2007) das projecções deste sistema no corpo estriado (núcleo caudado e putâmen), sistema límbico (núcleo *accumbens*, córtex, hipocampo e amígdala), hipófise e nas terminações das projecções dos tractos negro-estriado, meso-límbico, meso-cortical e túbero-infundibular.

A hipótese aqui discutida é adicionalmente convergente com os resultados por PET e SPECT, que reportam que na PHDA poderá haver uma implicação mais generalizada dos sistemas de neurotransmissores, não só no sistema dopaminérgico (Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a; A. E. Spencer et al., 2014; Zimmer, 2009), que contribua para os comportamentos observados (Pappa, Mileva-Seitz, Bakermans-Kranenburg, Tiemeier, & van IJzendoorn, 2015; Rogers & Brito, 2015)

A conjugação destes resultados estruturais com os funcionais, aqui discutidos, demonstra uma possível implicação das estruturas envolvidas nas redes fronto-cerebelares-estriadas. Assim, pode também ser convergente com alterações identificadas na rede límbica e de regulação emocional (Graziano & Garcia, 2016; Herrmann et al., 2010; Seymour et al., 2015; Yeo et al., 2011).

Estes resultados igualmente são convergentes com a identificação do sistema de processamento de recompensa, pela sua relação com o sistema dopaminérgico, e com as alterações funcionais na rede córtico-basal no mesencéfalo, corpo estriado ventral, principalmente o núcleo *accumbens*, córtex órbita-frontal e algumas áreas do córtex pré-frontal (Mowinckel et al., 2015; Paloyelis et al., 2007; Plichta & Scheres, 2014; Seymour et al., 2015).

Especificamente em relação aos resultados estruturais no estriado e cerebelo, caso sejam conjugados com as alterações funcionais na região dos córtices frontal inferior e cíngulo anterior e área suplementar, então são convergentes com as redes de controlo de inibição, possivelmente alteradas na PHDA (Aron & Poldrack, 2005; Hart et al., 2012, 2013; Noreika et al., 2013; Paloyelis et al., 2007; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a), e associados ao desempenho inibitório motor e impulsividade (Boonstra et al., 2005; Kofler et al., 2013; Lansbergen et al., 2007; Lei et al., 2015; Lijffijt et al., 2005; McCarthy et al., 2014; Pauli-Pott & Becker, 2015; K Rubia et al., 2009; Schwartz & Verhaeghen, 2008; Seymour et al., 2015; van Mourik et al., 2005). A implicação destas redes é igualmente convergente com os resultados por estimulação magnética transcraniana em participantes com PHDA, onde foi identificada uma diminuição da inibição transcortical (Bunse et al., 2014; Dutra, Baltar, & Monte-Silva, 2016; Rothwell, Day, Thompson, & Kujirai, 2009) e que, por sua vez, poderá implicar uma redução da inibição cortical GABAérgica, suportando, mais uma vez, a suposição de que as alterações dos sistemas de neurotransmissores serão para além do sistema dopaminérgico.

Relativamente aos resultados específicos da redução de matéria branca encefálica no esplénio, tapete e estrato sagital, a interpretação dos menores valores de anisotropia fraccional pode representar os níveis de mielinização, cruzamento de fibras, densidade axonal e diâmetro axonal médio (L. Chen et al., 2016; van Ewijk et al., 2012). Assim, estas alterações de matéria branca implicam o maior feixe que liga os hemisférios cerebrais, transferindo sinais excitatórios e inibitórios.

As alterações no esplénio sugerem uma interrupção da comunicação inter-hemisférica posterior e das redes límbicas, dadas as suas ligações com as áreas bilaterais occipitais, temporais e parietais posteriores. Estas ligações, implicam, mais uma vez e de outra forma, o processamento da informação visual e dos feixes necessários para a atenção, já anteriormente discutidas (L. Chen et al., 2016). Esta implicação visual e de atenção pode igualmente ser suportada pela conjugação das alterações observadas no estrato sagital e tapete, que contêm os fascículos fronto-occipital inferior e longitudinal, responsáveis pelas ligações entre os lobos cerebrais. Outras regiões têm sido identificadas, mas essa divergência de resultados poder-se-á dever, principalmente, a interpretações qualitativas divergentes ou ao peso do número de estudos (Mana et al., 2010; Matthews et al., 2013; Katya Rubia, Alegria, & Brinson, 2014b; van Ewijk et al., 2012; Weyandt et al., 2013). Os resultados aqui discutidos são obtidos pela revisão quantitativa com maior quantidade de estudos e participantes (L. Chen et al., 2016).

Assim, a interpretação conjunta desta evidência aqui discutida, suporta a hipótese de que haverá uma alteração globalizada das redes neuronais na PHDA (Figura 4-2) e que se traduz, coerentemente, com as alterações comportamentais globalizadas descritas na PHDA (Tabela 4-4).

Completude da revisão e aplicabilidade da evidência

O processo da recolha sistemática das Revisões Sistemáticas candidatas a serem incluídas nesta revisão de revisões foi traçado de forma a minimizar a exclusão de revisões não identificadas. A utilização de resultados cruzados entre duas *queries* e a escolha das principais bases de dados electrónicas, sem qualquer limite de tempo, foi também traçado com esse objectivo. Inevitavelmente, a pesquisa somente electrónica poderá ter deixado de fora revisões que não tenham sido anexadas às bases de dados. Em compensação, foram recolhidas revisões que estivessem mencionadas nas referências bibliográficas das revisões encontradas.

Os critérios a serem aplicados às revisões identificadas foram traçados de forma a incluir revisões com metodologia que reportasse regiões neuroanatômicas específicas. Foram assim excluídas revisões com metodologia como a EEG, PET e SPECT. A inclusão destas revisões na discussão qualitativa foi uma tentativa de não descartar esses mesmos resultados pertinentes para a PHDA, principalmente por adicionarem argumentos sustentáveis à discussão.

O processo de decisão das revisões candidatas, com a opção prioritária de não sobrepor os estudos, inevitavelmente excluiu alguns. A inclusão, quando possível, destas revisões na discussão qualitativa foi uma tentativa de não descartar esses mesmos resultados.

Com a aplicação destes critérios foram incluídas revisões com as principais metodologias de diagnóstico utilizadas na PHDA, por MRI, MRI-DTI, fMRI e MRS, com mais cumprimento dos critérios PRISMA e com maiores amostras de participantes. Até à data, esta é a primeira revisão de revisões a reportar alterações neuroanatômicas com base num processo de Revisão Sistemática, procurando assim em termos metodológicos uma estrutura que permita cimentar o conhecimento dos resultados dos vários métodos de neurodiagnóstico na PHDA.

Qualidade da evidência e possível viés no processo e na revisão de revisões

Algumas limitações podem influenciar os resultados desta revisão. Nas revisões com fMRI, na agregação das revisões com diferentes estudos, os resultados são relativos a várias tarefas, não sendo fácil de compreender o contributo de cada uma e cada tarefa é consistentemente aplicada.

A escolha das regiões e das tarefas é previamente escolhida antes da avaliação. Isto pode levar a um aumento de resultados nas regiões já expectáveis de estarem alteradas.

Os participantes incluídos nos vários estudos podem não ter as mesmas características de comorbilidade, toma de medicação, método de avaliação diagnóstica e edição do DSM.

Nas revisões com utilização da fMRI, pode ocorrer variação de resultados quantitativos por ALE, na utilização ou não de p corrigido, influenciando os resultados para a mesma amostra (Eickhoff, Bzdok, Laird, Kurth, & Fox, 2012).

Apesar da contagem de sobreposição de estudos ter permitido não repetir inclusões, poderá haver a possibilidade de sobreposição de amostras.





4.3 Conclusão do capítulo

O entendimento do estudo neuroanatômico na PHDA combina dois temas, a Anatomia e Fisiologia, individualmente complexos. Talvez por essa razão, apesar da extensa literatura, ainda geram um debate científico intenso. De forma a dar resposta a esta complexidade, esta revisão de revisões procurou conjugar os resultados estruturais, funcionais e de composição química mais consistentes. Foi pretendido com esta conjugação de metodologias de avaliação compensar as limitações individuais de cada método e identificar as alterações nos vários níveis. A complexidade neuroanatômica discutida é convergente com a complexidade dos comportamentos observados e com o processo de avaliação e intervenção na PHDA.

Tabela 4-5 Principais recomendações

-
- Apesar da extensa literatura, são necessários estudos homogêneos e que reportem, claramente, os seus participantes e métodos;
 - A PHDA, claramente, vai além das redes fronto-parietais e sistema dopaminérgico;
 - A hipótese de um desequilíbrio funcional entre as várias redes neurais é coerente com as várias competências que podem estar comprometidas;
 - Deve ser considerada uma avaliação multidisciplinar no processo de diagnóstico e intervenção nas alterações de desempenho ocupacional;
 - O envolvimento global encefálico discutido pode suportar modelos teóricos da PHDA que conceptualizem uma implicação sistémica do sistema nervoso.
-

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Tabela original.

De uma forma geral, os resultados desta revisão apontam para uma implicação neurofuncional globalizada que está, claramente, para além das redes fronto-parietais e do sistema dopaminérgico (Tabela 4-5). Assim, a PHDA apresenta-se como uma Perturbação do Neurodesenvolvimento com múltiplas implicações nas suas redes e constituição neuroquímica. Esta revisão considera a hipótese de um funcionamento global desequilibrado das suas redes, sendo coerente com os resultados por neuroimagem e com a possibilidade de um comprometimento generalizado nas competências motoras, de regulação emocional, cognitivas, sensório-perceptivas e sociais.

Implicações na prática

A conceptualização deste comprometimento generalizado neuroanatômico e de competências suporta a importância de existirem dois níveis de avaliação multidisciplinar, no decorrer do processo de diagnóstico e de tratamento: 1) um primeiro nível com avaliação dos critérios de diagnóstico e da sintomatologia central de desatenção, impulsividade e hiperactividade pelas valências médicas e clínicas; e 2) um segundo nível, focado na avaliação da funcionalidade



do desempenho ocupacional e de outras competências não centrais, como as regulatórias, cognitivas, sociais, motoras e sensorio-perceptivas, pelas valências de Psicologia, Terapia Ocupacional e Terapia da Fala.

Implicações na investigação

Esta revisão de revisões demonstrou a necessidade urgente de estudos altamente homogéneos, que reportem claramente os seus participantes e métodos e que permitam a sua replicação. Posteriormente, isto permitirá a uniformização das revisões realizadas e uma qualidade metodológica que sustenta as questões de investigação.

A direcção da investigação na PHDA deve ir muito além da rede fronto-estriada e do sistema dopaminérgico. Este será um processo que poderá ser extenso pois os resultados mais consistentes ainda apresentam variações, o que acresce a importância do rigor metodológico de forma a sustentar o avanço progressivo das várias áreas de investigação.

Seria importante haver um aumento de estudos que utilizem a conjugação simultânea de várias metodologias, de forma a criar resultados que permitam conclusões que sejam mais robustas na sua interligação. Por exemplo, nesta conjugação poderá ser importante compreender se as variações estruturais de volume por MRI podem inevitavelmente ser traduzidas em hipoactivação ou hiperactivação.

Por fim, o envolvimento global encefálico discutido pode dar suporte a modelos teóricos da PHDA que conceptualizem uma implicação sistémica do sistema nervoso.

Correspondendo a esta última consideração, os capítulos 5 e 6 contribuem para uma construção teórica que conceptualiza esta implicação na sua etiologia.





4.4 Material Suplementar

Listagem das Tabelas Suplementares

- Tabela 4-6. Contagem e sobreposição dos estudos individuais nas revisões elegidas
- Tabela 4-7. Avaliação das revisões elegidas de acordo com a *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)*
- Tabela 4-8. Tomada de decisão relativa à exclusão de revisões quantitativas de Imagem por Ressonância Magnética Funcional
- Tabela 4-9. Sumário das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos
- Tabela 4-10. Resumo dos critérios de qualidade das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos
- Tabela 4-11. Resultados da revisão de revisões em crianças com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção
- Tabela 4-12. Resultados da revisão de revisões em adultos com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção
- Tabela 4-13. Resultados da revisão de revisões em crianças e adultos com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção
- Tabela 4-14 Variações funcionais de acordo com a tarefa em crianças e adultos
- Tabela 4-15 Variações nas diferenças neuroanatômicas com a idade
- Tabela 4-16 Variações nas diferenças neuroanatômicas com a intervenção farmacológica



Tabelas Suplementares em páginas individuais

Tabela 4-6. Contagem e sobreposição dos estudos individuais nas revisões elegidas

Referência bibliográfica do estudo	Número de vezes de uso da referência nesta revisão		Modalidade	Número total da utilização da referência nas revisões																	
				- Tannock (1998)	- Dickstein et al. (2006)	- Paloyelis et al. (2007)	+ Valera et al. (2007)	+ Ellison-Wright et al. (2008)	- Hutchinson et al. (2008)	o Durston et al. (2009)	- Perlov et al. (2009)	+ Cortese et al. (2012)	- Hart et al. (2012)	- van Ewijk et al. (2012)	+ Aoki et al. (2013)	- Hart et al. (2013)	- McCarthy et al. (2014)	- Spencer et al. (2014)	- Lei et al. (2015)	+ Chen et al. (2016)	
Antshel et al. (2005)	0	1	MRI																		
Ashtari et al. (2005)	1	2	MRI-DTI							+											
Aylward et al. (1996)	1	3	MRI	-		+				-											
Baeyens et al. (2009)	1	1	fMRI							+											
Banich et al. (2009)	1	2	fMRI								+						o				
Baumgardner et al. (1996)	1	4	MRI	-		+															
Bayerl et al. (2010)	1	2	fMRI								+						o				
Berquin et al. (1998)	1	2	MRI			+															
Bechtel et al. (2009)	0	1	MRI-DTI																		
Bode et al. (2014)	1	1	MRI-DTI-TBSS																		+
Booth et al. (2005)	1	7	fMRI	-	-						+					o	o			-	
Braet et al. (2011)	1	1	fMRI								+										
Brieber et al. (2007)	1	2	MRI-VBM					+													
Burgess et al. (2010)	0	1	fMRI													o					
Bush et al. (1999)	0	1	fMRI	-																	
Bussing et al. (2002)	1	2	MRI			+															
Cao et al. (2006)	1	1	fMRI								+										
Cao et al. (2008)	1	2	fMRI									+				o					
Cao et al. (2010)	0	1	MRI-DTI																		
Carmona et al. (2005)	1	2	MRI-VBM					+													
Carrey et al. (2002)	0	2	MRS																		
Carrey et al. (2003)	0	2	MRS																		
Carrey et al. (2007)	1	3	MRS											+							
Casey et al. (1997)	0	1	MRI	-																	
Castellanos et al. (2003)	1	1	MRI								+										
Castellanos et al. (1994)	1	2	MRI	-							+										
Castellanos et al. (1996a)	1	2	MRI	-							+										
Castellanos et al. (1996b)	1	4	MRI	-		+															
Castellanos et al. (2001)	1	2	MRI			+															
Castellanos et al. (2002)	1	2	MRI			+															
Castellanos et al. (2008)	1	1	fMRI							+											
Cerullo et al. (2009)	1	1	fMRI									+									

Christakou et al. (<i>in press</i> 2012)	0	1	fMRI					o					
Chuang et al. (2013)	1	1	MRI-DTI-TBSS										+
Colla et al. (2008)	1	2	MRS				-			+			
Cooper et al. (2014)	1	1	MRI-DTI-TBSS										+
Cortese et al. (2013)	1	1	MRI-DTI-TBSS										+
Courvoisier et al. (2004)	1	3	MRS				-			+		-	
Cubillo et al. (2010)	1	4	fMRI					+			o	o	-
Cubillo et al. (2011)	1	2	fMRI					+			o		
Cubillo et al. (2012)	1	2	fMRI					+			o		
Davenport et al. (2010)	0	1	MRI-DTI							-			
de Luís-García et al. (2015)	1	1	MRI-DTI-TBSS										+
Dibbets et al. (2009)	1	4	fMRI					+			o	o	-
Dibbets et al. (2010)	1	1	fMRI					+					
Dillo et al. (2010)	1	3	fMRI					+				o	-
Durston et al. (2003)	1	6	fMRI	-	-		-	+			o		-
Durston et al. (2004)	1	2	MRI							+			
Durston et al. (2006)	0	5	fMRI				-				o	o	-
Durston et al. (2007)	1	3	fMRI				-	+	o				
Epstein et al. (2007)	0	2	fMRI				-						-
Ernst et al. (2003)	0	1	fMRI	-									
Fayed e Modrego (2005)	0	1	MRS							-			
Fayed et al. (2007)	1	2	MRS							-			+
Ferreira et al. (2009)	1	1	MRS										+
Filipek et al. (1997)	1	3	MRI	-				+					
Giedd et al. (1994)	1	4	MRI	-				+					
Hale et al. (2007)	1	2	fMRI							-	+		
Hamilton et al. (2008)	0	1											
Hammerness et al. (2010)	1	1	MRS										+
Hammerness et al. (2012)	0	1	MRS										-
Hart et al. (2014)	0	1	fMRI										
Hesslinger et al. (2002)	1	1	MRI							+			
Hesslinger et al. (2001)	0	1	MRS										-
Hill et al. (2003)	1	3	MRI					+					
Hynd et al. (1990)	1	2	MRI	-				+					
Hynd et al. (1991)	1	3	MRI	-				+					
Hynd et al. (1993)	1	3	MRI	-				+					
Jin et al. (2001)	1	3	MRS							-			+
Karch et al. (2010)	1	2	fMRI							+		o	
Kates et al. (2002)	1	2	MRI					+					
Kobel et al. (2009)	1	2	fMRI							+			o
Kobel et al. (2010)	1	2	fMRI/MRI-DTI							+			-
Konrad et al. (2006)	1	3	fMRI				-			+			



Rubia et al. (2007)	1	4	fMRI	-	-	+	o		
Rubia et al. (2008)	1	2	fMRI			+			
Rubia et al. (2009a)	1	2	fMRI			+	o		
Rubia et al. (2009b)	1	2	fMRI			+	o		
Rubia et al. (2009c)	1	2	fMRI			+	o		
Rubia et al. (2009d)	1	2	fMRI			+	o		
Rubia et al. (2010a)	1	1	fMRI			+			
Rubia et al. (2010b)	1	3	fMRI			+		o	-
Rubia et al. (2011a)	1	3	fMRI			+	o		-
Rubia et al. (2011b)	1	2	fMRI			+	o		
Rubia et al. (2011c)	1	3	fMRI			+	o	o	
Rusch et al. (2010)	1	1	MRS				+		
Schneider et al. (2010)	0	1	fMRI					o	
Schulz et al. (2004)	0	4	fMRI	-	-	-			-
Schulz et al. (2005a)	0	2	fMRI	-		-			
Schulz et al. (2005b)	1	4	fMRI	-		-	+		-
Schweitzer et al. (2000)	0	1	fMRI	-					
Schweitzer et al. (2004)	0	1	fMRI	-					
Sebastian et al. (2012)	0	1	fMRI						-
Seidman (2006)	1	1	MRI			+			
Semrud (1994)	1	1	MRI			+			
Semrud (2000)	1	1	MRI			+			
Semrud (2006)	1	1	MRI			+			
Semrud-Clikeman et al. (1994)	1	3	MRI	-	+	-			
Shafritz et al. (2004)	0	2	fMRI					o	
Shaw (2006)	1	1	MRI			+			
Shaw (2007)	1	1	MRI			+			
Sheres et al. (2007)	1	1	fMRI			+			
Sheridan et al. (2007)	1	2	fMRI			-	+		
Silk et al. (2005)	1	4	fMRI	-		-	+	o	
Silk et al. (2008)	1	1	fMRI				+		
Silk et al. (2009a)	1	2	MRI-DTI-TBSS					-	+
Silk et al. (2009b)	0	1	MRI-DTI					-	
Singer et al. (1993)	1	1	MRI	+					
Siniatchkin et al. (2012)	0	1	fMRI						-
Smith et al. (2006)	1	7	fMRI	-	-	-	+	o	o
Smith et al. (2008)	1	2	fMRI				+	o	
Soliva et al. (2010)	1	2	MRS					+	-
Sowell (2003)	1	1	MRI			+			
Sparks et al. (2004)	0	2	MRS			-			-
Spinelli et al. (2011a)	1	1	fMRI				+		
Spinelli et al. (2011b)	1	2	fMRI				+	o	
Stanley et al. (2006)	0	1	MRS			-			
Stevens et al. (2007)	1	1	fMRI			+			

Strohle et al. (2008)	1	2	fMRI	-		+				
Sun et al. (2005)	1	3	MRS			-		+		-
Suskauer et al. (2008)	0	4	fMRI			-			o	o
Tafazoli et al. (2013)	0	1	MRS							-
Tamm et al. (2004)	1	7	fMRI	-	-		+		o	o
Tamm et al. (2006)	1	4	fMRI	-	-		+			
Tamm et al. (2007)	0	1	fMRI						o	
Teicher et al. (2000)	1	1	fMRI				+			
Tian et al. (2007)	1	1	fMRI				+			
Tian et al. (2008)	1	1	fMRI				+			
Uddin et al. (2008)	1	1	fMRI				+			
Uhlikova (2007)	1	1	MRI				+			
Vaidya et al. (1998)	1	2	fMRI			+				
Vaidya et al. (2005)	0	3	fMRI	-	-					
Valera et al. (2005)	1	4	fMRI	-			+			o
Valera et al. (2010a)	1	2	fMRI				+		o	
Valera et al. (2010b)	1	2	fMRI				+			o
van Ewijk et al. (2014)	1	1	MRI-DTI-TBSS							
Van't Ent et al. (2007)	1	1	MRI-VBM				+			
Vance et al. (2007)	1	3	fMRI				+			o
Wang et al. (2007)	1	2	MRI-VBM				+			
Wang et al. (2008)	1	1	fMRI				+			
Wellington (2006)	1	1	MRI				+			
Wiguna et al. (2012)	0	1	MRS							-
Wolf et al. (2009)	1	1	fMRI					+		
Wolosin (2009)	1	1	MRI				+			
Yang et al. (2010)	1	1	MRS							+
Yeo et al. (2003)	1	2	MRS					-		+
Zang et al. (2007)	1	1	fMRI				+			

Legenda: "+" Revisão ou estudo incluído nesta revisão; "-" Revisão ou estudo excluído desta revisão; "o" Revisão ou estudo com inclusão parcial dos seus resultados; DTI *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão; fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional; MRI *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética; MRS *Magnetic Resonance Spectroscopy*, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear; TBSS *Tract-Based Spatial Statistics*, Estatística Espacial Baseada em Tractos; VBM *Voxel-Based Morphometry*, Análise de Morfometria voxel a voxel. As referências dos estudos incluídos nas Revisões Sistemáticas analisadas não estão incluídas nas referências bibliográficas desta tese.



Tabela 4-7. Avaliação das revisões elegidas de acordo com a *checklist Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)*

Prisma 2015 checklist	- Tannock (1998)	- Dickstein et al. (2006)	- Paloyelis et al. (2007)	+ Valera et al. (2007)	+ Ellison-Wright et al. (2008)	-Hutchinson et al. (2008)	o Durston et al. (2009)	- Perlov et al. (2009)	+ Cortese et al. (2012)	- Hart et al. (2012)	- van Ewijk et al. (2012)	+ Aoki et al. (2013)	- Hart et al. (2013)	- McCarthy et al. (2014)	- Spencer et al. (2014)	- Lei et al. (2015)	+ Chen et al. (2016)
Título																	
1 Título		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim
Abstract																	
2 Resumo estruturado		Sim		Sim	Sim			Sim	Sim				Sim	Sim	Sim	Sim	
Introdução																	
3 Racional	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
4 Objectivos				Sim	Sim				Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		
Métodos																	
5 Protocolo e registo																	
6 Critérios de elegibilidade		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
7 Fontes de informação		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
8 Procura		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
9 Seleção estudos		Sim			Sim			Sim	Sim	Sim		Sim	Sim			Sim	Sim
10 Processamento da recolha de informação		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim
11 Itens dos artigos		Sim		Sim	Sim			Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim
12 Risco individual de viés				Sim		Sim						Sim					
13 Medidas de sumário				Sim		Sim		Sim	Sim			Sim	Sim	Sim			
14 Síntese dos resultados		Sim						Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim			Sim
15 Risco conjunto de viés				Sim								Sim					
16 Análise adicional								Sim	Sim			Sim					Sim
Resultados																	
17 Seleção dos estudos									Sim	Sim		Sim			Sim		Sim
18 Característica dos estudos		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim	Sim
19 Risco individual de viés				Sim		Sim						Sim					
20 Resultado individual dos estudos		Sim				Sim		Sim		Sim	Sim	Sim	Sim		Sim		Sim
21 Síntese dos resultados		Sim	Sim	Sim	Sim			Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim		Sim	Sim
22 Risco conjunto de viés												Sim					
23 Análise adicional		Sim						Sim	Sim			Sim	Sim				Sim
Discussão																	
24 Resumo da evidência		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
25 Limitações		Sim	Sim		Sim	Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim



26 Conclusões	Sim																
Financiamento																	
27 Financiamento	Sim	Sim		Sim	Sim			Sim	Sim	Sim		Sim	Sim	Sim	Sim		Sim
Número de itens identificados	8	16	7	19	15	14	8	18	21	17	14	25	20	16	14	12	19

Legenda: "+" Revisão incluída nesta revisão; "-" Revisão excluída desta revisão; "o" Revisão com inclusão parcial dos seus resultados.

(Liberati et al., 2009).



Tabela 4-8. Tomada de decisão relativa à exclusão de revisões quantitativas de Imagem por Ressonância Magnética Funcional

Critérios de comparação	- Dickstein et al. (2006)	+ Cortese et al. (2012)	- Hart et al. (2012)	- Hart et al. (2013)	- McCarthy et al. (2014)	- Lei et al. (2015)
Número de estudos na revisão	16	55	8	32	20	22
Número de estudos exclusivos	7	17	2	5	2	4
Número critérios PRISMA	16	21	17	20	16	12
População						
Crianças e adultos	-	+	-	-	-	-
Crianças	-	+				
Adultos		+				
Sem comorbilidade especificada		+				
Análise de tarefas						
Funções executivas em conjunto	-	+				
Tarefas inibitórias em conjunto	-	+		-		-
Tarefa <i>N-back-task</i>					-	
Tarefa <i>Go/No-go</i>					-	
Tarefa <i>Stop-task</i>					-	
Tarefas de memória de trabalho		+				
Tarefas de atenção		+				
Tarefas de temporização			-			
Diferenças entre uso ou não de medicação						
					-	

Legenda: "+" Revisão incluída nesta revisão; "-" Revisão excluída desta revisão; PRISMA Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses. A presença dos símbolos na coluna da revisão representa a presença do tópico no seu conteúdo.

(Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006; Hart et al., 2012, 2013; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014).

Tabela 4-9. Sumário das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos

Autores da revisão e ano de publicação	Objectivo da revisão	Número total de estudos incluídos na revisão (número por método de avaliação)	Intervalo de anos dos estudos incluídos na revisão	Número total de participantes (número por método de avaliação)
Tannock (1998)	Identificar diferenças genéticas, cognitivas e neuroanatômicas estruturais comparativamente a crianças com PHDA e a normalidade	38 (14 MRI; 5 EEG; 9 ERP; 5 SPECT; 4 PET; 1fMRI)	1984-1998	Não reportado claramente; amostras comuns entre estudos
Dickstein et al. (2006)	Identificar diferenças neuroanatômicas funcionais entre crianças e adultos com PHDA, e crianças com PHDA, comparativamente à normalidade na generalidade das tarefas das funções executivas; de crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade em tarefas inibitórias	16 (13 fMRI; 3 PET)	1995-2006	381 (326 fMRI; 55 PET)
Paloyelis et al. (2007)	Identificar diferenças neuroanatômicas funcionais entre crianças e adultos com PHDA e a normalidade em tarefas das funções executivas	18 fMRI	1998-2006	Não reportado
Hutchinson et al. (2008)	Identificar alterações estruturais no corpo caloso comparativamente a crianças com PHDA e a normalidade	13 MRI	2000-2008	577 fMRI
Perlov et al. (2009)	Identificar alterações na composição química nas regiões anatómicas encefálicas entre a PHDA e a normalidade	16 MRS	2001-2007	381 MRS
Hart et al. (2012)	Identificar alterações neuroanatômicas funcionais em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade em tarefas de temporização	8 fMRI	1999-2012	295 fMRI
van Ewijk et al. (2012)	Identificar alterações na matéria branca em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade através de MRI-DTI-TBSS	15 MRI-DTI	2008-2011	543 MRI-DTI
Hart et al. (2013)	Identificar alterações neuroanatômicas funcionais em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade em tarefas de inibição e alterações na idade e medicação	34 fMRI	2005-2011	956 fMRI

McCarthy et al. (2014)	Identificar alterações neuroanatômicas funcionais em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade nas tarefas inibitórias <i>Go/No-go</i> , <i>Stop-task</i> e <i>N-back-task</i>	20 fMRI	1999-2011	708 fMRI
Spencer et al. (2014)	Identificar alterações na composição química nas regiões anatômicas encefálicas entre as perturbações do foro mental e a normalidade	13 MRS	2001-2013	273 MRS
Lei et al. (2015)	Identificar alterações neuroanatômicas funcionais em crianças e adultos com PHDA comparativamente à normalidade nas tarefas inibitórias <i>Stop-signal</i> e <i>Go/No-go</i>	23 fMRI	1999-2014	656 fMRI

Legenda: DTI *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão; EEG *Electroencefalografia*; ERP *Event-Related Potential*, Potenciais de Eventos Relacionados; fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional; MRI *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética; MRS *Magnetic Resonance Spectroscopy*, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear; PET *Positron Emission Tomography*, Tomografia por Emissão de Positrões; PHDA *Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção*; SPECT *Single Photon Emission Computed Tomography*, Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único; TBSS *Tract-Based Spatial Statistics*, Estatística Espacial Baseada em Tractos; VBM *Voxel-Based Morphometry*, Análise de Morfometria *voxel a voxel*.

(Dickstein et al., 2006; Hart et al., 2012, 2013; Hutchinson et al., 2008; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Paloyelis et al., 2007; Perlov et al., 2009; A. E. Spencer et al., 2014; Tannock, 1998; van Ewijk et al., 2012).

Tabela 4-10. Resumo dos critérios de qualidade das revisões excluídas após análise da sobreposição de estudos

Autores da revisão e ano de publicação	(i) Tipo de estudos; (ii) tipos de participantes	Base(s) de dados pesquisada(s): anos de publicação pesquisados: data da pesquisa	Comparação dos estudos incluídos	Avaliação do viés de publicação	Avaliação de heterogeneidade
Tannock (1998)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	Não reportado: não reportado: não reportado	Tabela comparativa	Não reportado claramente	Não reportado
Dickstein et al. (2006)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças vs. controlos; PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> e <i>Google Scholar</i> : não reportado; não reportado	Tabela comparativa; Análise ALE	Não reportado claramente	Não reportado claramente
Paloyelis et al. (2007)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> e <i>Web of Knowledge</i> : sem limite: Março 2007	Tabela comparativa	Não reportado	Não reportado
Hutchinson et al. (2008)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças vs. controlos	<i>PubMed</i> e <i>PsycINFO</i> : 1980 e 2006: não reportado	Tabela comparativa; medida de efeito	Avaliado estatisticamente	Não reportado
Perlov et al. (2009)	(i) Não reportado; (ii) PHDA crianças vs. controlos	<i>PubMed</i> : sem limite: Setembro 2007	Tabela comparativa; medida de efeito	Não reportado	Avaliado estatisticamente
Hart et al. (2012)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>Science Direct</i> , <i>Google Scholar</i> , <i>Web of Knowledge</i> e <i>Scopus</i> : não reportado: não reportado	Tabela comparativa; análise ALE	Não reportado	Não reportado
van Ewijk et al. (2012)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>PsychInfo</i> e <i>Web of Science</i> : até Junho 2011: não reportado	Tabela comparativa; análise ALE	Não reportado	Não reportado
Hart et al. (2013)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>Science Direct</i> , <i>Google Scholar</i> , <i>Web of Knowledge</i> e <i>Scopus</i> : não reportado: Maio 2012	Tabela comparativa; análise ALE	Não reportado	Não reportado
McCarthy et al. (2014)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos; PHDA crianças vs. controlos	<i>PubMed</i> , <i>Science Direct</i> , <i>Web of Knowledge</i> e <i>Scopus</i> : até Janeiro 2012: não reportado	Análise ALE	Não reportado	Não reportado
Spencer et al. (2014)	(i) Não reportado; (ii) PHDA vs. controlos; Outras	<i>PubMed</i> : não reportado: 14 Agosto 2013	Tabela comparativa	Não reportado	Não reportado



	vs. controlos vs. PHDA				
	(i) Não reportado;				
	(ii) PHDA vs. controlos; PHDA	<i>PubMed, Scopus, Medline,</i>	Tabela	Não	Não
Lei et al. (2015)	crianças vs. controlos: PHDA adultos vs. controlos	<i>Science Direct:</i> Janeiro 1996-Dezembro 2012: não reportado	comparativa; análise ALE	reportado	reportado

Legenda: ALE *Activation Likelihood Estimation*; PHDA *Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção*.

(Dickstein et al., 2006; Hart et al., 2012, 2013; Hutchinson et al., 2008; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Paloyelis et al., 2007; Perlov et al., 2009; A. E. Spencer et al., 2014; Tannock, 1998; van Ewijk et al., 2012).



Tabela 4-11. Resultados da revisão de revisões em crianças com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Região encefálica		Avaliação e comparação	Efeito relativo (95% IC)	Número de participantes (número de revisões: número de estudos)	Comentários	
Telencéfalo	Cérebro	Menor volume total cerebral				
		Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,485	1163 (1:21)		
		Análise qualitativa de resultados de MRI com, pelo menos, três estudos com o mesmo resultado/Crianças PHDA vs. controlos (Durston et al. 2009)		Não reportado (1:21)	Análise qualitativa dos 21 estudos exclusivos	
		Menor volume cerebral direito				
		Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,500	1163 (1:21)		
	Lobo frontal	Menor volume lobo frontal				
		Análise qualitativa de resultados de MRI com, pelo menos, três estudos com o mesmo resultado/Crianças PHDA vs. controlos (Durston et al. 2009)		Não reportado (1:21)	Análise qualitativa dos 21 estudos exclusivos	
		Hipoactivação giro frontal superior medial bilateral (BA6)				
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0211	1542 (1:55)		
		Hipoactivação área motora suplementar (BA6)				
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0211	1542 (1:55)		
		Hipoactivação sulco frontal inferior direito				
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0134	1542 (1:55)		
		Hipoactivação sulco pré-central inferior direito				
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0134	1542 (1:55)		
		Hipoactivação giro frontal medial esquerdo (BA 9/46)				
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0131	1542 (1:55)		
		Hipoactivação giro frontal medial direito (BA 9/46)				
	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0115	1542 (1:55)			
	Lobo parietal	Menor espessura cortical				
		Análise qualitativa de resultados de MRI com, pelo menos, três estudos com o mesmo resultado/Crianças PHDA vs. controlos (Durston et al. 2009)		Não reportado (1:21)	Análise qualitativa dos 21 estudos exclusivos	
Hipoactivação giro pós-central direito						
Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)		<i>Extrema value</i> 0,0136	1542 (1:55)			
Hipoactivação inferior direita (BA 40)						
Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0145	1542 (1:55)				
Hiperactivação giro angular direito						
Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0135	1542 (1:55)				
Hiperactivação sulco subparietal direito						

Cerebelo	Corpo caloso	Lobo Temporal	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0101	1542 (1:55)			
			Hipoactivação giro temporal superior direito (BA 22)	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0136	1542 (1:55)		
	Lobo occipital		Hiperactivação giro occipital medial direito	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0135	1542 (1:55)		
			Hipoactivação giro paracingulado bilateral (BA32)	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0186	1542 (1:55)		
	Córtex cingulado		Hiperactivação posterior direita	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0101	1542 (1:55)		
			Hiperactivação medial direita	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0101	1542 (1:55)		
			Hiperactivação na matéria branca subopercular direita	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0101	1542 (1:55)		
	Córtex insular		Menor volume núcleo caudado direito	Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,344	1163 (1:21)		
				Análise qualitativa de resultados de MRI com, pelo menos, três estudos com o mesmo resultado/Crianças PHDA vs. controlos (Durston et al. 2009)		Não reportado (1:21)	Análise qualitativa dos 21 estudos exclusivos	
	Núcleos da base	Corpo estriado	Núcleo caudado	Diminuição de matéria cinzenta direita	Análise quantitativa ALE de MRI-VBM estrutural/Crianças PHDA vs. controlos (Ellison-Wright et al. 2008)		257 (1:6)	
				Hipoactivação direita	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0148	1542 (1:55)	
		Putâmen		Hipoactivação esquerda	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Crianças PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	Extrema value 0,0119	1542 (1:55)	
				Diminuição de matéria cinzenta direita	Análise quantitativa ALE de MRI-VBM estrutural/Crianças PHDA vs. controlos (Ellison-Wright et al. 2008)		257 (1:6)	
				Menor volume do esplénio	Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,592	1163 (1:21)	
		Globo pálido		Menor volume esquerdo	Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,431	1163 (1:21)	
				Menor volume direito	Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,463	1163 (1:21)	
	Cerebelo		Menor volume no vérmis	Análise quantitativa das diferenças de volume/área por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos (Valera et al. 2007)	SMD 0,671	1163 (1:21)		
			Menor volume no vérmis posterior inferior lóbulos VIII-X					

Análise quantitativa das diferenças de volume/área
por ROI em MRI/Crianças PHDA vs. controlos
(Valera et al. 2007)

SMD 1163 (1:21)
0,774

Legenda: ALE *Activation Likelihood Estimation*; BA *Broadmann Area*, Área de Broadmann; fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional; IC Intervalo de Confiança; MRI *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; ROI *Region of Interest*, Região de Interesse; SMD *Standardized Mean Difference*, Diferença das Médias Padronizadas; VBM *Voxel-Based Morphometry*, Análise de Morfometria voxel a voxel.
(Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Durston et al., 2009; Ellison-Wright et al., 2008; Valera et al., 2007).

Tabela 4-12. Resultados da revisão de revisões em adultos com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Região encefálica		Avaliação e comparação	Efeito relativo (95% IC)	Número de participantes (número de revisões: número de estudos)	Comentários
Telencéfalo	Cérebro	Hipoactivação sulco central e giro pré-central direito			
		Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Adultos PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0106	1542 (1:55)	
		Hipoactivação giro frontal medial direito (BA 10)			
	Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Adultos PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0103	1542 (1:55)		
	Lobo parietal	Hiperactivação giro angular direito			
Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Adultos PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0152	1542 (1:55)			
	Lobo occipita	Hiperactivação giro occipital medial direito			
Análise quantitativa ALE de fMRI em tarefas executivas/Adultos PHDA vs. controlos (Cortese et al. 2012)	<i>Extrema value</i> 0,0152	1542 (1:55)			

Legenda: ALE *Activation Likelihood Estimation*; BA *Broadmann Area*, Área de Broadmann; fMRI *functional Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética Funcional; IC Intervalo de Confiança; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

(Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

Tabela 4-13. Resultados da revisão de revisões em crianças e adultos com Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Região encefálica		Avaliação e comparação	Efeito relativo (95% IC)	Número de participantes (número de revisões: número de estudos)	Comentários
Telencéfalo	Cérebro	Níveis aumentados de NAA no córtex pré-frontal medial			
	Lobo frontal	Análise quantitativa dos níveis metabólicos por região em MRS/Crianças e adultos PHDA vs. controlos (Aoki et al. 2013)	SMD 0,483	505 (1:16)	
		Diminuição dos valores de anisotropia fraccional no estrato sagital direito			
	Lobo occipital	Análise quantitativa dos valores de anisotropia fraccional encefálica por MRI-DTI-TBSS/Crianças e adultos PHDA vs. controlos (Chen et al. 2016)	SDM 1,669	947 (1:10)	
Corpo caloso	Esplénio	Diminuição dos valores de anisotropia fraccional			
		Análise quantitativa dos valores de anisotropia fraccional encefálica por MRI-DTI-TBSS/Crianças e adultos PHDA vs. controlos (Chen et al. 2016)	SDM 2,111	947 (1:10)	
	Tapete	Diminuição dos valores de anisotropia fraccional			
		Análise quantitativa dos valores de anisotropia fraccional encefálica por MRI-DTI-TBSS/Crianças e adultos PHDA vs. controlos (Chen et al. 2016)	SDM 1,097	947 (1:10)	

Legenda: DTI *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão; IC Intervalo de Confiança; MRI *Magnetic Resonance Imaging*, Imagem por Ressonância Magnética; MRS *Magnetic Resonance Spectroscopy*, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear; NAA N-Acetilaspártato; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; SMD *Standardized Mean Difference*; TBSS *Tract-Based Spatial Statistics*, Estatística Espacial Baseada em Tractos.

(Aoki et al., 2013; L. Chen et al., 2016).



Tabela 4-14 Variações funcionais de acordo com a tarefa em crianças e adultos

Agrupando as **tarefas das funções executivas** avaliadas é observado um padrão de hipoactivação no lobo frontal: giro frontal medial superior e área motora suplementar (BA 6) bilateralmente (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012) ou à esquerda (Dickstein et al., 2006); giro frontal inferior (BA 13, 44) esquerdo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006) e direito (BA 12 e 47) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); giro frontal medial esquerdo (BA 8, 9, 46) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006); sulco frontal e pré-central inferior direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); e giro pré-central direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012) e esquerdo (Dickstein et al., 2006).

Relativamente ao lobo parietal, em todas as tarefas das funções executivas avaliadas é observado um padrão de hipoactivação: giro pós-central direito (BA 40) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006); região posterior no pré-cúneo (BA 7) direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006) e esquerdo (Dickstein et al., 2006); e giro supramarginal direito (BA 40) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

Nas restantes regiões são observados padrões de hipoactivação menos generalizados e que incluem: giro temporal superior direito (BA 22) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); giro occipital medial esquerdo (BA 19) (Dickstein et al., 2006); giro cingulado esquerdo (BA 24, 32) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006) e direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); núcleos da base putâmen esquerdo e direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012) e claustró (estriado e ínsula) direito (Dickstein et al., 2006); e tálamo direito (Dickstein et al., 2006).

São observadas menos diferenças de hiperactivação, em todas as tarefas das funções executivas avaliadas, que incluem: giro frontal medial esquerdo (BA 9, 10) (Dickstein et al., 2006) e inferior esquerdo (BA 12, 45, 47) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); sulco frontal direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); matéria branca frontal direita (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); córtex insular direito (BA 13) (Dickstein et al., 2006); giro temporal transversal esquerdo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); lobo central parietal (BA 5) (Dickstein et al., 2006); giro angular direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); sulco subparietal (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); giro occipital medial direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); córtex cingulado posterior e medial direitos (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); e tálamo direito (Dickstein et al., 2006).

Analisando os padrões de activação somente em **tarefas de inibição de resposta** são observadas alterações de hipoactivação: no giro frontal inferior direito (BA 44, 45) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006) e esquerdo (BA 47) (Dickstein et al., 2006); giro frontal superior e área motora suplementar (BA 6) esquerdo e direito (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015); giro frontal medial (BA 9, 46)

(Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Lei et al., 2015); giro e sulco frontal inferior esquerdo (BA 9, 45, 46) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); giro pré-central; região superior do lobo parietal esquerda (BA 24) (Dickstein et al., 2006); giro cingulado direito (BA 24, 32) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Dickstein et al., 2006) e esquerdo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); giro temporal superior direito (BA 22) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); região insular (Lei et al., 2015); giro occipital inferior esquerdo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); núcleos da base no corpo caudado (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015); tálamo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Lei et al., 2015) e região direita do tálamo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); e no mesencéfalo no colículo superior esquerdo (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012).

O padrão de hiperactivação também foi observado: no giro frontal medial (BA 10) (Dickstein et al., 2006) e inferior (Lei et al., 2015); na matéria branca direita na região do sulco frontal (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012); no giro pós-central (Lei et al., 2015); no giro occipital medial (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Lei et al., 2015); e na região paracentral do lobo parietal (Dickstein et al., 2006).

Na análise dos padrões de activação em **tarefas específicas de inibição de resposta** são observados padrões de hipoactivação. Em tarefas de *N-back* é observada hipoactivação no giro frontal (Hart et al., 2013) medial esquerdo e superior bilateralmente (McCarthy et al., 2014). Em tarefas de *Go/No-go* é observada hipoactivação no giro frontal medial esquerdo e núcleos da base caudado direito (McCarthy et al., 2014). Nas tarefas conjuntas de inibição motora *Go/No-go* e *Stop-task* é observada hipoactivação na área suplementar motora, córtices cingulado anterior e frontal inferior, região insular, tálamo direito, giro fusiforme direito e núcleo da base caudado esquerdo (Hart et al., 2013). Em tarefas de *Simon* e de *Stroop* é observada hipoactivação nos córtices cingulado anterior e frontal inferior, ínsula, núcleo da base caudado e lobo parietal (Hart et al., 2013). Em tarefas de atenção é observada hipoactivação no córtex pré-frontal dorsal lateral (Hart et al., 2013), giro paracingulado direito (BA 32) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012), região parietal inferior direita, pré-cúneo direito, região temporal superior direita, núcleos da base putâmen e globo pálido esquerdos e caudado, região insular posterior e tálamo direito (Hart et al., 2013). Em tarefas de atenção é observada hiperactivação do cerebelo direito e cúneo esquerdo (Hart et al., 2013). Na conjugação de tarefas de inibição e de atenção é observada hipoactivação na área suplementar motora e córtex cingulado anterior bilateralmente, córtex frontal inferior direito, ínsula anterior, tálamo direito e núcleos da base caudado e putâmen (Hart et al., 2013). Em tarefas de memória é observada hipoactivação na ínsula anterior e do giro frontal inferior e frontal medial direito (BA 10) (Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012). Por fim, em tarefas de temporização é observada hipoactivação no giro frontal inferior esquerdo, córtex pré-frontal dorsal lateral direito, ínsula esquerda, giro supramarginal esquerdo, giro pós-central esquerdo e giro superior temporal esquerdo (Hart et al., 2012). É observada

hiperactivação no córtex cingulado e bilateralmente no pré-cúneo e cúneo posterior (Hart et al., 2012).

Legenda: BA *Broadmann Area*, Área de Broadmann.

Tabela 4-15 Variações nas diferenças neuroanatômicas com a idade

Algumas das revisões incluídas procuraram relacionar as diferenças neuroanatômicas com a idade dos participantes. Na comparação directa, por método funcional, entre crianças e adultos nas tarefas de inibição, somente em crianças é observada menor activação nos núcleos da base putâmen e caudado direito, área suplementar motora e córtex cingulado anterior (Hart et al., 2013), principalmente, a menor activação no caudado direito em crianças (Lei et al., 2015). Especificamente em tarefas de *Stop-task* em crianças mais velhas é observado uma maior normalização no giro frontal inferior direito (McCarthy et al., 2014). Nas tarefas *Go/No-go*, o aumento da idade em adulto coincide com a maior activação nos giros occipital lateral e fusiforme e uma menor activação no tálamo direito (McCarthy et al., 2014). O aumento da idade em crianças coincide com uma normalização das diferenças nos giros frontal inferior esquerdo e temporal inferior esquerdo (McCarthy et al., 2014). Em tarefas de atenção, nas crianças é mais pronunciada a hipoactivação nos núcleos da base, área motora suplementar e córtex cingulado anterior, enquanto em adultos é mais pronunciado no córtex frontal inferior e tálamo (Hart et al., 2013).

Na comparação estrutural por anisotropia fraccional do corpo caloso, nas duas regiões, esplénio e tapete, onde foram identificadas alterações significativas é observada, por metarregressão, uma associação negativa com a média de idade dos participantes (L. Chen et al., 2016).

Na análise dos níveis metabólicos de NAA, que se encontram aumentados na PHDA, a metarregressão identifica uma associação negativa com o aumento da média de idade (Aoki et al., 2013).

As alterações podem ter tendência a normalizar com o aumento da idade

Na comparação dos resultados entre crianças e adultos é observável uma coerência das regiões neuroanatômicas possivelmente afectadas. Esta tendência da continuidade das alterações foi observada em nas metodologias de diagnóstico estruturais e funcionais (Aoki et al., 2013; L. Chen et al., 2016; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Durston et al., 2009; Hart et al., 2012, 2013; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014; Paloyelis et al., 2007; A. E. Spencer et al., 2014; van Ewijk et al., 2012). Os resultados desta revisão parecem ser convergentes com as suposições da continuidade da PHDA na vida adulta e com a diminuição das alterações com o aumento da idade (Bálint et al., 2009; Bergen et al., 2007; Cubillo & Rubia, 2010; Meszaros, Czobor, Balint, Simon, & Bitter, 2007; Nakao et al., 2011; G. Polanczyk & Jensen, 2008; Rudo-Hutt, 2015). A assimetria da quantidade de estudos entre crianças, adolescentes e adultos dificulta bastante qualquer conclusão relativa a esta diferença.

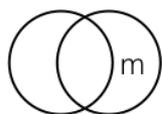
Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.



Tabela 4-16 Variações nas diferenças neuroanatômicas com a intervenção farmacológica

Algumas das revisões incluídas procuraram relacionar as diferenças neuroanatômicas com a intervenção farmacológica. Na análise das alterações funcionais na generalidade das tarefas, as primeiras revisões não demonstram relação com a intervenção farmacológica (Dickstein et al., 2006; Paloyelis et al., 2007). Posteriormente, a medicação a longo prazo é associada a um aumento da activação no córtex pré-frontal dorsal lateral (Hart et al., 2012) e caudado direito (Hart et al., 2013). Na globalidade das tarefas de inibição não foram observadas diferenças de resultado com a intervenção farmacológica (Hart et al., 2013). Nas tarefas de *N-back*, os participantes sem medicação apresentaram menor activação no giro frontal medial e superior bilateralmente. Nas tarefas de *Stop-task*, a menor percentagem de tratamento farmacológico encontra-se ligada a maiores diferenças no giro frontal superior direito, enquanto a maior percentagem encontra-se ligada a maior activação no cerebelo esquerdo. Em tarefas *Go/No-go*, a menor percentagem de adultos com tratamento farmacológico encontra-se ligada a menor actividade no giro fusiforme esquerdo, enquanto a maior percentagem encontra-se ligada a menores diferenças observadas no caudado direito e giro frontal superior direito (McCarthy et al., 2014). Em tarefas de atenção, a maior percentagem encontra-se ligada a maior activação no caudado direito (Hart et al., 2013).

Na comparação estrutural realizada por anisotropia fraccional não foi identificada diferença com a presença de tratamento farmacológico (L. Chen et al., 2016).



5 Revisão do tipo *Scoping Review*: o Microbioma Humano

As comunidades microbianas dos ecossistemas das várias regiões corporais são essenciais às funções vitais dos sistemas corporais, assegurando a saúde da relação simbiótica entre os micróbios e o ser humano.

Recentemente tem surgido evidência que demonstra que a flora intestinal desempenha um papel importante no funcionamento do sistema neurológico. Existem funções moleculares e metabólicas que são realizadas pelos diferentes conjuntos de microorganismos presentes no corpo humano, a microbiota, cuja alteração pode modificar o funcionamento dos sistemas corporais e resultar em condições patológicas. A maioria desta evidência resulta de estudos em animais, em que a manipulação de variáveis é mais simples, no entanto, surge já evidência de que as alterações da microbiota humana podem resultar em Perturbações do Neurodesenvolvimento e psiquiátricas. Existe uma necessidade urgente de rever os conceitos desta relação de forma a avançar o conhecimento nesta área (Cenit, Nuevo, Codoner-Franch, Dinan, & Sanz, 2017). Por exemplo, ainda é observado que a definição dos dois termos *microbiota* e *microbioma* não é similar em todas as publicações científicas (Ursell, Metcalf, Parfrey, & Knight, 2012). Nesta tese a utilização do termo *microbiota* refere-se ao conjunto total de micróbios, *Bacteria*, *Fungi*, *Virus* e outros, que existem naturalmente num nicho biológico específico como, por exemplo, um organismo, solo ou corpo de água (PubMed, 2014). O termo *microbioma* corresponde ao património genético da microbiota correspondente.

O estudo microbiano tem tido nos últimos anos uma representação significativa de investigação ao abrigo de três projectos impulsionadores: em 2008, com o Projecto do



Microbioma Humano nos Estados Unidos da América (Human Microbiome Project Consortium, 2012; PubMed, 2010); com o Projecto Europeu Metagenómica do Tracto Intestinal Humano (PubMed, 2008); e em Agosto de 2010 com o Projecto do Microbioma Terrestre (do inglês, *Earth Microbiome Project*) (Gilbert, Jansson, & Knight, 2014).

Numa expressão do interesse transversal às várias comunidades científicas, estes projectos são constituídos por vários subprojectos com diversas questões centrais e já com um volume significativo de publicações. O estudo microbiano nos diversos ecossistemas terrestres, através do Projecto do Microbioma Terrestre, tem o objectivo de identificar a diversidade microbiana planetária, inicialmente de 200 000 amostras, e partilhar comunitariamente os resultados (Gilbert et al., 2014). Apesar de responder a questões que saem fora do âmbito desta tese, foram utilizadas algumas referências por serem significativas na compreensão do exemplo humano através do enquadramento biológico interespecies.

Os projectos focados no Microbioma Humano, o Projecto do Microbioma Humano e o Projecto Europeu Metagenómica do Tracto Intestinal Humano, surgiram com o objectivo análogo de caracterizar o Microbioma Humano, compreender as suas variações em diferentes populações, genótipos, idade, nutrição, doenças, medicação e ambiente e identificar a influência nas doenças, criando uma base de dados que, através de *software* de código aberto, possa suportar futuras investigações (Arumugam, Harrington, Foerstner, Raes, & Bork, 2010; Barinov et al., 2009; Dusko Ehrlich, 2010; Navas-Molina et al., 2013; Peterson et al., 2009; Proctor, 2011; Qin et al., 2010).

Em 2017, surgiu o primeiro estudo que identificou alterações na constituição da microbiota intestinal pela comparação entre participantes com PHDA e um grupo controlo representativo da normalidade, com possível ligação com o circuito de recompensa (Aarts et al., 2017). Apesar das limitações metodológicas associadas a este estudo, foi identificada a necessidade de investigar de que forma estas alterações condicionam o funcionamento neuronal.

Assim, através de uma revisão do tipo *Scoping Review* com uma pesquisa electrónica nas bases de dados *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*, foi pretendido expor o conhecimento actual da área emergente do estudo científico do Microbioma Humano e identificar os principais pressupostos que poderão ser conceptualmente associados à etiologia da PHDA.



5.1 Habitam micróbios no corpo humano

O ser humano é um organismo dinâmico com uma simbiose ubíqua com vários domínios de micróbios.

O corpo humano é constituído por diferentes tipos de células como, por exemplo, as células da pele, do sangue, dos músculos e neurónios. À parte destas células, o corpo humano aloja em si um número superior de células *não-humanas*, as células microbianas, que constituem o Microbioma Humano. Este rácio entre micróbio e célula humana foi reportado com ordens entre 100:1 e 1:1, o que representa uma necessidade clara da mudança do paradigma negativo da associação entre as patologias e as comunidades microbianas (Peterson et al., 2009; Sender, Fuchs, & Milo, 2016).



5.1.1 Os micróbios são muito mais do que uma fonte de doenças para os animais

Os micróbios estabelecem simbioses essenciais nos vários seres vivos.

Importa esclarecer antecipadamente o conceito de *micróbio*, dado o seu significado científico dúbio. A história da definição terá começado quando Robert Hooke no primeiro registo escrito do uso de um microscópio, no ano de 1665, identificou componentes que "se aparentam como algo porosos como um favo de mel", parecidos à organização das celas dos mosteiros habitadas por monges, dando origem ao termo *célula*, de pequena cela (Karp, 2013). Posteriormente em 1878, Pasteur adoptou o termo *micróbio* referindo-se a organismos que não são observados a olho nu, mas apenas com auxílio do microscópio (Raoult, 2013). Apesar de pouco específico, este conceito de *micróbio* ou *microorganismo* ainda se mantém.

No mundo científico, as classificações são sempre dependentes dos instrumentos disponíveis. O mesmo tem acontecido no estudo dos micróbios, dada a abertura do conceito inicial. Devido ao desenvolvimento da tecnologia associada ao estudo filogenético, estas classificações biológicas têm sofrido alterações (Hug et al., 2016; Koonin & Wolf, 2012; Martin & Sousa, 2015; Moreira & Lopez-Garcia, 2015; Raoult, 2013). Assim, nesta tese foi adoptada a classificação actualmente mais estável, mantendo-se focada na influência dos micróbios no corpo humano, principalmente, no sistema neurológico.

Todos os seres vivos, com base na sua complexidade estrutural, são divididos na *árvore da vida* em procarióticos e eucarióticos. Os procarióticos são divididos em dois domínios taxonómicos, *Eubacteria* e *Archaea*, sendo mais simples, unicelulares e sem o seu DNA num núcleo celular. A separação entre *Bacteria* e *Archaea* está associada à sua função e ao património genético, apesar das semelhanças estruturais. Os micróbios encontram-se presentes em todos os domínios e nos vírus. Os vírus são considerados uma categoria à parte devido ao facto de serem apenas constituídos por material genético e terem a necessidade de uma célula hospedeira para se reproduzirem. O terceiro domínio contempla os seres eucarióticos, que são mais complexos e cujo domínio inclui o ser humano e as suas células (Karp, 2013).

Desde a descoberta do mundo microbiano, que a compreensão das doenças infecto-contagiosas lhe têm estado associada através da interacção entre o hospedeiro e parasita. O crescimento da Teoria dos Germes, com base no trabalho de Louis Pasteur, implicou as bactérias como causas de doenças (Barnard, 1873; Elliott, 1870; Karp, 2013; Koch, 1890; D. W. Williams, 1871; V. B. Young, 2016) ou como parasitas que alteram o funcionamento e comportamento do hospedeiro (Eisthen & Theis, 2016; Poulin, 2013). No entanto, nos domínios em que estão presentes, os micróbios são também não-patogénicos e simbióticos, estando as suas comunidades relacionadas com outros seres vivos ou vivendo noutros seres vivos (Bouchon, Zimmer, & Dittmer, 2016; Eisthen & Theis, 2016; McFall-Ngai, 2008). A extensão destes comportamentos simbióticos tem ultrapassado a noção de um comensalismo microbiano, que considerava que os micróbios se aproveitavam do excedente do hospedeiro animal, sendo actualmente considerada universal a simbiose entre *Bacteria* e eucarióticos (Diaz-Munoz, Boddy, Dantas, Waters, & Bronstein, 2016).

Os microorganismos são os seres mais abundantes e diversos. Desde a sua origem que os organismos multicelulares eucarióticos têm co-evoluido com os microorganismos unicelulares como as bactérias, *Archaea*, fungos, *Protozoa* e vírus. (Eisthen & Theis, 2016; Karp, 2013; McFall-Ngai, 2008). No entanto, esta evolução conjunta vai muito mais além da simples tolerância, incluindo simbioses de elevada dependência e interenvolvência, possuindo processos de adaptação complexos de forma a providenciar aos microorganismos benefícios de comida, *habitat* e protecção (Bouchon et al., 2016; Eisthen & Theis, 2016).

Estas envolvências dinâmicas ocorrem nos vários ecossistemas, desde a grande diversidade existente nos sedimentos dos rios, mares ou solo (S. M. Gibbons et al., 2014), à colonização não aleatória das vísceras, superfície externa e órgãos reprodutores de animais (Eisthen & Theis, 2016). As descobertas de binários entre hospedeiro e simbiote redireccionaram a investigação, resultando no reconhecimento destas relações complexas e altamente dinâmicas entre o animal hospedeiro e o seu ecossistema de micróbios simbiotes, a microbiota (Bouchon et al., 2016; Eisthen & Theis, 2016).

O microbioma, que corresponde ao património genético da microbiota, tem sofrido uma revolução significativa nas últimas décadas devido ao desenvolvimento da tecnologia de sequenciação de DNA (Bouchon et al., 2016; Karp, 2013; Koonin & Wolf, 2012; Martin & Sousa, 2015; Moreira & Lopez-Garcia, 2015). Este desenvolvimento permitiu observar que esta relação simbiótica vai para além do benefício para os micróbios, pois há igualmente uma grande influência do microbioma no próprio hospedeiro, podendo modular o funcionamento corporal, desenvolvimento, nutrição, sistema imunológico, susceptibilidade a doenças e o próprio processo evolutivo das espécies (Bouchon et al., 2016; V. B. Young, 2016).

Seguem-se alguns exemplos. O nematóide *Caenorhabditis elegans* consegue evitar micróbios patogénicos que lhe provocam a morte devido aos micróbios nas células dos receptores olfactivos, que identificam os metabolitos bacterianos nocivos, produzem neuromoduladores que alteram a sua actividade neuronal e levam a que procure ambientes mais oxigenados, afastando-se dessas fontes nocivas. A mosca da fruta *Drosophila melanogaster*, na selecção da fruta para a sua alimentação, evita a presença do odor de geosmina resultante de concentrações mortais do fungo *Penicillium* e da bactéria *Streptomyces*. Este odor é detectado por uma classe muito específica de neurónios receptores olfactivos, localizados e projectados nas suas antenas, resultantes da evolução do sistema nervoso com os produtos microbianos (Eisthen & Theis, 2016).

Os produtos microbianos podem, igualmente, moldar o comportamento de interacção entre elementos com-específicos, da mesma espécie. A presença de micróbios simbióticos permite produzir componentes que são usados nas feromonas e nos repelentes. As glândulas odoríferas estão dependentes da comunidade microbiana para o seu correcto funcionamento. Os ratos usam receptores que são parte do sistema imunológico, para detectar infecções bacterianas com os seus com-específicos. O odor secretado pela fuinha *Herpestes auropunctatus* ocorre devido à produção de vários tipos de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) pelas bactérias presentes nas suas glândulas. A diferença de odores entre as duas espécies de hienas *Crocuta crocuta* e *Hyaena hyaena* está dependente dos seus diferentes perfis bacteriológicos e de AGCC, sendo estes mesmos perfis específicos para cada grupo social, sexo e estado reprodutivo. Os micróbios associados às marcas de urina do elefante africano *Loxodonta africana* e do rato doméstico *Mus musculus* são responsáveis pela produção de cetonas e álcoois urinários que sinalizam o estado de cio do macho. A feromona do gafanhoto *Schistocerca gregaria* altera os comportamentos solitários para comportamentos sociais, ao ponto de criarem enxames devastadores. Esta mudança ocorre devido a alterações genéticas e hormonais durante o crescimento, levando a que feromona guaiacol seja produzida na face de adultos machos, detectada pelos membros com-específicos e provocando os comportamentos gregários. Esta produção de guaiacol não é realizada pelo gafanhoto, mas por bactérias presentes na sua flora intestinal, como *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter cloacae*, provavelmente como um produto do

metabolismo de ácido vanílico derivado da digestão de *lignan*os presentes nas plantas da sua dieta (Eisthen & Theis, 2016).

A neurotoxina tetrodotoxina, que bloqueia os poros dos canais de voltagem de sódio e bloqueia a neurotransmissão em praticamente todos os seres multicelulares, é produzida por bactérias simbióticas como mecanismo de defesa por anfíbios terrestres, como a *Taricha granulosa* e a espécie *Atelopus* (Ritson-Williams, Yotsu-Yamashita, & Paul, 2006), pelo peixe-balão *Takifugu pardalis* e *Takifugu rubripes* (Eisthen & Theis, 2016; Satone et al., 2017), como mecanismo de ataque pelo polvo *Hapalochlaena maculosa* e por seis espécies de minhocas do filo *Chaetognatha* (Eisthen & Theis, 2016; Ritson-Williams et al., 2006).

A lula havaiana *Euprymna scolopes* apresenta um órgão ventral luminoso com a função de iluminar a zona ventral para não produzir sombra que possa atrair predadores em maior profundidade. Este órgão é colonizado por bactérias luminescentes *Vibrio fischeri* que são seleccionadas das restantes bactérias ambientais através de complexas adaptações da lula. Isto provoca adaptações evolutivas no próprio órgão e na constituição do SNC, uma vez que os olhos apresentam moléculas de fototransdução específicas para o tipo de luz emitido (Eisthen & Theis, 2016; McFall-Ngai, 2008). Similarmente, o peixe *Siphamia versicolor* apresenta um órgão luminoso ventral contendo bactérias luminescentes *Photobacterium mandapamensis*, apresentando uma preferência olfactiva para químicos produzidos por estas mesmas bactérias. Apesar desta simbiose, as bactérias que colonizam estes órgãos não são necessárias ao desenvolvimento do órgão em si, indicando uma associação intrínseca entre a anatomia e o funcionamento neurológico destes animais (Eisthen & Theis, 2016).



5.1.2 Existe uma complexa simbiose microbiana-eucariótica universal

A simbiose microbiana está tão intrinsecamente associada aos seres vivos que estes devem ser conceptualizados como organismos.

O conhecimento biológico tem sido progressivamente alterado. Actualmente, é reconhecido que existe uma relação simbiótica profunda entre os organismos dos diferentes domínios animais. Estas simbioses atingem relações de mutualismo e de cooperação que se têm estendido durante o percurso evolutivo, moldando a adaptabilidade de cada espécie. A relação simbiótica de *Bacteria* com os seres multicelulares eucarióticos também se estende às funções básicas corporais, desenvolvimento e comportamento. Este reconhecimento de interdependência entre os organismos, não só para o indivíduo, mas também para o sucesso evolutivo, tem levado à redefinição de definições básicas biológicas. Uma dessas definições é a de *organismo*, seguidamente exposta.



O primeiro desafio na conceptualização do que é um organismo reside na distinção entre *organismo*, *parte* de organismo e *grupo* de organismos. Consistindo a Biologia no estudo dos organismos, seria expectável que esta definição fosse clara e unânime. Tal não tem acontecido (Diaz-Munoz et al., 2016; Estrela, Kerr, & Morris, 2016; Pepper & Herron, 2008; Queller & Strassmann, 2009; Strassmann & Queller, 2010; S. A. West & Kiers, 2009). O problema central nesta conceptualização é relativo à discussão do que é um *indivíduo*. Este termo é igualmente utilizado em Filosofia e Psicologia, tendo uma abrangência mais ampla do que em Biologia (Pepper & Herron, 2008; Realo, Koido, Ceulemans, & Allik, 2002). A definição de *organismo* e *indivíduo* é mais facilmente aplicável em organismos multicelulares e complexos por ser baseada em características animais, em comparação com seres unicelulares ou microorganismos (S. A. West & Kiers, 2009). É mais simples a idealização da competição entre espécies, na perspectiva *Darwinista* de selecção natural do mais apto, no entanto, esta é uma perspectiva redutora da relação entre espécies (Queller & Strassmann, 2009).

A quantidade de definições disponíveis, e variantes respectivas, podem torná-las contraditórias ou confusas. No século XIX, um *indivíduo* correspondia a todas as formas que se desenvolvessem de um único ovo (Huxley em 1852) ou um membro de uma raça gerado sexualmente (Braun em 1853). Na primeira metade do século XX, foi acrescentada a noção de que um *organismo* é um sistema de actividades coordenado (Wheeler em 1911), sendo necessário ter partes heterogéneas (Huxley em 1912) que se traduzem numa entidade funcional (Huxley em 1912 e Juken em 1952). Na segunda metade do século XX, surgiram novos conceitos, sendo que as mais recentes consideram que os *indivíduos* podem ser considerados grupos de genes que se tornaram funcionalmente organizados por selecção natural de forma a se perpetuarem (Wilson & Sober em 1989) e que preenchem os três critérios básicos da individualidade: património genético único, homogeneidade genética e autonomia fisiológica (Santelices em 1999). A grande mudança com a descoberta microbiana reflectiu-se no conceito de que um *organismo* é um sistema vivo individual, como um animal, planta ou microorganismo, capaz de reprodução, crescimento e manutenção (Dicionário de Biologia, Oxford University Press em 2008) (Pepper & Herron, 2008; Strassmann & Queller, 2010). Parte desta dificuldade de definição de *organismo* ou *indivíduo* tem sido devida ao desconhecimento do mundo microbiano, algo que nas últimas décadas tem rapidamente mudado (Pepper & Herron, 2008).

O alargamento do conceito de microorganismo mudou a compreensão da *árvore da vida*. Desde procarióticos a eucarióticos e de unicelular a multicelular, todos os seres vivos são feitos de pequenas entidades que conjuntamente formam algo maior, coeso e funcionalmente integrado, que por sua vez permitiu transições evolutivas (Estrela et al., 2016; Strassmann & Queller, 2010; S. A. West & Kiers, 2009). No centro desta conceptualização está a ideia da ligação entre a evolução da complexidade biológica e a evolução da cooperação (Estrela et al., 2016). A inclusão da importância dos microorganismos, não só no indivíduo, mas também na transição evolutiva das espécies em que a evolução ocorre num universo simbiótico,



adensa a discussão da definição de *organismo* muito para além da atribuição semântica (Pepper & Herron, 2008; Queller & Strassmann, 2009).

Existem exemplos de simbiose cooperante entre diferentes espécies que são facilmente observáveis, como o caso da polinização. Mas actualmente o nível de evidência prende-se em relações mutualistas de elevada dependência. Esta simbiose demonstra estar muito além da existência conjunta, existindo uma cooperação intrínseca e indivisível entre os seres de diferentes domínios, como no caso de replicadores que juntamente originam células procarióticas, de células procarióticas que em conjunto formam uma célula eucariótica ou entre domínios tão diferentes como o domínio *Bacteria* e os seres complexos eucarióticos (Pepper & Herron, 2008; Strassmann & Queller, 2010). É nestes argumentos que é fundamentada a ideia de que alguns grupos de seres multicelulares evoluíram para organismos de conjuntos de animais, intrínseca e indivisivelmente vinculados no seu próprio processo evolutivo - a *organismalidade* (Diaz-Munoz et al., 2016; Estrela et al., 2016; Pepper & Herron, 2008; Queller & Strassmann, 2009; Strassmann & Queller, 2010; S. A. West & Kiers, 2009).



5.1.3 A complexidade simbiótica entre espécies define a *organismalidade*

Os organismos apresentam organizações simbióticas variadas.

A *organismalidade* é um novo conceito biológico, que representa o elevado interesse científico na justificação da intrínseca relação simbiótica entre as várias espécies. A justificação desta *organismalidade* universal está relacionada com a capacidade adaptativa. A adaptação evolutiva é a característica central de todos os seres vivos e que os separa de entidades meramente físicas. Corresponde ao objectivo comum das espécies simbiontes para conferir uma maximização da sua capacidade evolutiva (Estrela et al., 2016; Queller & Strassmann, 2009; Strassmann & Queller, 2010; S. A. West & Kiers, 2009).

Importa de seguida expor quais as categorias de organismos possíveis, com base nesta recente argumentação, para posteriormente ser enquadrado o exemplo do ser humano. Pepper e Herron (2008), neste seguimento, conceptualizam o estado de *organismalidade* como dois contínuos. O contínuo A é representado pela homogeneidade genética, variando entre agregações aleatórias e a identidade genética perfeita. O contínuo B é representado pela integração fisiológica, variando entre o exemplo da biosfera e este mesmo paradigma do organismo (Pepper & Herron, 2008). Posteriormente Queller & Strassmann (2010) consideram que os diferentes organismos podem apresentar colaborações fraternais ou igualitárias. Os organismos fraternais são constituídos por múltiplas unidades idênticas da mesma espécie, ou com ligação genética, podendo algumas unidades sacrificar-se para a continuidade das



restantes. Os organismos igualitários são constituídos por unidades diferentes, que podem incluir células bacterianas, eucarióticas ou outras simbioses, ligados pela especialização complementar, mas sem reprodução entre si (Strassmann & Queller, 2010). Nestas interações devem ser consideradas duas variáveis, os níveis de cooperação e de conflito (Pepper & Herron, 2008; Queller & Strassmann, 2009; Strassmann & Queller, 2010; S. A. West & Kiers, 2009). A Figura 5-1 corresponde aos exemplos biológicos situados nestas duas variáveis entre, respectivamente, grupos de células, seres multicelulares e espécies diferentes (Queller & Strassmann, 2009).

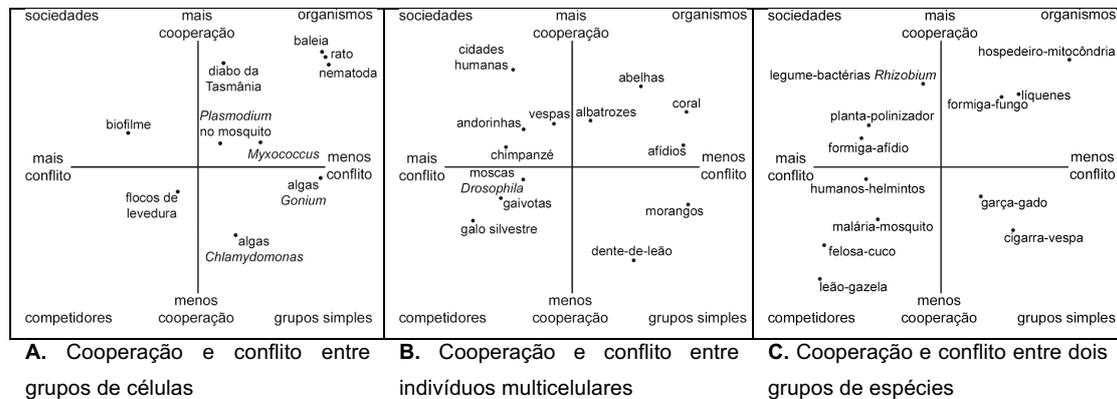


Figura 5-1 Exemplos de tipos de cooperação e conflito

Figura traduzida e adaptada (Queller & Strassmann, 2009).

A mais recente conceptualização (Estrela et al., 2016) integra estes dois modelos conforme a Figura 5-2. Os mutualismos são prevalentes no reino animal, normalmente associam-se a troca de nutrientes e/ou serviços. Na maioria destas associações os parceiros são capazes de viver independentemente, mas noutros casos a dependência inviabiliza a separação.

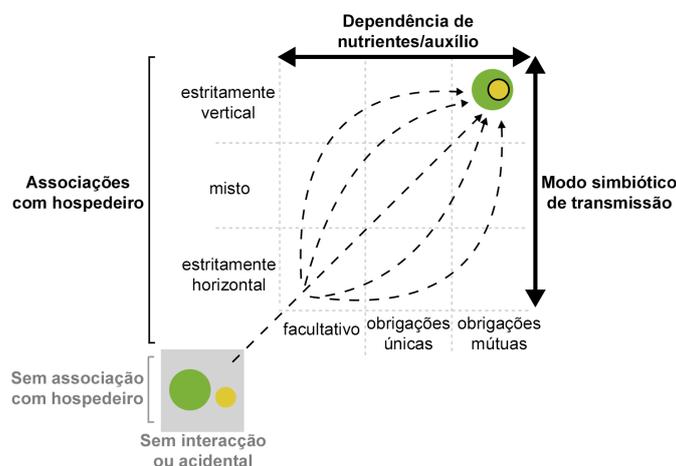


Figura 5-2 Vias potenciais para as principais transições entre espécies

O eixo do x representa o nível de dependência de nutrientes e de auxílio, desde "facultativo" a "obrigação", estando relacionado com a dependência para a reprodução, crescimento e sobrevivência. O eixo do y representa o modo de transmissão simbiótica, desde horizontal a vertical, representando o nível de dependência simbiótica para a dispersão para um novo hospedeiro.

A caixa cinzenta representa um estado livre de associação, sendo caracterizado por uma falta de interacção ou uma interacção acidental. As setas tracejadas representam trajectórias possíveis para atingir um estado simbiótico

organismal. A espécie hospedeira é representada por um círculo verde maior e a espécie simbiote por um círculo amarelo menor.

À medida que a associação se move para cima e para a direita o nível de *organismalidade* simbiótica aumenta e ocorre uma transição evolutiva, caracterizada por uma transmissão estritamente vertical e dependência mutualista.

Figura traduzida (Estrela et al., 2016).

A prioridade dada à cooperação pelos parceiros, em detrimento da competição, encontra-se vinculada às contingências ambientais e à, já referida, vantagem evolutiva que poderá advir dessas exigências (Diaz-Munoz et al., 2016). Esta relação de mutualismo assenta na associação estável de menor conflito e maior cooperação, estando dependente de mecanismos de mediação de conflito. Este cenário é, principalmente, aplicável nas associações entre diferentes espécies pois, ao contrário das relações de fraternidade, os parceiros não podem utilizar a similaridade genética como forma de minimizar o impacto destes conflitos (Estrela et al., 2016).

É, assim, simples considerar um grupo de células eucarióticas como um organismo. É simples considerar o mutualismo entre diferentes espécies, de diferentes domínios. É simples considerar organismos formados por várias espécies, em diferentes níveis de simbiose, de forma a atingir o mesmo objectivo da maior adaptação que permite a sobrevivência evolutiva. Para suporte da argumentação futura, a Tabela 5-1 representa exemplos específicos de simbioses bactéria-eucarióticas e a Figura 5-3 representa os mecanismos de mediação de conflito (Estrela et al., 2016).

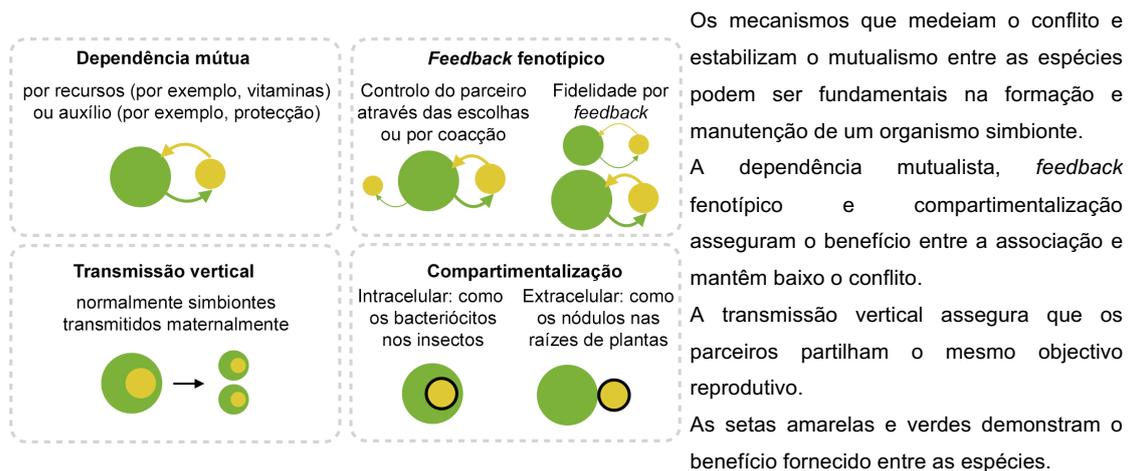


Figura 5-3 Mecanismos das associações simbióticas

Figura traduzida (Estrela et al., 2016).

Tabela 5-1 Exemplos de associações simbióticas entre hospedeiro e bactéria

Hospedeiro-simbionte	Mecanismo de interação	Modo de transmissão simbiote	Localização simbiote	Nível de dependência
Insectos afídios- <i>Buchnera aphidicola</i>	Nutricional. Bactéria fornece aminoácidos ao insecto em troca de nutrientes.	Vertical	Bacteriócitos (intracelular)	Dependência mútua
Afídio-da-ervilha- <i>Regiella insecticola</i>	Mutualismo defensivo. A bactéria protege o insecto de fungos e parasitas patogénicos.	Vertical e, por vezes, horizontal	Hemolinfa, células e bacteriócitos secundários	Simbiote com obrigação perante o hospedeiro
Eucariótico <i>Dictyostelium discoideum-Burkholderia</i>	Mutualismo defensivo	Misto	Esporos (intracelular) e soro (extracelular)	Ambos autónomos (facultativo)
Legume- <i>Rhizobium</i>	Nutricional. O legume fornece carbono à bactéria em troca de nitrogénio	Horizontal	Nódulos	Ambos autónomos (facultativo)
Lula <i>Euprymna scolopes-Vibrio fischeri</i>	Protecção. Bactéria <i>Vibrio</i> emite luz que protege a lula dos predadores, durante a noite, em troca de nutrientes	Horizontal	Órgão luminoso	Ambos autónomos (facultativo)

Tabela traduzida e adaptada (Estrela et al., 2016).



5.1.4 O *organismal* humano possui a sua própria simbiose com um ecossistema microbiano

O ser humano apresenta uma simbiose ubíqua com micróbios, à semelhança de todos os restantes animais.

Desde que foi introduzido o conceito de que a evolução das espécies ocorre por momentos de transição, que a investigação científica biológica se direccionou para os organismos fraternais ou para a simbiose cooperativa entre diferentes espécies. O estudo das transições e de organismos igualitários tem tido menor atenção, em parte, devido à dificuldade empírica de identificar e estudar associações biológicas de espécies interdependentes ou funcionalmente integradas (Estrela et al., 2016). É nesta categoria que se inclui o *organismal* humano, com uma intrínseca simbiose com a sua própria comunidade bacteriana, a microbiota humana.

O conceito de Microbioma Humano foi inicialmente proposto por Joshua Lederberg, que referencia o termo *microbioma* como significando a comunidade ecológica comensal, simbiótica e patogénica dos microorganismos que partilham o nosso espaço corporal (Peterson et al., 2009; Warinner, Speller, Collins, & Lewis, 2015). Muito do conhecimento do Microbioma Humano está associado ao desenvolvimento da sequenciação genética, em 1977, com o Ácido Ribonucleico (RNA, do inglês, *Ribonucleic Acid*) ribossómico (rRNA, do inglês, *Ribosomal Ribonucleic Acid*) 16S (16S rRNA) (Peterson et al., 2009; Warinner et al., 2015) e da Reacção em Cadeia da Polimerase em 1983 (Warinner et al., 2015), o que conduziu a uma era de estudo genético que mudou os estudos filogenéticos, incluindo o estudo dos primatas (Warinner et al., 2015). Actualmente, continua a ser a abordagem mais comum na extracção de DNA de amostras biológicas, seguida da amplificação e sequenciação do genes 16S rRNA (Peterson et al., 2009; Warinner et al., 2015). Este gene está presente em todas as bactérias e contém regiões conservadas e variáveis. Assim, as diferenças e semelhanças na sequência dos nucleótidos do gene 16S rRNA permite a identificação taxonómica desde o domínio e filo da espécie (Robles-Alonso & Guarner, 2014).

As suas utilizações iniciais foram focadas em isolar e cultivar individualmente espécies e estirpes. Com a utilização destes métodos foram identificadas e nomeadas centenas de espécies do Microbioma Humano. Ainda assim, foi projectado que entre 20% a 80% das bactérias que habitam o corpo humano não eram cultiváveis em laboratório (Peterson et al., 2009; Warinner et al., 2015). De forma a lidar com estas alterações, novas metodologias moleculares foram desenvolvidas, das quais se destacam: o Polimorfismo de Fragmento de Restrição (do inglês, *terminal restriction fragment length polymorphism*); variantes da Reacção em Cadeia da Polimerase (alvo único, *multiplex* e quantitativa); Hibridização fluorescente *in situ* (do inglês, *fluorescence in situ hybridization*); e Hibridização de DNA (do inglês, *checkerboard hybridization*) (Warinner et al., 2015). Com o aparecimento desta nova geração de sequenciação, no final da década de 1990, foi sequenciado o primeiro genoma humano completo (Warinner et al., 2015). Em meados da década de 2000, e após a publicação do Consórcio Internacional de Sequenciação do Genoma Humano em 2001 (Lander et al., 2001), a comercialização desta tecnologia permitiu a sequenciação do genoma de humanos arcaicos, como os homínídeos de Neandertal e de Denisova, o que redefiniu o estudo dos primatas e do genoma humano (Warinner et al., 2015). Actualmente, a cada aparecimento de novas tecnologias estão associadas redefinições profundas que podem representar uma alteração completa da estrutura central do conhecimento biológico (Martin & Sousa, 2015; Moreira & Lopez-Garcia, 2015).

Com base na tecnologia actual, foi considerado que o corpo humano é constituído por mais células microbianas do que por células eucarióticas *humanas*, num rácio que pode variar entre e 100:1 e 1:1 (Peterson et al., 2009; Sender et al., 2016). O património genético do corpo humano apresenta cerca de cem vezes mais genes microbianos, o que significa que o genoma humano abrange apenas uma fracção da diversidade genética que constitui o ser humano

(Peterson et al., 2009; Sharon et al., 2014). Apesar do tamanho das bactérias ser mil vezes inferior ao das células humanas, a comunidade bacteriana no corpo humano representa 2% do peso corporal de um adulto. Este valor representa um peso de cerca de 1,5 quilogramas, sendo similar ao peso do cérebro de 1,4 quilogramas e do fígado de 1,6 quilogramas (Eisthen & Theis, 2016; Warinner et al., 2015). Estas estimativas, e toda a compreensão actual do Microbioma Humano, são baseadas em estudos de culturas laboratoriais. Assim, pode-se facilmente conceber que ocorra nos humanos, à semelhança de outras espécies, o envolvimento da comunidade microbiana humana em processos de funcionamento centrais como o metabolismo dos nutrientes, funcionamento do sistema imunitário, regulação do Sistema Nervoso Entérico (SNE), resistência ao cancro e funcionamento neurológico. De facto, as vias metabólicas que operam o corpo humano são o resultado das actividades combinadas entre o genoma humano e o Microbioma Humano (Sharon et al., 2014).

Inicialmente, a investigação científica associada à microbiota humana centrou-se nos microorganismos causadores de doenças (Peterson et al., 2009), possivelmente por influência da perspectiva negativa dos micróbios, e muito focados na região oral (Crawford & Shankle, 1961; de Araujo & Macdonald, 1964; R. Gibbons, Socransky, de Araujo, & van Houte, 1964; R. B. Parker & Snyder, 1961; Socransky, Gibbons, Dale, Bortnick, Rosenthal, & Macdonald, 1963; Socransky, Gibbons, Dale, Bortnick, Rosenthal, Macdonald, et al., 1963; Thonard & Scherp, 1958). Somente nos anos 2000, já após a introdução das revolucionárias metodologias de investigação genética, surgiram os estudos focados na estrutura e função do Microbioma Humano (Warinner et al., 2015). Actualmente, o estudo microbiano tem estado assente no estudo da genómica, que utiliza a sequenciação de 16S rRNA e permite identificar as espécies presentes, da peptidómica e proteómica, que permitem identificar os perfis peptídicos e proteómicos das espécies, e metabolómica, que permite identificar os metabolitos resultantes do funcionamento do metabolismo humano. Estes estudos *Ómicos*¹⁵, apesar da utilização de várias ferramentas, têm realizado a maior investigação através da Espectrometria de Massa e Ressonância Magnética Nuclear, com as quais foi possível identificar a composição química e as mudanças de metabolitos (J. Y. Yang, Karr, Watrous, & Dorrestein, 2011).

Coincidentemente com os três projectos impulsionadores, o Projecto do Microbioma Humano (Human Microbiome Project Consortium, 2012; PubMed, 2010) o Projecto Europeu Metagenómica do Tracto Intestinal Humano (PubMed, 2008) e o Projecto do Microbioma Terrestre (Gilbert et al., 2014), foi alterado o paradigma redutor que considerava que a relação simbiótica humana e microbiana se baseava apenas numa ligação comensal ou parasita. Foi claramente reconhecida a importância vital da microbiota humana oral, intestinal, urogenital e cutânea em funções essenciais como a digestão, metabolismo, produção de vitaminas,

¹⁵ Abreviatura cientificamente utilizada como referência às três áreas conjuntas. Do inglês, *-Omics*.

aprendizagem e manutenção do sistema imunitário, crescimento, reprodução e expressão de patógenos víricos e bacterianos através da competição por recursos (Warinner et al., 2015).



5.2 O Microbioma Humano é essencial aos sistemas corporais

O ser humano saudável necessita que as suas comunidades microbianas apresentem uma diversidade aliada a resiliência e estabilidade.

O Microbioma Humano é o conjunto de microorganismos que habitam no nosso corpo (J. Y. Yang et al., 2011). Engloba a totalidade dos genes microbianos, dos produtos genéticos e do genoma da microbiota presente no corpo humano (Proctor, 2011). O estudo da representação do microbioma *normal* ou *saudável* tem como principal barreira o dinamismo entre a comunidade e o hospedeiro, havendo uma grande diversidade e variabilidade intrapessoal e interpessoal (Lloyd-Price, Abu-Ali, & Huttenhower, 2016). Numa tentativa de uniformização são principalmente utilizados como pontos de recolha cinco áreas: nas vias respiratórias, a porção anterior das narinas; na pele, a prega retroauricular e fossa anterior cubital; na cavidade oral, a gengiva, palato duro, garganta, mucosa oral, tonsila palatina e porção dorsal da língua; no tracto gastrointestinal, através das fezes; e vagina, no fórnix posterior, intróito e porção média vaginal (Proctor, 2011).

O seu estudo é também dificultado pelos requisitos técnicos, de recolha, análise e processamento de dados, pela difícil divisão filogenética das espécies microbianas (Lloyd-Price et al., 2016) e porque nem todas as espécies são igualmente cultiváveis em laboratório (Lloyd-Price et al., 2016; Peterson et al., 2009). Estas características explicam as diferenças dos estudos mais recentes no maior volume de amostras e na disparidade de resultados. Por exemplo, em estudos mais iniciais, entre 75% a 80% dos grupos de sequenciação dos genes 16S rRNA identificados não correspondiam a nenhuma espécie bacteriana até então documentada. A mais recente consideração admite que 50% da diversidade funcional do Microbioma Humano continua por identificar (Lloyd-Price et al., 2016).

De acordo com o objectivo desta tese, as menções realizadas dos seres vivos, microbianos ou não, foram estruturadas de acordo com o código taxonómico utilizado para a atribuição de nomenclatura científica. Todos os seres vivos são organizados em grupos taxonómicos, sendo os principais, por ordem decrescente e com exclusão de subgrupos, o reino (*regnum*), divisão ou filo (*divisio* ou *phylum*), classe (*classis*), ordem (*ordo*), família (*familia*), género (*genus*) e espécie (*species*) (International Association for Plant Taxonomy, 2012; International Commission on Zoological Nomenclature, 2000). Esta estruturação taxonómica assenta no trabalho inicial



de Caroli Linnaei (Linnaei, 1788), o qual tem sofrido constantes adaptações (“Integrated Taxonomic Information System (ITIS),” 2017; Laurin, 2010).



5.2.1 A compreensão da constituição do Microbioma Humano obriga à análise da sua diversidade

O estudo do Microbioma Humano iniciou-se com a identificação da sua diversidade.

As medidas de diversidade têm estado assentes nas espécies como unidades fundamentais de análise. A diversidade microbiana num determinado organismo pode ser definida como o número e a abundância da distribuição de diferentes tipos de organismos (Huttenhower et al., 2012). Adoptando a terminologia definida no estudo dos ecossistemas (Whittaker, 1972; Worathumrong & Grimes, 1975), a diversidade pode ser considerada como:

- diversidade alfa (diversidade α), que corresponde à diversidade de uma dada comunidade, seja *habitat*, local ou amostra, caracterizada pelo número total de espécies (*riqueza*, do termo *richness*), a abundância relativa de espécies (*equitatividade*, do termo *evenness*) ou índices que combinem estas duas dimensões, por exemplo o índice de Shannon (Shannon & Weaver, 1949) ou Simpson (E. H. Simpson, 1949). A *diversidade filogenética*, como a medida de distância filogenética de Faith (D. P. Faith, 1992), pode igualmente ser tida em consideração para representar o afastamento filogenético entre as espécies (Lozupone & Knight, 2008);

- diversidade beta (diversidade β), que corresponde à diferença entre duas amostras. Avalia a extensão na qual duas amostras diferem, referindo-se à *distância* e *similaridade* entre as amostras, podendo igualmente ter em consideração a diversidade filogenética. Assim, quanto maior a diversidade entre duas amostras, menor será a sua similaridade (Lozupone & Knight, 2008);

- e diversidade gama (diversidade γ), que corresponde à totalidade da diversidade regional, sendo um produto da diversidade alfa das suas comunidades e o grau de beta diferenciação entre elas (Whittaker, 1972). Este conceito encontra-se mais utilizado na análise de ecossistemas pela Biologia, sendo menos utilizado na investigação em microbiologia.

A Figura 5-4 representa um sumário gráfico destes conceitos de diversidade, de forma a facilitar a discussão seguinte.



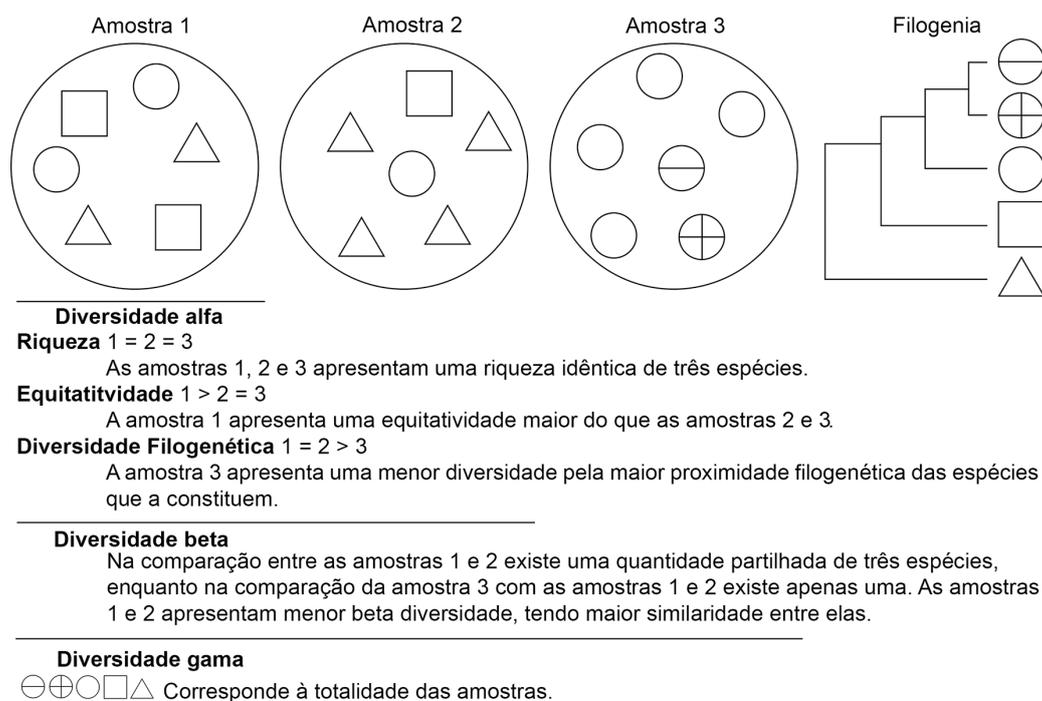


Figura 5-4 Diversidade alfa, beta e gama

Figura original baseada no conteúdo programático "Making Sense Out of Microbial Data" do curso "Gut Check: Exploring Your Microbiome" (Apple Inc, 2015; University of Colorado Boulder, University of Colorado System, & University of California San Diego, 2017).

Esta definição da diversidade é necessária para a análise actual da microbiota humana. Estes conceitos, adaptados à escala temporal e espacial microbiana, são actualmente utilizados na interpretação de todos os estudos relativos ao Microbioma Humano. Por exemplo, a análise biogeográfica das comunidades microbianas pode ser definida em várias distâncias: na microescala, como a distribuição de micróbios em partículas alimentares não digeridas no intestino ou numa barreira mucosa, numa escala de centímetros, como a distribuição das comunidades em diferentes dentes, ou numa escala de metro como no eixo cefalocaudal (Turnbaugh et al., 2007). A noção de diversidade na interpretação dos ecossistemas, independentemente da escala, é central à capacidade de estabilidade e adaptabilidade desses mesmos ecossistemas. Uma baixa diversidade representa um menor número de espécies com sucesso adaptativo, podendo ser justificativo de um ambiente demasiado agreste e com redes de ligação simples, o que representa uma menor estabilidade a alterações. Contrariamente, uma maior diversidade representa um maior número de espécies e nichos ocupados, com redes mais complexas, funções redundantes e maior capacidade de estabilidade a alterações do ambiente. Consequentemente, a noção de maior diversidade está associada a um ecossistema mais *saudável* (Cardinale, Palmer, & Collins, 2002; Loreau & de Mazancourt, 2013; S. Wang & Loreau, 2016).

A procura desta diversidade foi um dos primeiros objectivos do Projecto do Microbioma Humano, assente na hipótese de que haveria um número mínimo de espécies microbianas que estariam universalmente distribuídas em seres humanos saudáveis (Shafquat, Joice,

Simmons, & Huttenhower, 2014). No entanto, os primeiros resultados mostraram uma grande variabilidade interindividual. Foi demonstrada uma diversidade nas populações microbianas nas várias regiões corporais e nos órgãos do intestino e da pele, com variações intrapessoais e interpessoais (J. Y. Yang et al., 2011). Num dos primeiros estudos publicados do projecto europeu, com 124 indivíduos espanhóis e holandeses, foi demonstrado um total de 1150 espécies na flora intestinal, perfazendo um conjunto de 3,3 milhões de genes. No entanto, somente 294 000 eram partilhados por mais de metade dos sujeitos, mesmo em populações com limitada diversidade genética e ambiental (X. C. Morgan, Segata, & Huttenhower, 2013; Qin et al., 2010). O Projecto do Microbioma Humano adicionou mais de 5000 amostras, expandindo o catálogo de genes em 1,8 milhões de genes, tendo uma contagem de 10 milhões de genes microbianos únicos (X. C. Morgan et al., 2013).

Várias explicações têm sido propostas para responder a esta diversidade, sendo actualmente mais aceite a perspectiva de um núcleo funcional. Isto significa que existem funções moleculares e metabólicas que são realizadas pela microbiota, mas que não têm de ser realizadas pelos mesmos organismos em todos os indivíduos. Este núcleo deverá ter a capacidade de realizar as tarefas rotineiras necessárias à vida microbiana e às funções vitais humanas, através de vias metabólicas e apresentando a capacidade de resiliência e recuperação à normalidade após mudanças externas ambientais e internas (Huse, Ye, Zhou, & Fodor, 2012; Lloyd-Price et al., 2016). Alguns resultados iniciais identificaram estas grandes diferenças interpessoais no estudo com gémeos (Lloyd-Price et al., 2016; Turnbaugh, Hamady, et al., 2009), mas igualmente identificaram resultados comuns a vários indivíduos, o que sugere que o Microbioma Humano deve ser definido pelo nível funcional em vez do nível taxonómico (Lloyd-Price et al., 2016; Turnbaugh, Hamady, et al., 2009).



5.2.2 A constituição do Microbioma Humano é diversa e dinâmica

Os resultados iniciais já permitem uma identificação preliminar da constituição do Microbioma Humano nas várias regiões corporais.

O conhecimento actual relativo à constituição e variação do Microbioma Humano, está muito mais focado e evoluído na região do intestino (Tabela 5-2) e no estudo bacteriano (Lloyd-Price et al., 2016; Moon & Lee, 2016). A listagem parcial dos componentes microbianos conta com mais de 1000 espécies bacterianas relativas ao intestino e distribuídas em dez famílias. Em média, cada pessoa terá 160 espécies, sendo este número dominado por dois filos, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, com rácios que podem atingir uma ordem de grandeza



(Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016). Mas os seres procarióticos, *Archaea*, vírus e eucarióticos, são também parte integrante nas várias regiões.

Tabela 5-2 Diversidade da pesquisa relativa ao Microbioma Humano

Termos utilizados (em inglês)	Número de publicações
<i>Gut; colon; intestinal</i>	17 546
<i>Oral; mouth; tongue; tooth; subgingival; supragingival</i>	4843
<i>Urogenital; vaginal; penile</i>	1477
<i>Skin; cutaneous</i>	1372
<i>Airway; lung</i>	764
<i>Placenta; breast milk</i>	702
<i>Ocular; eye</i>	152

Número de publicações de acordo com a pesquisa dos termos *microbiome*, *microbiota* e *microflora* na base de dados *PubMed*, a 31 de Março de 2016.

Tabela traduzida e adaptada (Lloyd-Price et al., 2016).

Um número reduzido de géneros pertencentes ao domínio *Archaea* foram identificados, principalmente, no intestino, e principalmente espécies do género *Methanobrevibacter* (Lloyd-Price et al., 2016). Apesar deste domínio partilhar muitas das suas características com bactérias e eucarióticos (Hugon, Lagier, Colson, Bittar, & Raoult, 2016), actualmente a representação de *Archaea* noutras regiões corporais não é conhecida, ou é inconclusivo o seu papel (Lloyd-Price et al., 2016).

Relativamente aos vírus, o Víroma Humano é extenso e considerado parte integrante do ecossistema humano, no entanto, é igualmente pouco caracterizado nos estudos (Hugon et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016). Mesmo na região do intestino, o estudo do Víroma é reduzido, apesar de já ser melhor reconhecida a presença de vírus patogénicos nas fezes humanas (Hugon et al., 2016). A sua grande variabilidade e o facto de não apresentarem um gene conservado entre si dificulta bastante o seu estudo. Mais recentemente, o reconhecimento no intestino dos bacteriófagos permitiu desenvolver a compreensão do seu papel, através da sua interacção com o hospedeiro durante a digestão e na protecção da invasão de outros patogénicos (Hugon et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016).

O conhecimento dos eucarióticos, principalmente fungos e protistas, está principalmente relacionado com os patogénicos (Cui et al., 2014; Lloyd-Price et al., 2016), como os casos de *Candida*, *Malassezia* e *Saccharomyces*, prejudiciais mesmo em populações saudáveis. Relativamente aos fungos, as principais barreiras para o seu estudo são derivadas da menor presença na microbiota humana e das limitações tecnológicas (Hugon et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016). No entanto, a consideração de um Micobioma¹⁶ Humano tem sido desenvolvido,

¹⁶ Do termo *mico-*, do grego *múkes*, relativo aos fungos (Priberam Informática, 2017).

principalmente, associado ao estudo respiratório na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), o que confere a possibilidade de compreender o equilíbrio ecológico no corpo humano (Cui et al., 2014). Alguns exemplos são relativos à aparente competição entre bactérias e fungos nos ambientes da pele, ao controlo fúngico no intestino e na vagina por parte dos *Lactobacillus* ou à relação mutualista entre o ser humano e a levedura *Saccharomyces boulardii* usada para combater a cólera. Foi observado que alguns protozoários¹⁷ presentes no Microbioma Humano apresentam maior variabilidade interpessoal comparativamente às bactérias, estando o género *Blastocystis*, associado a um menor risco de doenças gastrointestinais (Lloyd-Price et al., 2016).

Relativamente às várias regiões corporais, foi observada uma diversidade de características, consoante algumas especificidades associadas. A pele é a interface mais importante entre o corpo humano e o ambiente externo, prevenindo a perda de humidade e funcionando como barreira à entrada de organismos patogénicos. Apresenta um microbioma maioritariamente bacteriano, com alguns locais específicos associados também a fungos e vírus (Oh et al., 2014) e com uma maior diversidade beta (Huttenhower et al., 2012). A pele é um ecossistema que alberga as comunidades microbianas numa elevada extensão de nichos fisiológica e topograficamente muito distintos (Grice et al., 2009; Oh et al., 2014), em termos de potência de hidrogénio (pH), temperatura, humidade e quantidade de sebo (Oh et al., 2014). Por exemplo, a região axilar, húmida e com grande pilosidade, está adjacente à região exterior do braço, seca e lisa, sendo dois ecossistemas adjacentes, mas muito diferentes. Estas diferenças de ecossistemas apresentam implicações na constituição e consistência da comunidade microbiana (Grice et al., 2009; Lloyd-Price et al., 2016; Oh et al., 2014).

A região oral apresenta um *habitat* diverso e com uma complexidade similar à do intestino (Lloyd-Price et al., 2016; Moon & Lee, 2016). Apesar de ser uma região pouco extensa, apresenta vários nichos distintos pela sua anatomia, fisiologia e factores químicos. É constituída pelos vários microorganismos pertencentes às bactérias, vírus, *Archaea*, fungos e também eucarióticos protozoários (Moon & Lee, 2016; Wade, 2013). É uma região marcada por uma grande diversidade alfa, apresentando uma riqueza somente superada pelo microbioma intestinal (Huse et al., 2012; Mizrahi-Man, Davenport, & Gilad, 2013). Em termos de variação temporal, o microbioma oral apresenta resultados contraditórios. Apresenta sinais de uma maior estabilidade, comparativamente às restantes regiões corporais, principalmente em relação à pele e vagina que apresentam menor estabilidade temporal (Huttenhower et al., 2012; Lazarevic, Whiteson, Hernandez, Francois, & Schrenzel, 2010; Moon & Lee, 2016; Y. Zhou et al., 2013), e maior variabilidade (Flores et al., 2014; K. Li, Bihan, & Methe, 2013; Moon & Lee, 2016).

¹⁷ Seres eucarióticos unicelulares.

Na região vaginal, contrariamente às outras regiões corporais, existe um predomínio das espécies *Lactobacillus*, como *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus jensenii* ou *Lactobacillus gasseri*, contabilizando cerca de metade das espécies existentes (Fettweis, Serrano, Girerd, Jefferson, & Buck, 2012; Gajer et al., 2012; Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016; Ravel et al., 2011). Estas espécies já são reconhecidas há mais de cem anos, relacionadas com a fermentação de glicogénio, produzindo ácido láctico, o qual está relacionado com o ambiente de menor pH vaginal (Fettweis et al., 2012; Huttenhower et al., 2012). Em termos de variação temporal, à semelhança do microbioma oral, os resultados são ainda contraditórios. Foi observada uma maior estabilidade semanal, com algumas flutuações diárias (DiGiulio et al., 2015), afectadas por factores como o ciclo menstrual, actividade sexual e outros factores não identificados (Gajer et al., 2012). Independentemente da variação temporal identificada, foi observado que comunidade que constitui o microbioma vaginal influencia esta mesma variação (DiGiulio et al., 2015; Gajer et al., 2012).

Os estudos relativos ao microbioma da região dos pulmões serão os que se encontram numa fase mais inicial, principalmente focados em pacientes portadores da SIDA (A. Morris & Flores, 2017). Isto pode ser justificado por vários factores, como a suposição inicial de que os pulmões seriam uma região estéril, baseada no fracasso em demonstrar o crescimento em culturas bacterianas (Beck, Young, & Huffnagle, 2012; Cui et al., 2014), por apresentarem uma menor massa microbiana, o que dificulta a sua caracterização na ausência de infecções e doenças crónicas (Lloyd-Price et al., 2016), por não ser uma região corporal contemplada no início do Projecto do Microbioma Humano (Beck et al., 2012; Cui et al., 2014) e por existir a possibilidade da transferência total ou parcial para os pulmões do microbioma da nasofaringe e orofaringe (Beck et al., 2012; Charlson et al., 2011).



5.2.3 O intestino apresenta uma diversidade superior em mais do que uma ordem de grandeza

O microbioma intestinal é o ecossistema corporal mais diverso.

O ecossistema intestinal tem sido a região corporal mais intensamente estudada, principalmente devido à sua marcada diversidade alfa e beta e por envolver uma relação complexa entre o hospedeiro humano, procariontes, vírus, fungos e parasitas (Figura 5-5) (Hugon et al., 2016). Apresenta uma contagem de células microbianas que superam as restantes regiões corporais em mais que uma ordem de grandeza (Sender et al., 2016), tendo uma lista parcial de mais de 1000 espécies bacterianas caracterizadas (Lloyd-Price et al., 2016; Qin et al., 2010; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014), dos quais uma média de 160 espécies estarão presentes em cada indivíduo (J. J. Faith et al., 2013; Lloyd-Price et al., 2016;

Qin et al., 2010). Estes valores representam ainda uma estimativa que será inferior ao real (Falony et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). Dado que será o microbioma central na construção teórica do seguinte capítulo 6, importa detalhar os conceitos que lhe estão associados e que serão posteriormente referidos.

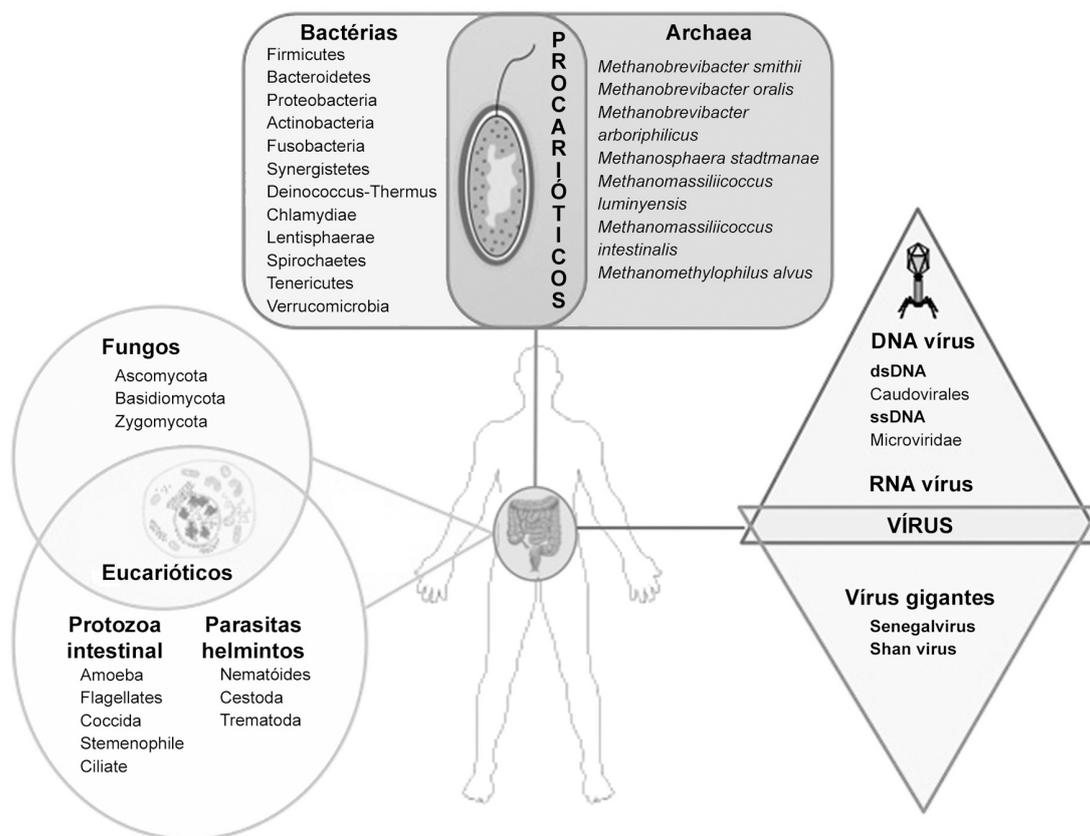


Figura 5-5 Diversidade de procarióticos, eucarióticos e vírus na microbiota intestinal

Legenda: DNA *Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico; dsDNA *double stranded Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico de cadeia dupla; RNA *Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico; ssDNA *single stranded Deoxyribonucleic Acid*, Ácido Desoxirribonucleico de cadeia simples.

Figura traduzida e adaptada (Hugon et al., 2016).

A representação bacteriana inclui espécies pertencentes ao género *Bacteroides*, previamente consideradas o género mais abundante no intestino. As suas espécies foram reclassificadas em cinco géneros, *Alistipes*, *Prevotella*, *Paraprevotella*, *Parabacteroides* e *Odoribacter* (Lloyd-Price et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014), podendo esta classificação, como já referido anteriormente, ser sujeita a alterações constantes. Foram identificados 12 filós bacterianos presentes no intestino, com representação em cultivo: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Chlamydiae*, *Deinococcus-Thermus*, *Fusobacteria*, *Tenericutes*, *Lentisphaerae*, *Spirochaetes*, *Synergistetes* e *Verrucomicrobia* (Hugon et al., 2016). A maioria das espécies isoladas são pertencentes aos quatro filós de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* (J. J. Faith et al., 2013; Hugon et al., 2016; Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016; Qin et al., 2010), *Proteobacteria* e *Actinobacteria* (J. J. Faith et al., 2013; Hugon et al., 2016). Respectivamente, as espécies dominantes são pertencentes às famílias

Bacillaceae, *Bacteroidaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Corynebacteriaceae* (Hugon et al., 2016). O rácio entre *Firmicutes* e *Bacteroidetes* pode variar até uma ordem de grandeza (Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016).

Na representação de *Archaea*, a diversidade mais substancial inclui oito espécies isoladas pertencentes ao filo *Euryarchaeota* e vários representativos pertencentes a *Sulfolobales*, *Nitrososphaerales*, *Methanosarcinales* e *Methanomicrobiales* (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). As espécies do género *Methanobrevibacter* são as mais prevalentes tendo um estatuto de membros saudáveis (Lloyd-Price et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). A espécie *Methanobrevibacter ruminantium* foi a primeira espécie isolada, à semelhança da espécie *Methanobrevibacter smithii* que abunda na flora intestinal. As espécies metanogénicas, responsáveis pela diminuição de metano, *Methanosphaera stadtmanae* e *Methanomassiliicoccus luminyensis*, foram descobertas também recentemente, embora sejam filogeneticamente mais distantes da *Methanomassiliicoccus stadtmanae*. Foram também identificadas espécies extremófilicas¹⁸ pertencentes a este domínio, nomeadamente a ordem dos *Thermoplasmatales*, como *Methanomethylophilus alvus* e *Methanomassiliicoccus intestinalis*, e vários representativos pertencentes às ordens *Sulfolobales*, *Nitrososphaerales*, *Methanosarcinales* e *Methanomicrobiales* (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014).

A presença de vírus é representada pelo genoma de vírus eucarióticos e procarióticos, como por exemplo os vírus que infectam as bactérias, os bacteriófagos (Hugon et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016). Com a tecnologia actual, os bacteriófagos foram identificados como a comunidade vírica dominante, pertencendo à ordem de *Caudovirales*, no caso dos vírus com dupla fita de DNA, e à família *Microviridae*, no caso de vírus de fita única de DNA. Vários vírus de DNA e RNA foram associados a gastroenterite, como o caso dos rotavírus, calicivírus, astrovírus e adenovírus. Adicionalmente, foram identificados em amostras fecais vários patogénicos virais humanos, como os enterovírus, e vírus que são transmitidos pela via fecal e oral, como os vírus das hepatites A e E (Hugon et al., 2016).

A estimativa de que poderá existir um igual rácio de vírus bacteriófagos e bactérias hospedeiras, juntamente com a influência da dieta na presença de vírus intestinais, apontam para que a maioria da diversidade vírica intestinal estará ainda por identificar. A recente descoberta dos vírus gigantes, com existência ubíqua nos ecossistemas terrestres, está actualmente a forçar a reformulação da divisão dos seres vivos e os métodos de detecção da sua presença, pois apresentam uma dimensão similar à de parasitas procarióticos e apresentam um repertório genético único. Foram identificados os primeiros vírus gigantes no

¹⁸ Espécies que prosperam em ambientes com condições extremas para suportar a vida.

intestino humano em 2012 e 2013, o que fortalece a necessidade de ser desenvolvido o conhecimento sobre a sua diversidade e presença (Hugon et al., 2016).

Na representação de seres eucarióticos, definidos por conterem um núcleo e organelos, destacam-se cinco grupos principais, *Amoebozoa*, *Opisthokonta*, *Excavata*, *Sar* e *Archaeplastida* (Hugon et al., 2016). As espécies fúngicas incluem leveduras e fungos filamentosos, sendo o grupo mais abundante no intestino humano (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). No entanto, alguns parasitas também se encontram presentes em menor quantidade, como o caso dos protozoários e dos vermes parasitários helmintos (Hugon et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016). A comunidade fúngica encontrada é dividida em três principais filos, *Ascomycota*, *Basidiomycota* e *Zygomycota*, incluindo 273 espécies de mais de 140 géneros (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). Recentemente, um quarto filo denominado *Microsporidia* foi reclassificado como fungo, contendo espécies associadas a doenças intestinais, como o caso de *Encephalitozoon hellem*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieuneusi* e *Enterocytozoon hellem*. Dentro das comunidades de leveduras, as espécies do género *Candida* são as mais abundantes, como o caso das espécies *Candida albicans* e *Candida Crugosa*, que em determinadas circunstâncias se podem tornar patogénicas (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). À semelhança de algumas bactérias, a presença de algumas espécies de fungos está associada à ingestão alimentar, como o caso das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Galactomyces geotrichum*, assim como o caso de *Galactomyces geotrichum* e *Saccharomyces cerevisiae* utilizados na produção alimentar. A presença dos géneros *Penicillium* e *Aspergillus* podem ser adicionalmente justificados por contaminação alimentar (Hugon et al., 2016; Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014). Mais de 50 géneros de vermes parasitas são conhecidos por parasitarem o intestino humano causando infeções em milhões de pessoas globalmente, pertencentes aos grupos de nematóide, trematoda e cestoda. Adicionalmente, 15 géneros de protozoários comensais ou parasitas são conhecidos, com apenas uma parte destes contribuindo para doenças, existindo na água e no solo. Os protozoários parasitas do intestino humano mais conhecidos são *Giardia intestinalis* (flagellates), *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Isospora belli* (Coccidia) e espécies do género *Blastocystis* (*stemenopile*), *Entamoeba histolytica* (*Amoeba*) e *Balantidium coli* (*ciliates*) (Hugon et al., 2016).

Em termos de variação temporal, é um ecossistema considerado estável (S. M. Gibbons, Kearney, Smillie, & Alm, 2017; Y. Zhou et al., 2013), tendo uma estabilidade parcial influenciada por factores ambientais externos e internos, como a alimentação, comportamento e saúde do hospedeiro humano (S. M. Gibbons et al., 2017). Cerca de 60% das 160 a 200 estirpes presentes em cada indivíduo são mantidas no hospedeiro durante um período de pelo menos cinco anos. Membros pertencentes aos filos *Bacteroidetes* e *Actinobacteria* apresentam-se significativamente mais estáveis, inversamente, membros dos filos *Firmicutes* e *Proteobacteria* apresentam menor estabilidade (J. J. Faith et al., 2013). Coerentemente, esta

variabilidade parece estar relacionada com a sua diversidade, em que uma maior diversidade confere à comunidade uma maior estabilidade (Flores et al., 2014).



5.2.4 O Microbioma Humano comporta-se de forma fluída, não-aleatória e não-compartmentada

Podem existir vários enterótipos universais que são sujeitos à variabilidade pessoal.

Sendo o intestino o ecossistema corporal mais estudado e dos mais estáveis, o nível de conhecimento da sua constituição e variação temporal tem demonstrado algumas consistências. Existem alguns membros microbianos que foram observados em regiões específicas, embora tal não aconteça em todas as regiões (Caporaso et al., 2011; Huse et al., 2012). Tem sido principalmente através da região intestinal, através de amostras fecais, que foi procurado suportar a hipótese de um núcleo microbiano universal, o qual é sujeito a menores variações interpessoais. Foram inicialmente identificados três grupos distintos de amostras com constituições nucleares similares. Estes grupos foram denominados *enterótipos* (do inglês, *enterotypes*), actualmente sem expressão na língua portuguesa (Priberam Informática, 2017). Cada um destes três *enterótipos* é identificável pela variação dos níveis de três géneros: *Bacteroides* (*enterótipo 1*), *Prevotella* (*enterótipo 2*) e *Ruminococcus* (*enterótipo 3*) (Arumugam et al., 2011). Foi identificado outro possível *enterótipo* por grupos das ordens *Clostridiales* e *Blautia* e a família *Lachnospiraceae* (Arumugam et al., 2011; Huse et al., 2012).

Este conceito de três *enterótipos* intestinais foi cientificamente considerado, no entanto, tem falhado em ser observado. Esta separação demonstrou uma validade prematura e assente na análise fecal, o que pode significar uma representação apenas parcial e distal de todo o intestino (Backhed et al., 2012; Huse et al., 2012; Knights et al., 2014; Shafquat et al., 2014). Também, esta visão de *enterótipos* compartimentados apresenta indícios científicos redutores da complexidade observada (Kraal, Abubucker, Kota, Fischbach, & Mitreva, 2014). Assim, deve representar um contínuo, em que constituição do microbioma intestinal saudável apresenta características de dinamismo e fluidez, podendo transitar temporalmente pelos vários *enterótipos* (Huse et al., 2012; Knights et al., 2014).

A extrapolação directa do conhecimento desta região para as restantes não é actualmente viável. O que demonstra ser transversal a todas as comunidades microbianas das regiões corporais analisadas, é o facto de serem variáveis entre os indivíduos e entre as regiões do mesmo indivíduo, funcionando como sistemas dinâmicos não-aleatórios ao longo do tempo (Caporaso et al., 2011; Franzosa et al., 2015).

A comparação entre os maiores estudos de coorte de três continentes, dos projectos referenciados, e do estudo da *Diabetes mellitus* na população chinesa, identificou que a variação da composição taxonómica entre os países é superior à variação entre pessoas da mesma região. A geografia demonstra assim ter uma relação com a variabilidade observada (Falony et al., 2016; Lloyd-Price et al., 2016).

Não existe actualmente uma investigação científica que responda a estas diferenças, mas é considerado que os factores de colonização, expostos no subcapítulo seguinte, como a dieta, a exposição nos primeiros anos de vida, a relação com o genótipo do hospedeiro, especificidades fenotípicas do hospedeiro e os ciclos de vida microbianos, possam ter uma influência nesta variabilidade (Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016).



5.2.5 O ser humano saudável depende do microbioma

O Microbioma Humano está dependente da primeira colonização, da sua responsividade a factores externos e de uma diversidade estável que permita a redundância de funções.

Se o corpo humano é composto por várias regiões com características e biodiversidade tão distintas, então numa escala temporal e espacial adequada é constituído por vários ecossistemas. Por sua vez, se estes ecossistemas do corpo humano estão espacialmente isolados das comunidades biológicas externas ao corpo, então o corpo humano pode ser biologicamente conceptualizado como uma *ilha*, no sentido do isolamento espacial das suas comunidades (Turnbaugh et al., 2007).

Nesta conceptualização biológica do ser humano, as teorias biogeográficas são igualmente aplicadas na interpretação da diversidade e da variação temporal das comunidades microbianas humanas. A Teoria da Biogeografia das Ilhas (do inglês, *The Theory of Island Biogeography*) desenvolvida por MacArthur em 1967 e revista em 2010 (MacArthur & Wilson, 2010) contribui para esta análise. Esta postula que a composição de uma comunidade depende grandemente da ordem pela qual as espécies são introduzidas, tendo implicações no seu funcionamento e estabilidade. Estas postulações foram suportadas pelas pesquisas em laboratório com ratos gnotobióticos¹⁹ e peixes (Turnbaugh et al., 2007) e direccionaram a investigação para dois caminhos: 1) a caracterização detalhada dos ecossistemas corporais, que a estruturação dos subcapítulos anteriores respeita e no qual ainda é necessária mais investigação estruturada; e 2) a comparação entre esses ecossistemas, em diferentes

¹⁹ Ratos sem microbioma.



indivíduos, com diferentes factores demográficos, geográficos e epidemiológicos. Este corresponde ao estado actual do estudo do Microbioma Humano.

Neste sentido, importa perceber como é feita a colonização do Microbioma Humano e de que forma a consequente constituição e estabilidade são importantes para o Microbioma Humano saudável.



5.2.5.1 A colonização do Microbioma Humano é contínua e variável desde o nascimento

De acordo com a Teoria da Biogeografia das Ilhas, a colonização inicial dita a futura constituição do microbioma.

Foi frequentemente considerado, de forma errada, que os recém-nascidos são estéreis e são posteriormente colonizados pelos micróbios ambientais. O estudo com gémeos monozigóticos e dizigóticos aponta para uma dependência ambiental na constituição do Microbioma Humano (Maria Gloria Dominguez-Bello, Blaser, Ley, & Knight, 2011; Turnbaugh, Ridaura, et al., 2009). De facto, o corpo humano aquando do nascimento apresenta uma ausência homogénea da microbiota, cuja rápida colonização provoca um crescimento das comunidades microbianas que rapidamente ultrapassam o número de células *humanas* (Maria G Dominguez-Bello et al., 2010; Palmer, Bik, DiGiulio, Relman, & Brown, 2007).

O nascimento dos mamíferos placentários²⁰ ocorre pelo canal vaginal, onde ocorre a primeira inoculação do bebé (Maria Gloria Dominguez-Bello et al., 2011). Cerca de 20 minutos após um parto eutócico, em que a saída do bebé ocorre pelo canal vaginal, a microbiota do bebé assemelha-se à microbiota da região vaginal da mãe (Ursell et al., 2012). No momento do parto a microbiota da vagina altera-se, sendo dominada por espécies do género *Lactobacillus* e *Prevotella*. Esta alteração estará possivelmente relacionada com as vantagens de inoculação do feto, uma vez que o recém-nascido está continuamente exposto a outros micróbios e esta exposição vaginal restringe a sequência da colonização (Maria Gloria Dominguez-Bello et al., 2011). Por outro lado, se o nascimento ocorre por cesariana a microbiota do bebé assemelha-se à microbiota da pele da mãe. Dessa forma, as comunidades microbianas de bebés nascidos vaginalmente são abundantes em espécies dos géneros de *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* ou *Sneathia*, enquanto nos bebés nascidos por cesariana são abundantes espécies do género *Staphylococcus* (Maria G Dominguez-Bello et al., 2010; Ursell et al., 2012).

Esta diversidade genómica e filogenética aumenta linear e significativamente com o tempo. Comparativamente à vida adulta, as crianças apresentam uma maior intervariabilidade devido à dependência da colonização materna. Esta transferência microbiana é responsiva a múltiplos factores durante a vida da criança, como episódios de febre, introdução dos diferentes

²⁰ Subclasse dos mamíferos cujo feto é transportado no útero e nutrido através da placenta.



alimentos e utilização de antibióticos. Nos primeiros meses de vida, a amamentação aumenta a abundância na transferência microbiana, por exemplo, de *Bifidobacterium* necessário ao processamento digestivo do leite (Koenig et al., 2011). A dieta apresenta assim maior influência na constituição do microbioma intestinal (Koenig et al., 2011; Turnbaugh, Ridaura, et al., 2009; Ursell et al., 2012; J. Y. Yang et al., 2011). Por exemplo, à medida que a dieta do bebê se assemelha a uma dieta da vida adulta, aumentam os genes do seu microbioma associados à biossíntese de vitaminas e digestão de polissacarídeos (Ursell et al., 2012).

A aquisição da microbiota progride durante os primeiros anos de vida, sendo a idade um factor que a influencia. A região intestinal da criança altera a sua constituição e diversidade até se tornar progressivamente similar à do adulto (Palmer et al., 2007; Ursell et al., 2012). Este desenvolvimento, apesar de ocorrer devido a factores temporalmente aleatórios, ocorre de forma estruturada e progressiva, de tal forma que pessoas da mesma família apresentam microbiotas similares (Maria Gloria Dominguez-Bello et al., 2011). A investigação preliminar identifica um primeiro período de grande mudança entre o terceiro e o segundo ano de vida. Somente no terceiro e quarto ano de vida a microbiota intestinal inicia a sua mudança para a constituição similar à do adulto, sendo que no quinto ano ainda não se encontra estabilizada (Odamaki et al., 2016).

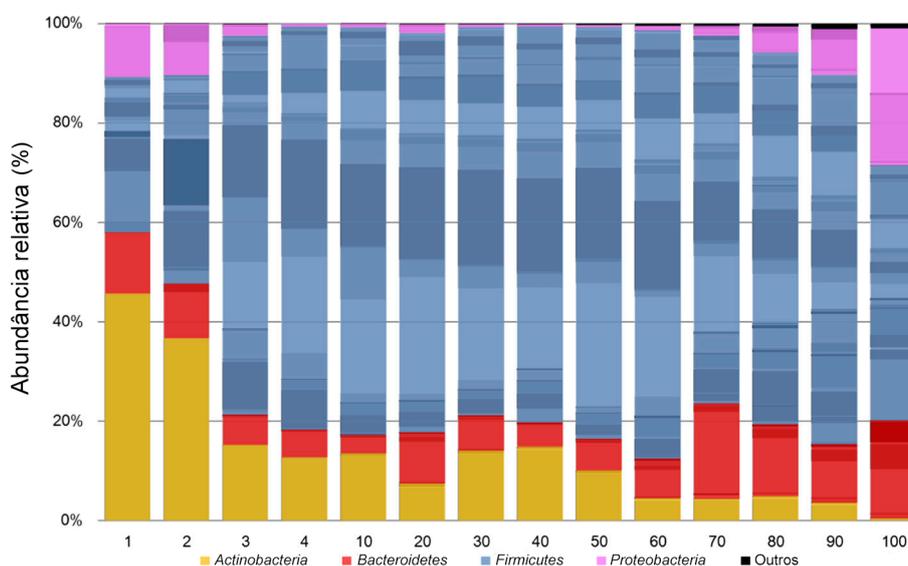


Figura 5-6 Alterações sequenciais na composição da microbiota intestinal de acordo com a idade
Visão global dos filos e géneros, representados pelas cores. Cada componente do gráfico de barras cumulativo representa um género. Cada número representa a idade.

Figura traduzida (Odamaki et al., 2016).

Como demonstrado na Figura 5-6, a diversidade aumenta significativamente após a paragem da amamentação e até por volta do vigésimo ano de vida. Durante a vida adulta é observada uma estabilidade na composição da microbiota intestinal, sinal da sua maturação, sendo que na terceira idade aumenta novamente a diversidade, mas diminui a estabilidade (X. C. Morgan et al., 2013; Odamaki et al., 2016).

Relativamente à pele, a interacção directa com o ambiente torna esta região dinâmica, com os micróbios fluindo pelas superfícies contactadas durante o dia. Pela sua exposição, a pele das mãos apresenta a maior variabilidade ao longo do tempo. Por exemplo, os micróbios presentes nos dedos podem transferir as suas comunidades para os teclados de computador ao ponto de ser possível associá-los ao seu utilizador e identificar quais as teclas usadas por cada dedo (Ursell et al., 2012). Também na análise do ambiente domiciliário foi demonstrado que os indivíduos que partilham a mesma casa apresentam uma microbiota mais similar, sendo as regiões do pé, mão e nariz especificamente associadas à casa e ao indivíduo. Isto demonstra a transmissão dinâmica entre os indivíduos, as superfícies e também com os animais de estimação (Lax et al., 2014).



5.2.5.2 A responsividade das comunidades microbianas deve-se à transferência genética horizontal e aos metabolitos

A transferência genética horizontal e a troca de metabolitos ocorrem entre os micróbios e as células humanas.

A definição de *espécie* é tipicamente atribuída ao conjunto de indivíduos que, por reprodução sexuada, transmitem o seu património genético à descendência não-estéril. Esta é denominada uma transferência genética *vertical* (Ochman, Lerat, & Daubin, 2005). No entanto, com seres assexuados, como os casos das comunidades bacterianas, a aplicação desta definição torna-se difícil. Ainda antes da era *genómica*, era claro entre os microbiólogos que as bactérias apresentavam a capacidade de trocar informação genética entre os seus membros. Esta é denominada de transferência genética *horizontal* ou, por vezes, *lateral*. Um dos casos mais conhecidos será a da resistência desenvolvida aos antibióticos (Koonin & Wolf, 2012).

Os múltiplos mecanismos de transferência horizontal têm sido descritos e incluem: 1) a troca de plasmídeos, que são moléculas de DNA que se encontram dentro das células, fisicamente separadas do DNA cromossómico e que se podem replicar de forma independente; 2) transdução, sendo o processo de reprodução em que é introduzido numa bactéria, por um vírus, o DNA de outra bactéria; e 3) transformação, sendo a alteração genética de uma célula por incorporação de material genético exógeno (Koonin & Wolf, 2012).

Inicialmente, este mecanismo de troca genética foi considerado secundário. No entanto, com a introdução da tecnologia de estudos genéticos, foi demonstrado que uma fracção substancial dos genes é adquirida horizontalmente. Este mecanismo de transferência horizontal é, inclusive, observado entre diferentes domínios *bacteria*, *Archaea*, eucariótico e vírus, com ligações com as células hospedeiras (Moon & Lee, 2016; Moreira & Lopez-Garcia, 2015; Wilmes, Simmons, Deneff, & Banfield, 2009; J. Y. Yang et al., 2011).

A maioria dos procarióticos, uma vez que não se envolve sexualmente, realiza trocas genéticas horizontais com os diversos micróbios com quem coabita, inclusivamente aqueles de diferentes domínios. Dessa forma, não existe um património genético isolado nestas comunidades, mas uma rede complexa de trocas genéticas. Estes fenómenos foram naturalmente observados nas comunidades microbianas que habitam no hospedeiro humano onde, por exemplo, no intestino esta troca genética é constante e bastante activa (Koonin & Wolf, 2012; Ochman et al., 2005).

Para além desta forma de evolução genética, os micróbios apresentam outro mecanismo de comunicação por metabolitos, o que lhes confere responsividade e capacidade de adaptação. Nos diversos ecossistemas do Microbioma Humano há produção destas moléculas, na relação e comunicação entre micróbio e microbioma, micróbio e hospedeiro e hospedeiro e microbioma. Isto confere capacidade de afectar o desenvolvimento celular, incluindo intracelular, de provocar uma activação imunológica e de inflamação e influenciar o metabolismo microbiano e a actividade antimicrobiana (Joice, Yasuda, Shafquat, Morgan, & Huttenhower, 2014; J. Y. Yang et al., 2011). Estas pequenas moléculas originárias da microbiota e do hospedeiro exibem várias funções e estruturas, como demonstrado na Figura 5-7, desde antibióticos lipopéptidos, moléculas que competem por nutrientes como a quelação de ferro, lipossacarídeos indutores de inflamação, péptidos, hormonas policíclicas e moléculas de auto-indução (do inglês, *quorum-sensing*) (J. Y. Yang et al., 2011).

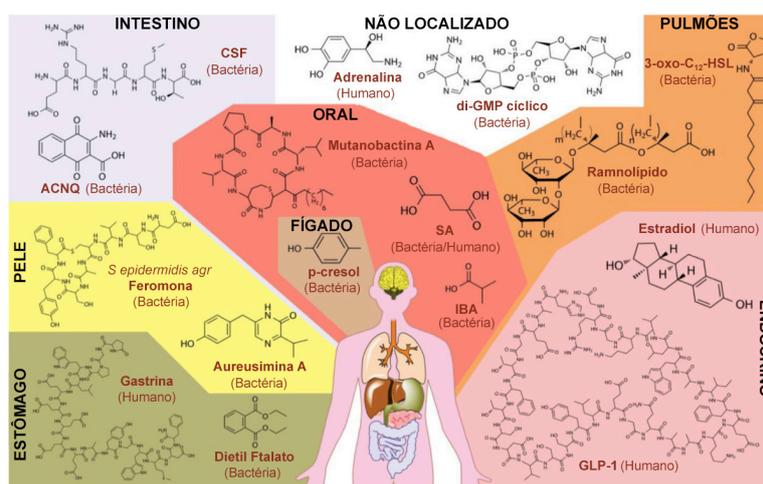


Figura 5-7 Diversidade estrutural e funcional das pequenas moléculas associadas ao corpo humano

São produzidas pequenas moléculas pelas bactérias, fungos e hospedeiro humano, que afectam o microbioma e estão localizados em todo o corpo.

Legenda: ACNQ 2-amino-3-carboxi-1,4-naftoquinona; CSF *Competence and Sporulation Factor*, Factor de Esporulação e Competência; di-GMP *di-Guanosine Monophosphate*, di-Guanosina Monofosfato; GLP-1 *Glucagon-like peptide-1*, Péptido Semelhante a Glucagon 1; IBA *Isobutyric Acid*, Ácido Isobutírico; SA *Succinic Acid*, Ácido Succínico. Figura traduzida e adaptada (J. Y. Yang et al., 2011).

Estas moléculas produzidas pelos micróbios são codificadas geneticamente e estão envolvidas no metabolismo primário e secundário do corpo humano. Isto confere vantagem de sobrevivência ao hospedeiro humano, sendo assim denominados de produtos naturais,

metabolitos secundários ou metabolitos adaptativos. Nesta tese, foi genericamente utilizado o termo *metabolito*.

Os metabolitos são adquiridos por transferência genética horizontal, estão associadas a estirpes específicas e afectam nichos biológicos espaciais igualmente específicos, como o caso das regiões corporais (Joice et al., 2014; J. Y. Yang et al., 2011). Demonstraram ser primordiais em várias funções essenciais humanas, como por exemplo: na digestão, com o microbioma intestinal activo na síntese de nutrientes como a vitamina B12 e K, na degradação de hidratos de carbono complexos e digestão da celulose; na produção do ácido biliar necessário à digestão e absorção de lípidos e homeostasia de glucose; na produção bioquímica de ácido láctico vaginal de forma a manter o baixo pH; na produção de AGCC por fermentação bacteriana; e na manutenção da função epitelial intestinal (Joice et al., 2014).

Outra função importante destes metabolitos está relacionada com os mecanismos de auto-indução, que permitem a auto-regulação da abundância de espécies, sendo os metabolitos inibidores responsáveis por provocar a morte ou a inibição do crescimento de outros organismos competidores (Joice et al., 2014; J. Y. Yang et al., 2011). Por exemplo, o caso da *Bacillus subtilis*, uma bactéria encontrada na pele, boca e intestino, cuja feromona é transportada através do epitélio intestinal e previne a lesão oxidativa das células intestinais. Ou o caso das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, que estão presentes na superfície epitelial e são potencialmente inflamatórias, mas após uma lesão na pele provocam uma inibição da sua virulência através das suas feromonas (Joice et al., 2014).

Por estas razões, tem sido crescente o interesse científico na investigação do dinamismo dos metabolitos, através da interacção entre o microbioma e o hospedeiro humano, a responsividade por transferência genética horizontal e a sua implicação no funcionamento e sobrevivência do *organismal* humano.



5.2.5.3 A diversidade da constituição promove a capacidade de executar as funções essenciais

A Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia explica como a diversidade resulta na redundância de funções.

Parecem assim existir três principais factores associados ao dinamismo do Microbioma Humano: a variabilidade na constituição individual do microbioma; a variação temporal deste mesmo microbioma individual; e um desenvolvimento contínuo geneticamente responsivo ao ambiente. Esta tríade tem demonstrado ser um dos obstáculos conceptuais no conceito de um núcleo microbiano universal entre os seres humanos. Para esta hipótese ser totalmente viável, então deveria existir um número mínimo de espécies susceptíveis de identificação, ou seja, um núcleo genómico que é sujeito à variabilidade interpessoal. Pelo contrário, na diversidade

encontrada foi observado que o microbioma individual é específico e distinguível dos restantes indivíduos (Franzosa et al., 2015; Qin et al., 2010).

Uma hipótese alternativa, mais viável, é a de que o Microbioma Humano é definido por um equilíbrio metabólico e funcional nas diferentes regiões corporais e na interacção entre os diferentes *habitat* do hospedeiro humano (Shafquat et al., 2014). Este núcleo funcional incluirá assim três grandes grupos: 1) um grupo associado às funções essenciais e rotineiras como a tradução e transcrição genética, metabolismo central de carbono, funcionamento dos ribossomas, componentes estruturais, produção de energia por síntese de ATP, aminoácidos e glicólise e polimerase de DNA e RNA (Lloyd-Price et al., 2016; X. C. Morgan et al., 2013; Qin et al., 2010); 2) grupos associados a cada região corporal e, por exemplo, com a ligação às células do hospedeiro humano e com a produção de componentes implicados na simbiose, como vitaminas essenciais e componentes imunoestimuladores; e 3) um terceiro grupo associado às funções específicas de cada região, por exemplo, no intestino, associadas à biodegradação de glicosaminoglicanos, lipopolissacarídeos, produção de AGCC e produção de vitaminas e aminoácidos essenciais (Lloyd-Price et al., 2016).

Assim um dos pilares essenciais na definição de microbioma *saudável* é a presença de uma diversidade suficiente para assegurar as funções biomoleculares associadas a cada região e que são essenciais ao funcionamento do hospedeiro humano. No entanto, esta perspectiva parece ser incoerente com a aplicação das Teorias de Análise dos Macroecossistemas, em que uma maior diversidade promove uma maior competitividade até ao domínio, ou equilíbrio, de determinadas espécies. Possivelmente, um dos grandes aspectos associados a esta incoerência, é o facto da análise dos ecossistemas se basear em espécies com uma evolução e transferência genética vertical, enquanto as comunidades microbianas apresentam também mecanismos de transferência genética horizontal, selecção baseada em nichos, dispersão, derivação ecológica e mutação (Shafquat et al., 2014).

Nesse sentido, a Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia (do inglês, *Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*), demonstra actualmente validade na compreensão dos processos envolvidos na criação, manutenção e distribuição do Microbioma Humano (Rosindell, Hubbell, & Etienne, 2011). Esta teoria deriva, em parte, da já citada Teoria da Biogeografia das Ilhas (MacArthur & Wilson, 2010), e tem sido utilizada na explicação da diversidade dos ecossistemas. Tem fornecido uma explicação alternativa em ecossistemas com uma elevada diversidade genética, mas sem serem seguidos os mesmos padrões de evolução e selecção natural. O termo *neutralidade* deriva de as diversas espécies num determinado *habitat* apresentarem igual possibilidade de reprodução e morte, independentemente da sua identidade, ao invés da pressão evolutiva ou da especialização por nichos evolutivos (Rosindell et al., 2011; Shafquat et al., 2014).

As comunidades microbianas, principalmente associadas a um hospedeiro, têm demonstrando encaixar neste modelo. A condição necessária a este processo é a ausência de factores que

promovam a exclusão, por competição, das espécies que desempenham as mesmas tarefas. Esta *neutralidade* é, assim, mais frequente de ocorrer em comunidades com uma superior diversidade, riqueza e com processos diversos de colonização (Rosindell et al., 2011; Shafquat et al., 2014).



5.2.5.4 Existe um núcleo genómico funcional envolvido com o funcionamento dos sistemas corporais humanos

O conceito de um núcleo funcional corresponderá melhor à simbiose com o microbioma.

O desenvolvimento técnico da sequenciação genética já permite o estudo colectivo de todos os genes e genomas num microbioma, a metagenómica, o que tem permitido a identificação da constituição do Microbioma Humano. Apesar de ainda existir uma necessidade de aprofundar *o que constitui* o Microbioma Humano, a investigação já está progressivamente a avançar para responder a questões sobre *qual a sua função* (Warinner et al., 2015; Y. Zhou et al., 2013).

Com os projectos associados ao estudo do Microbioma Humano, apesar da variação e diversidade observada, conseguiram-se relacionar algumas características genéticas com as funções específicas das regiões corporais. Por exemplo, no intestino, são abundantes os genes relacionados com a degradação dos hidratos de carbono, apesar da grande variação no rácio entre *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Os perfis individuais de enzimas associadas à síntese, metabolismo e transporte de hidratos de carbono são também similares entre as regiões. A região oral está otimizada para o metabolismo do açúcar, em particular o dextrano, enquanto o microbioma da região vaginal está otimizado para a degradação de glicogénio e péptidoglicano. Assim, à semelhança do genoma bacteriano, cada região apresenta um metagenoma nuclear presente em cada hospedeiro saudável, com metabolitos partilhados por transferência genética horizontal entre as comunidades das várias regiões (Huttenhower et al., 2012; X. C. Morgan et al., 2013). Assim, a constituição está relacionada com a diversidade encontrada numa amostra, enquanto a função da comunidade está associada à actividade metabólica que resulta da sua acção (Backhed et al., 2012).

Surgiu assim o conceito de um núcleo funcional do Microbioma Humano. Um núcleo não associado à constituição por espécies, mas à diversidade entre as espécies que mantém as funções essenciais. A Figura 5-8 representa a evidência preliminar associada a este conceito, em que à diversidade observada se encontra associada uma estabilidade metabólica funcional (Huttenhower et al., 2012).

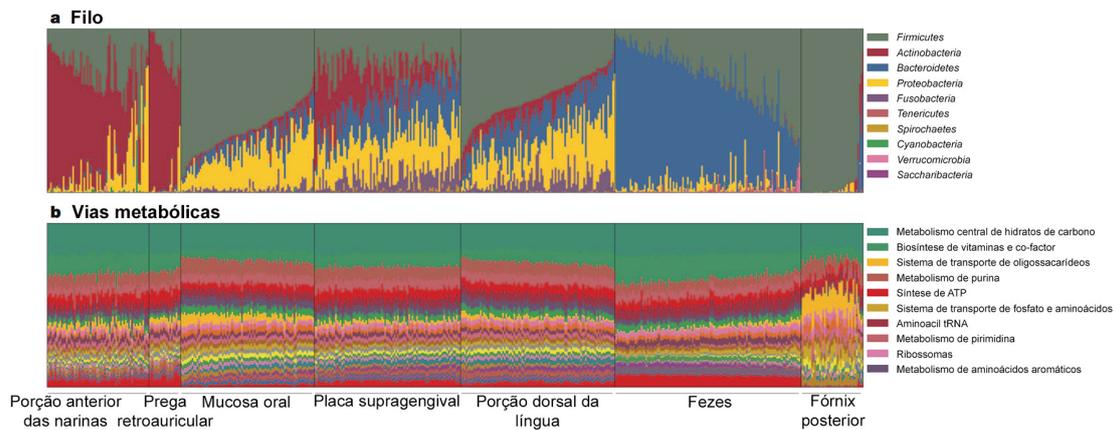


Figura 5-8 Variações da constituição microbiana nas regiões corporais, em contraste com a manutenção das vias metabólicas

As barras verticais em A e B representam, por cada amostra, respectivamente, a abundância dos filos e dos metabolitos diferenciados por cores. São observadas variações da constituição nas regiões corporais do mesmo indivíduo e na comparação da mesma região com outros indivíduos. Contrariamente, é observada uma distribuição uniforme relativamente às vias metabólicas.

Legenda: ATP *Adenosine Triphosphate*, Adenosina Trifosfato; tRNA *transfer Ribonucleic Acid*, transportador Ácido Ribonucleico.

Figura traduzida (Huttenhower et al., 2012).

Actualmente, as funções associadas ao grupo 1, associado às funções essenciais e rotineiras, são cientificamente mais reconhecidas através da investigação dos produtos metabólicos das acções microbianas, por metabolómica e proteómica (Shafquat et al., 2014).

A capacidade dos micróbios residentes ocuparem os diferentes nichos nas regiões corporais, leva a que, por concorrência, ocorra a resistência a outros micróbios patogénicos, como o caso da competição entre bactérias e fungos na pele (Grice et al., 2009; Lloyd-Price et al., 2016). Esta concorrência pela ocupação de nichos nos ecossistemas do Microbioma Humano, foi também observada no intestino e vagina. No intestino foi observado nos casos de resistência à infecção pela bactéria patogénica *Clostridium difficile* após a manipulação da microbiota intestinal por transferência (V. B. Young, 2016), na resistência à colite após transferência de bactérias do género *Prevotella*, na protecção da família *Porphyromonadacea* contra *Salmonella* (Backhed et al., 2012) e na relação mutualista com a levedura probiótica *Saccharomyces boulardii* utilizada para tratamento da cólera. Na região intestinal e vaginal foi observado o controlo fúngico por parte das bactérias *Lactobacillus* (Lloyd-Price et al., 2016). Na região vaginal foram identificados metabolitos associados ao lactato, acetato, succinato, aminoácidos e açúcares. Estes valores são mantidos mesmo quando existem mudanças na proporção de espécies, indicando a existência de uma redundância funcional e uma manutenção das funções globais (Gajer et al., 2012).



5.2.5.5 O microbioma saudável necessita de resiliência e estabilidade

Os modelos da resiliência e dos mecanismos de sucessão justificam o dinamismo do microbioma e o conceito de estabilidade associado à diversidade inicial.

A conjugação dos pressupostos da Teoria da Biogeografia das Ilhas e da Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia com os mecanismos de responsividade por metabolitos e transferência genética horizontal representa a importância dos primeiros factores de colonização e da diversidade, de forma a permitir a redundância de funções. Falta assim um último critério, relativo à *estabilidade* do microbioma, para que esta relação simbiótica entre a microbiota e o ser humano se traduza num organismo globalmente saudável.

A estabilidade do ecossistema microbiano humano é um conceito basilar na definição de um *organismal* humano saudável. A diversidade, a responsividade e a redundância de funções só apresentam sustentabilidade e vantagem na saúde, se forem aliados a uma estabilidade das funções desempenhadas. A estabilidade é, assim, um conceito aparentemente incoerente com a diversidade observada e o dinamismo temporal e espacial. No entanto, a aplicação de dois modelos biológicos nesta interpretação permite a coerência conceptual: 1) o Modelo da Resiliência e estabilidade dos sistemas ecológicos (do inglês, *Resilience and stability of ecological systems*) (Holling, 1973); e 2) e o Modelo dos Mecanismos de sucessão em comunidades naturais e o seu papel na estabilidade e organização das comunidades (da denominação original *Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization*) (Connell & Slatyer, 1977).

O Modelo da Resiliência e estabilidade dos sistemas ecológicos considera que os ecossistemas apresentam duas características: 1) a de *resiliência*, que se refere à capacidade de manter o normal funcionamento, absorvendo as alterações de estados variáveis ou factores que provocam variabilidade. Traduz-se na persistência ou na probabilidade de extinção de um sistema; e 2) a de *estabilidade*, que se refere ao tempo que um ecossistema demora a voltar ao seu ponto de equilíbrio. Quanto menor o tempo, maior a estabilidade (Holling, 1973). Os termos *resistência*, *resiliência* e *estabilidade* são utilizados actualmente no estudo do Microbioma Humano, no entanto, provavelmente pela novidade da sua aplicação, sem uniformização destes mesmos termos. Nesta tese, são utilizados apenas dois termos, em coerência com o trabalho de Holling (Holling, 1973). O termo *resiliência*, que integra o termo actual de *resistência*, e o termo *estabilidade*, associado ao conceito de variação temporal.

O Modelo dos Mecanismos de sucessão em comunidades naturais e o seu papel na estabilidade e organização das comunidades considera que a diversidade inicial promove uma maturação estável dos ecossistemas. Este processo é iniciado pelas espécies *oportunistas*, que apresentam maior capacidade de dispersão, crescimento mais rápido e colonizam os nichos ecológicos disponíveis. Estas espécies não apresentam capacidade de invasão de ecossistemas já preenchidos, sendo assim ditadores dos mecanismos seguintes de



crescimento da comunidade. Estes passos são preconizados por três mecanismos: 1) o Modelo de *Facilitação*, que sugere que o crescimento de espécies que surgem mais tardiamente está dependente das condições adequadas criadas pelas espécies *oportunistas*; 2) o Modelo da *Tolerância*, que sugere que as espécies colonizadoras iniciais se ajustam ao ecossistema novo com amplos recursos e diversas oportunidades. Este facto dita que, posteriormente, só se desenvolverão as espécies mais tardias que tenham capacidade de crescer e maturar em condições de menores níveis de recursos; e 3) o Modelo da *Inibição*, que sugere que todas espécies apresentam resistência às invasões dos ecossistemas por competição. As espécies instaladas no ecossistema, englobando as iniciais oportunistas e as que surgem após a maturação do ecossistema, preencheram os nichos e os recursos disponíveis, levando à exclusão e inibição natural da entrada de novas espécies. Assim, estas novas espécies só se instalarão após a morte das espécies iniciais o que leva à libertação de recursos (Connell & Slatyer, 1977).

Ou seja, o processo de maturação dos ecossistemas está dependente das primeiras espécies colonizadoras que, por *facilitação*, *tolerância* e *inibição*, levam a que seja atingido uma maior capacidade de *resiliência* do ecossistema, tornando-o mais *estável*. Esta estabilidade é mantida, mas pode ser interrompida: 1) por factores que levam à diminuição das espécies integradas. Isto permite espaço para a entrada de novas espécies oportunistas e com maior capacidade de invasão, reiniciando-se os mecanismos de *facilitação*, *tolerância* e *inibição*; ou 2) por factores que levam à tentativa de entrada de espécies mais agressivas, que por competição desequilibrada ou capacidade de danificarem e matarem as espécies colonizadoras, reiniciam os mecanismos de *facilitação*, *tolerância* e *inibição*. Desta forma, a diversidade inicial dita a capacidade futura de maturação e estabilidade de um ecossistema (Connell & Slatyer, 1977).

Têm sido aplicados estes conceitos, directa ou indirectamente, na construção da definição do microbioma saudável (Backhed et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2016). Existe uma constituição única individual, no entanto, tem associada uma estabilidade temporal (Huttenhower et al., 2012). Isto traduz-se na interpretação de que a microbiota humana tem capacidade de resistir a perturbações, conseguindo posteriormente retomar um estado de equilíbrio funcional. Se uma perturbação externa não for suficientemente desorganizadora, a *resiliência* da comunidade confere-lhe capacidade de retomar a suas funções basilares (Lloyd-Price et al., 2016).

Exemplos associáveis a estes conceitos encontram-se nas regiões vaginal, intestinal e oral. Na região vaginal foi observada variabilidade intrapessoal, em que as flutuações da constituição estavam associadas ao ciclo menstrual, actividade sexual (Gajer et al., 2012), gravidez e parto (DiGiulio et al., 2015), como forma de adequação às funções temporárias, sendo posteriormente retomadas as funções prévias. Na região intestinal foram observadas variações interpessoais, no entanto, existiam metabolitos genéticos constantes e associados às funções e às espécies que se permanecem instaladas durante anos (Backhed et al., 2012;

Lloyd-Price et al., 2016). Na região oral este padrão foi igualmente observado (Jorth et al., 2014; Moon & Lee, 2016; Wade, 2013), associado a situações temporárias, como o surgimento dos primeiros dentes, mudança de dentes e a idade, que provocaram alterações na abundância de alguns filos como *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* e *Spirochetes*, no entanto, sem as extinguir (Moon & Lee, 2016).



5.2.5.6 Existem doenças associadas à alteração do microbioma

A disbiose está associada a doenças dos vários sistemas corporais.

Uma vez que o estudo aprofundado do Microbioma Humano é recente, a sua relação com as doenças humanas está numa fase inicial. As alterações na estabilidade e constituição do microbioma, denominadas por disbiose (do inglês, *dysbiosis*), têm sido coerentemente identificadas em várias doenças de vários sistemas: Doença de Crohn, colite ulcerosa, enterocolite, adenocarcinoma esofágico e outras doenças gastrointestinais, cistite e infecções urinárias, infecções respiratórias, vaginose bacteriana, eczema e psoríase, periodontite, aterosclerose, endocardite, diabetes, obesidade, cancro, PEA, Perturbações da Ansiedade e Perturbação Depressiva (Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, 2014; Navas-Molina et al., 2013; Proctor, 2011; Warinner et al., 2015).

A estabilidade será, possivelmente, o conceito que se apresentará com maior peso na manutenção de um estado de saúde, embora a falta de diversidade também tenha sido observada em algumas doenças como a obesidade, cistite, diabetes, dermatite atópica e psoríase. Os factores externos como a dieta, *stress*, medicamentos antimicrobianos, historial sexual, doenças pré-existentes ou condições específicas como a gravidez podem alterar o equilíbrio no ecossistema corporal permitindo a proliferação descontrolada como, por exemplo, no caso da *Candida albicans* (Lloyd-Price et al., 2016).

Embora alguns mecanismos estejam ainda por compreender, várias alterações específicas da microbiota tem estado associadas ao aparecimento das doenças referidas. Esta relação ocorre associada aos pressupostos de um microbioma saudável, apresentado nos subcapítulos anteriores.

Relativamente à colonização oportunista tardia, na região intestinal o uso de antibióticos está frequentemente associado a diarreia, alteração do metabolismo dos hidratos de carbono e alteração da fisiologia intestinal. Este uso pode resultar na proliferação de *Clostridium difficile* causando colite. Ou o caso da enterocolite em recém-nascidos que está epidemiologicamente associado ao aumento do risco da Doença de Crohn (Backhed et al., 2012).

Relativamente à diversidade, em termos pulmonares, a menor diversidade e riqueza do microbioma pode estar associada a quadros respiratórios piores, como o caso de *Pneumocystis jirovecii*, nos quadros patológicos respiratórios (Cui et al., 2014).

Na região vaginal, a estabilidade associada à *Lactobacillus* e à manutenção do equilíbrio vaginal demonstra a importância da redundância funcional (Gajer et al., 2012).

No entanto, o conceito de que uma maior diversidade confere maior potencialidade na manutenção de um estado saudável não poderá ser aplicado igualmente para todas as regiões corporais. Utilizando como exemplo a região vaginal, uma maior diversidade do seu microbioma pode estar associado a vaginose bacteriana, neoplasia intra-epitelial cervical e inflamação (Lloyd-Price et al., 2016). O mesmo se aplica às espécies menos abundantes. Espécies que sejam menos abundantes podem igualmente apresentar funções vitais que, por transferência genética horizontal, podem influenciar as espécies mais abundantes e geneticamente mais detectáveis (Kraal et al., 2014). Por exemplo, no intestino, a grande prevalência de biossíntese de espermina, degradação de metionina e produção de sulfeto de hidrogénio traduz-se numa baixa abundância metagenómica associada (Huttenhower et al., 2012). Desta forma, o facto de uma região apresentar uma maior diversidade ou espécies marcadamente mais abundantes pode não lhe conferir mais resiliência nem estabilidade (Kraal et al., 2014).

A região oral demonstra todas as características associadas a um microbioma saudável. Foi observado que as comunidades associadas a condições patológicas apresentam uma menor diversidade. Apesar das variações de constituição observadas, a expressão enzimática é constante na ausência de doença, demonstrando que diversas espécies são capazes de manter os mesmos nichos metabólicos. Várias espécies, por exemplo espécies pertencentes a *Tannerella*, *Prevotella*, *Treponema* e *Porphyromonas*, são identificadas tanto na presença como na ausência de doenças, demonstrando a importância do equilíbrio funcional (Jorth et al., 2014). Foi também observada a competição que inibe a instalação de micróbios patogénicos. Por exemplo, o caso da estirpe *Streptococcus salivarius* que produz bacteriocinas que inibem o crescimento de espécies associadas a periodontite e halitose. Este equilíbrio é quebrado após a toma de antibióticos, em que podem ocorrer infecções oportunistas pelas espécies *Candida* e *Staphylococcus aureus* (Jorth et al., 2014). Outras espécies patogénicas têm sido identificadas, como o caso de *Anaeroglobus geminatus*, *Eubacterium saphenum*, *Filifactor alocis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella denticola* e vários membros de *Bacteroidetes* e *Fretibacterium* (Wade, 2013).

Este equilíbrio da microbiota oral foi observado em casos de cáries dentárias. As bactérias orais, durante a presença de hidratos de carbono, produzem ácido para a sua digestão. Este ácido provoca a dissolução do dente, provocando cáries dentárias. Quando este equilíbrio de função é alterado, com a presença continuada de hidratos de carbono na boca, o ácido repetidamente produzido supera a acção da saliva e diminui o pH. Por sua vez, neste ambiente mais ácido, as espécies de *Lactobacillus* e *Streptococcus mutans* produzem ainda mais ácido, causando a lesão dentária. Existem membros dos géneros *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* e *Scardovia* que estão também associados às cáries dentárias e espécies bacterianas que

produzem amónia de ureia e arginina, que aumentam o pH e neutralizam o efeito do aumento de acidez (Wade, 2013).



5.3 Conclusão do capítulo

Actualmente, a microbiota intestinal apresenta uma maior robustez na evidência científica e nos seus conceitos-chave.

O recente estudo do Microbioma Humano tem significativamente ampliado o conhecimento de uma complexa simbiose universal. Os resultados iniciais já possibilitam uma identificação preliminar da constituição do Microbioma Humano nas várias regiões corporais, permitindo identificar que, também no ser humano, vários domínios de micróbios estabelecem uma simbiose ubíqua que redefinem o conceito de *organismal*. A microbiota humana é essencial ao funcionamento dos sistemas corporais sendo o ser humano saudável dependente das suas comunidades microbianas.

Foi observado que a constituição do Microbioma Humano é contínua e variável desde o nascimento, podendo existir vários *enterótipos* universais que são sujeitos à variabilidade pessoal e aos factores ambientais. Dentro desta variabilidade, existem indícios de que haverá um núcleo genómico funcional, cujas alterações podem estar associadas a doenças dos vários sistemas corporais. A compreensão dos factores provocadores de disbiose encontra-se associada aos mesmos princípios biológicos do comportamento das espécies. As várias regiões corporais humanas representam, temporal e espacialmente, vários ecossistemas com características e biodiversidade distintas, que se comportam de forma fluída, não-aleatória e não-compartimentada. Assim, na definição de um microbioma saudável devem ser aplicados os conceitos associados: 1) à primeira colonização, de acordo com a Teoria da Biogeografia das Ilhas; 2) da sua responsividade a factores externos, por transferência genética horizontal; 3) diversidade e estabilidade da sua constituição que permite a redundância de funções, de acordo com a Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia; e 4) dinamismo e resiliência, de acordo com o Modelo da Resiliência e Estabilidade dos Sistemas Ecológicos.

Os resultados preliminares expostos nesta revisão apresentam amplas implicações que apontam para a necessidade de uma redefinição relativamente ao conceito de saúde. O estreito envolvimento com os vários sistemas corporais aponta para a necessidade da inclusão dos princípios microbiológicos na compreensão do seu funcionamento. Especificamente em relação ao tema desta tese, esta revisão suporta que o Microbioma Humano deve ser contemplado na etiologia das perturbações de foro mental, de neurodesenvolvimento e, por fim, na PHDA.

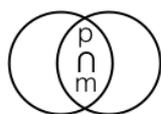
Estes resultados devem, no entanto, ser considerados tendo em conta algumas limitações. Foi recentemente sinalizado o perigo de ter ocorrido a contaminação das amostras genéticas publicamente disponíveis pelos métodos laboratoriais utilizados, o que pode ter condicionado



a análise sequencial genética para a identificação do microbioma (Borner & Burmester, 2017; Glassing, Dowd, Galandiuk, Davis, & Chiodini, 2016; R. R. Miller et al., 2016; Salter et al., 2014; S. Weiss et al., 2014). Isto significa que os resultados aqui apresentados são anteriores a quaisquer medidas tomadas após esta identificação. Por outro lado, no conhecimento actual microbiológico existe uma grande contribuição de estudos realizados em animais não-humanos. O conhecimento do Microbioma Humano iniciou a sua maior impulsão apenas no ano de 2013, pelo que os seus resultados devem ser considerados preliminares. Esta característica também representa que o ritmo de publicações se encontra numa fase de aumento significativo. Isto significa que, mesmo com a replicação da pesquisa inicial, podem surgir novos resultados relevantes no tempo da redacção e publicação desta revisão. Por fim, tendo em conta que o estudo das várias regiões corporais é largamente assimétrico, os resultados aqui apresentados podem advir, principalmente, das características mais associadas às da região intestinal.

A evidência actual aponta que o microbioma intestinal terá uma diversidade superior em mais do que uma ordem de grandeza, sendo o ecossistema corporal mais diverso. Isto significa que a investigação científica deve ser direccionada equitativamente para as várias regiões corporais. Especificamente em relação ao tema desta tese, esta sugestão significa que o microbioma intestinal poderá representar o ponto de partida para a compreensão do seu potencial envolvimento etiológico com a PHDA, não só pela sua complexidade, mas também por apresentar uma maior quantidade e robustez de evidência criada. Desta forma, os princípios apontados nesta revisão representarão os conceitos-chave a serem utilizados na conceptualização teórica da Fase *Construtiva*.

Parte C - Fase
Construtiva:
conceptualização



6 Construção teórica etiológica do Microbioma Humano e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Esta tese representa a primeira teoria que conceptualiza como os factores ambientais disbióticos alteram a microbiota intestinal no sistema digestivo que, através do eixo intestino-encefálico e sistema imunológico, têm impacto nas regiões neuroanatómicas e neurotransmissores envolvidos na etiologia da PHDA e, pelos mecanismos epigenéticos, aumentam a susceptibilidade do seu desenvolvimento.

Historicamente, a importância da ligação entre o intestino e o cérebro pode já ter sido identificada no processo de mumificação utilizado pelo povo egípcio, um dos povos mais preeminentes no campo da medicina e no estudo anatómico e cujas técnicas ainda hoje são estudadas e aprofundadas (Fanous & Couldwell, 2012; Jansen, Poulus, Taconis, & Stoker, 2002). Este processo sagrado era representativo da necessidade de preservar o corpo para a vida após a morte (Jansen et al., 2002; Saleem & Hawass, 2013). Neste processo as vísceras eram retiradas e os órgãos importantes guardados em quatro vasos canópicos para o fígado, pulmões, estômago e intestinos. O coração era novamente colocado no corpo por representar o centro da alma (Grosvenor & Laws, 2008). O cérebro era



retirado (Grosvenor & Laws, 2008; R. Gupta, Markowitz, Berman, & Chapman, 2008; Jansen et al., 2002) e posteriormente descartado (Fanous & Couldwell, 2012; Grosvenor & Laws, 2008; Zimmerman, Brier, & Wade, 1998). Este passo, denominado *descerebração*, tem sido cientificamente compreendido em termos de metodologia (R. Gupta et al., 2008; Jansen et al., 2002), no entanto, a simbologia que representa ainda levanta questões. Poderá estar associado à consideração de que o cérebro era a fonte das secreções nasais e dispensável para a vida (Fanous & Couldwell, 2012; Grosvenor & Laws, 2008) ou pela necessidade da sua extracção de forma a permitir fortalecer internamente o crânio para não perder a sua forma (Jansen et al., 2002; Saleem & Hawass, 2013).

Mais recentemente, em meados do século XIX, a interacção entre os sistemas digestivo e nervoso ocorreu com a descoberta do SNE. As teorias sobre este sistema estavam associadas aos conceitos centrais de que os estímulos que induzem emoções provocam alterações viscerais, através do funcionamento somático, e de que as aferências das mudanças periféricas são essenciais à percepção cerebral emocional (E. a Mayer, 2011).

O SNE corresponde ao conjunto de neurónios, em igual número aos da espinal medula, localizado entre as camadas intestinais e que são responsáveis pela regulação das funções gastrointestinais (E. a Mayer, 2011). Ainda hoje é considerado o terceiro ramo do Sistema Nervoso Autónomo (SNA), sendo referido como o *segundo cérebro* pela sua similaridade com o cérebro no tamanho, complexidade, neurotransmissores e moléculas sinalizadoras. Esta consideração não é surpreendente após o enquadramento: com a complexidade do ambiente corporal; com o facto da superfície intestinal ser cerca de cem vezes superior à superfície da pele; por esta região apresentar a maior comunidade microbiana; pela implicação imunológica, contendo dois terços das células imunológicas corporais; e pelos milhares de células endócrinas contendo hormonas (E. a Mayer, 2011). Actualmente, tem sido crescente o reconhecimento da influência da microbiota intestinal no desempenho fisiológico cerebral, comportamento e funções cognitivas (Reardon, 2014; H.-X. Wang & Wang, 2016).

O estudo do Microbioma Humano pode já ser relacionado com a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

A segunda fase do Projecto do Microbioma Humano estendeu-se durante os anos de 2013 a 2016, coincidindo com os anos de trabalho desta tese. Os resultados criados foram acompanhados, surgindo semanalmente nova e adicional informação. Esta segunda fase focou-se na relação entre o microbioma e as situações de doença, mais especificamente, na relação longitudinal em três condições: 1) gravidez, incluindo as condições resultantes dos partos pré-termo; 2) surgimento de doenças intestinais, usando a doença inflamatória intestinal como um modelo; 3) infecções virais respiratórias; e 4) surgimento de *Diabetes mellitus* tipo 2 (Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium, 2014).

Somente no final de 2017 surge o primeiro estudo que compara uma amostra de adolescentes

e adultos com PHDA com um grupo controlo (Aarts et al., 2017). Apesar da amostra ser reduzida e por conveniência, este estudo exploratório aponta para diferenças no filo *Actinobacteria*, possivelmente pelo aumento do seu género *Bifidobacterium* e pela diminuição do filo *Firmicutes* (Aarts et al., 2017). Este aumento pode estar associado à biossíntese de dopamina (Aarts et al., 2017), o principal neurotransmissor envolvido etiologicamente na PHDA. Outros mecanismos de acção são adicionalmente apontados e que se estendem para além da ligação do microbioma à produção de moléculas neuroactivas como a dopamina (Cenit et al., 2017). Este estudo acrescenta a ligação à produção do aminoácido triptofano, um precursor de várias moléculas como a serotonina, e acrescenta uma possível ligação através de citocinas inflamatórias e de AGCC (Cenit et al., 2017).

Apesar destes resultados, actualmente não existe explicação sobre os mecanismos que relacionam as alterações do Microbioma Humano com a PHDA. Este capítulo 6 representa a primeira conceptualização de como, especificamente, as alterações do microbioma intestinal humano levam às alterações neuroanatômicas observadas na PHDA (Figura 6-1). Assim, será explorada a ligação conceptual entre as alterações neuroanatômicas identificadas no capítulo 4 e os conceitos-chave do Microbioma Humano no capítulo 5.

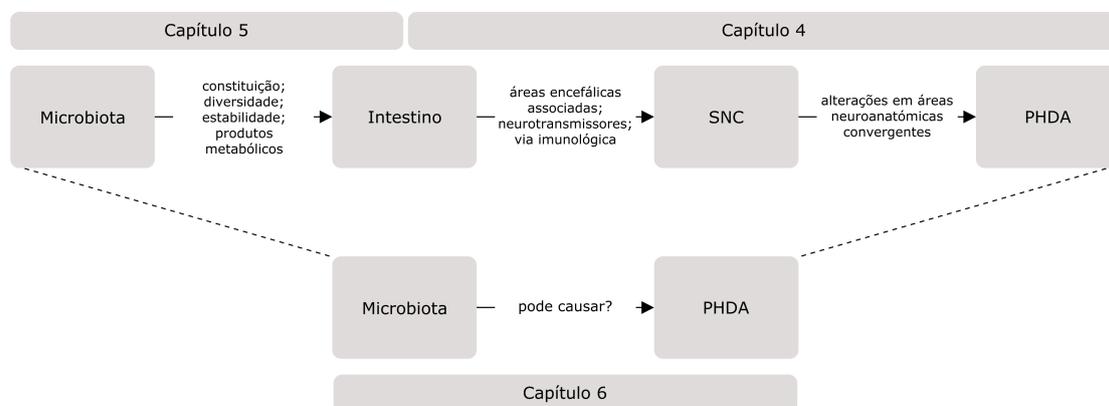


Figura 6-1 Resumo conceptual dos capítulos 4, 5 e 6

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; SNC Sistema Nervoso Central.

Figura original ("CmapTools," 2017).

Tendo em conta que a microbiota intestinal é, claramente, a comunidade microbiana mais explorada (Tabela 5-2) e desempenha um papel central no funcionamento corporal, será a comunidade microbiana central para a argumentação desta tese. Assim, apesar da nova conceptualização associada a esta tese, a sua construção teórica assenta nos dois tópicos mais estudados de cada conceito: neuroanatomia na PHDA e intestino no Microbioma Humano.

De uma forma geral, este capítulo encontra-se dividido em argumentos ordenados alfabeticamente, do A ao K. Cada argumento está organizado de forma a conter fundamento teórico que, conjuntamente, contribui para o desenvolvimento de uma hipótese *Explicativa* etiológica relacionando o Microbioma Humano e as alterações neuroanatômicas na PHDA. A

ordenação estabelecida procura, acima de tudo, dar um seguimento coerente de forma a facilitar a compreensão conceptual. Apesar de não ser seguida nenhuma divisão, os argumentos podem ser divididos em três grandes partes:

- argumentos do A ao C, relativos à fundamentação da ligação intestino-encefálica e o seu impacto nas perturbações do foro mental. A ligação à PHDA irá sendo progressivamente construída ao longo destes argumentos;

- argumentos do D ao F, representando os aspectos adicionais que fundamentam a ligação entre a microbiota intestinal, funcionamento intestinal, ligação imunológica e afectação neurológica;

- e argumentos do G ao K, sobre os factores ambientais que apresentam carácter inflamatório e disbiótico e que representam o início do processo descrito nos argumentos anteriores, terminando na afectação neurológica coerente com a PHDA.

Sempre que possível, serão adicionalmente ligadas as comunidades microbianas das restantes regiões corporais. Caso não exista informação associada ao modelo humano, será utilizada evidência empírica no modelo animal, sendo somente incluído o modelo animal de mamífero, primata ou rato.



6.A Argumento: existe uma ligação entre os sistemas digestivo e nervoso com implicação na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O eixo intestino-encefálico comunica bidireccionalmente através das áreas neuroanatómicas e neurotransmissores etiologicamente ligados à PHDA.

Numa perspectiva evolutiva, o SNE não é único aos seres humanos nem aos mamíferos. No reino animal são observados homólogos em insectos, caracóis e pólipos marinhos. Foi sugerido que os gânglios²¹ que formam os cérebros dos helmintos, e talvez os cérebros dos grandes mamíferos, possam ter derivado dos homólogos circuitos nervosos entéricos. No desenvolvimento embrionário do SNC, o SNE surge da migração das células precursoras da crista neural ao longo do nervo vago, o X nervo craniano, diferenciando-se no intestino (E. a Mayer, 2011).

Actualmente, a ligação bidireccional entre o microbioma intestinal e o encéfalo é denominada, em inglês, por *gut-brain axis*. A tradução destes termos não é simples, dado o duplo sentido em termos linguísticos e anatómicos. O termo *gut* tanto corresponde às vísceras e intestino como ao tracto gastrointestinal ou tubo digestivo, enquanto o termo *brain* tanto corresponde ao cérebro como ao encéfalo. A escolha entre o sentido linguístico ou o anatómico não corresponde totalmente ao observado na investigação. Apesar de o termo *gut* corresponder anatomicamente ao tracto gastrointestinal, a investigação deste termo é largamente associada ao intestino. Claro que a constituição do microbioma intestinal poderá estar dependente da passagem pelo estômago e, dessa forma, uma análise intestinal corresponder à soma do efeito de todo o tracto gastrointestinal. No entanto, no campo da medicina ocidental, não existe o conhecimento suficiente para tentar sequer interpretar esta relação. Assim, será adoptada a

²¹ Conjunto de neurónios fora do SNC. O conjunto de neurónios dentro do SNC é denominado *núcleo*.



opção linguística de corresponder o termo *gut* ao de *intestino*. Como as estruturas do sistema nervoso envolvidas neste eixo incluem todo o encéfalo, será adoptada a opção anatómica de corresponder o termo *brain* a encéfalo. Desta forma, nesta tese, este eixo será denominado por *eixo intestino-encefálico*.

A comunicação do eixo intestino-encefálico ocorre nos níveis neuroanatómico, endócrino e imunológico. Dado o conhecimento actual, a separação entre as formas de comunicação não é consensual. A interligação entre as possíveis formas de comunicação é muito dinâmica, sendo ainda muito cedo para uma construção teórica. Nesta tese, serão consideradas três formas: 1) comunicação pelas vias neuroanatómicas, referindo-se às regiões neuroanatómicas associadas ao funcionamento do eixo; 2) comunicação por neurotransmissores, referindo-se à comunicação que ocorre com os principais neurotransmissores conhecidos, assim como com os metabolitos e produtos derivados da comunicação e funcionamento neuronal; e 3) comunicação através dos sistemas endócrino e imunológico.

Através destas formas de comunicação tem-se tornado clara a relação deste eixo em níveis progressivamente mais específicos: entre o sistema nervoso e o sistema digestivo; entre os neurónios encefálicos e os neurónios gastrointestinais; e entre as células nervosas e a microbiota intestinal. Nesta relação bidireccional, o SNC influencia o sistema digestivo e a sua microbiota, assim como a microbiota intestinal influencia o SNC e, por consequência, o comportamento.

Por uma questão expositiva, os meios desta comunicação associados às áreas neuroanatómicas são expostos no argumento A.1, aos neurotransmissores no argumento A.2 e ao sistema endócrino e imunológico no argumento C.



6.A.1 Argumento: as regiões das vias neuroanatómicas do eixo intestino-encefálico são coerentes com a etiologia da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O funcionamento do eixo intestino-encefálico e a etiologia da PHDA partilham as regiões neuroanatómicas e o nervo vago, representando um amplo envolvimento neurológico.

A comunicação bidireccional do eixo intestino-encefálico ocorre por múltiplas vias neuroanatómicas incluindo: os dois ramos do SNA, simpático e parassimpático; a comunicação entre o SNE, no intestino, o SNA e o nervo vago, na medula; os eixos HPA e

simpato-adrenal; e as vias descendentes monoaminérgicas de dopamina e noradrenalina. Estas vias podem ser organizadas hierarquicamente em quatro níveis:

- o primeiro nível, composto pelo SNE, inclui os gânglios mioentéricos, gânglios submucosos e as células da glia entéricas²²;
- o segundo nível, que inclui os gânglios pré-vertebrais que regulam as respostas reflexas viscerais periféricas;
- o terceiro nível, composto pelo SNA na espinal medula e, no tronco cerebral, pelos núcleos do tracto solitário e dorsal motor do nervo vago, que originam, respectivamente, as aferências e eferências do nervo vago;
- e o quarto nível, composto pelos centros superiores cerebrais (E. a Mayer, 2011; H.-X. Wang & Wang, 2016).

As duas principais estruturas subcorticais associadas a estas vias são o hipotálamo e a amígdala. Estas estruturas recebem informação das regiões das redes corticais pré-frontais, incluindo os córtices pré-frontal medial e cingulado anterior. Enquanto as regiões ventrais do córtex cingulado anterior (BA 24) se projectam para o complexo medular vagal, as regiões anteriores ao joelho do corpo caloso (BA 25) projectam-se para a substância cinzenta periaquedutal, um dos principais centros de controlo descendente da dor. Esta rede do córtex pré-frontal medial, recebe informação da região lateral e da rede do córtex órbito-frontal, que fornece a integração da informação multissensorial relativamente à representação dos estados homeostáticos, como a homeostasia intestinal, dor e ingestão alimentar (E. a Mayer, 2011).

O SNA e o eixo HPA modulam a fisiologia gastrointestinal, de motilidade, secreção e permeabilidade, e as hormonas sistémicas que, por sua vez, alteram o ambiente intestinal para a relação simbiótica entre a microbiota e o hospedeiro humano (Y. Wang & Kasper, 2014). As eferências das redes mediais pré-frontais, amígdala e hipotálamo são integradas no mesencéfalo em padrões motores diferenciados, especificamente na substância cinzenta periaquedutal. Os componentes mais caudais das redes autonómicas centrais são representados pelos núcleos pontino e medulares, incluindo o núcleo serotoninérgico da rafe e os complexos do cerúleo e nervo vagal dorsal. Este sistema de redes córtico-límbico-pontinas está envolvido nos estados homeostáticos e consiste nos componentes autonómicos motores, neuroendócrinos e moduladores da dor, sendo referido como o sistema motor emocional. Tem um papel de modulação tónica, através das vias descendentes de serotonina, noradrenalina e opióides, nas funções gastrointestinais, modulação da excitabilidade neuronal do corno dorsal da medula e regulação da sensibilidade à dor. Dois exemplos, o consumo de alimentos pode inibir os mecanismos de dor, através da analgesia relacionada com as vias descendentes serotoninérgicas moduladoras de dor, e as vias descendentes opióides de

²² Entéricas, relativas ao intestino.

modulação de dor estão também envolvidas nos estados de vigília e medo (E. a Mayer, 2011).

As vias aferentes do nervo vago terminam no tronco cerebral, no núcleo do tracto solitário, ascendendo de seguida para o tálamo, através do tracto espinotalâmico, e para o lobo límbico e córtex insular, através do núcleo parabraquial. As aferências do tracto espinotalâmico terminam no tálamo, enquanto as aferências do tracto espinal terminam nos núcleos *gracilis* e *cuneatus*. Do tálamo saem projecções para as áreas primárias sensório-motoras e córtex insular (H.-X. Wang & Wang, 2016).

Ou seja, em relação à PHDA, os centros superiores neuroanatômicos do eixo intestino-encefálico são convergentes com as alterações estruturais e funcionais, identificadas na revisão de revisões do capítulo 4, e com o neurofuncionamento, identificado no Estado da Arte do capítulo 2:

- região do córtex pré-frontal medial, com alterações funcionais e de composição química (capítulo 4);
- região do córtex cingulado anterior, com alterações funcionais (capítulo 4);
- giro e córtex cingulado, do lobo límbico, com alterações funcionais (capítulo 4);
- córtex insular, com alterações funcionais (capítulo 4);
- tálamo, com alterações funcionais e implicação nos circuitos tálamo-corticais, no ritmo teta no EEG e nos circuitos neuronais paralelos córtico-estriado-tálamo-corticais, responsáveis pelas funções sensório-motoras, cognitivas e límbicas (capítulo 4);
- córtex órbito-frontal, com implicação nos circuitos de recompensa e regulação emocional (capítulo 2);
- hipotálamo, com implicação no circuito dopaminérgico e noradrenérgico, no eixo HPA e cortisol, implicados na regulação emocional, e local de acção da substância activa não-estimulante Clonidina (capítulo 2);
- e amígdala, com implicação no circuito colinérgico e dopaminérgico, no aumento da expressão do gene codificador de óxido nítrico, no circuito de recompensa e de regulação emocional (capítulo 2).

Para além desta coerência nas regiões, o facto de que o funcionamento do eixo intestino-encefálico envolve múltiplas regiões neuroanatômicas é convergente com a principal hipótese do capítulo 4, sobre um envolvimento encefálico global na PHDA. Para além deste múltiplo envolvimento convergente, e talvez mais relevante, é o facto de que as regiões neuroanatômicas envolvidas no funcionamento do eixo intestino-encefálico aparecem alteradas em indivíduos com PHDA. Desta forma, existe coerência neuroanatômica de que o interfuncionamento intestino-neurológico possa ter impacto no SNC, em regiões envolvidas na etiologia da PHDA.

A conexão nervosa através do nervo vago é, também, coerente com a sua implicação no comportamento e sintomatologia da PHDA, com base na Teoria Polivagal. Esta teoria

especifica dois ramos distintos do nervo vago: um ramo filogeneticamente mais antigo, originado no núcleo motor dorsal, e um ramo mais recente, originado no núcleo ambíguo. Ambos estão localizados, respectivamente, no complexo vagal dorsal e ventral, adjacentes às estruturas neurais na medula. Embora ambos forneçam *input* inibitório no coração, através do sistema nervoso parassimpático, fazem-no com base em funções evolutivas diferentes. O primeiro ramo, denominado por vago *vegetativo*, está enraizado na estratégia de sobrevivência primária dos vertebrados, anfíbios e répteis que paralisam quando ameaçados. O segundo ramo, denominado por vago *inteligente*, é distintivo dos mamíferos, evoluindo em conjunto com a necessidade de regular dinamicamente os maiores resultados metabólicos. Isto inclui a modulação da resposta de luta ou fuga (do inglês, *fight or flight*) em relação ao comportamento social (Beauchaine, Gatzke-Kopp, & Mead, 2007).

No início da interação social os mamíferos envolvem-se no comportamento social ou iniciam a resposta luta ou fuga. A opção do envolvimento social requer atenção mantida acompanhada por uma diminuição do ritmo cardíaco, com controlo realizado pelo nervo vagal. Por outro lado, a resposta de luta ou fuga é caracterizada, respectivamente, por agressividade e pânico, associada à remoção completa do controlo vagal, o que facilita o aumento da resposta cardíaca pela divisão simpática. Assim, o segundo ramo, vago *inteligente*, inibe o *input* aceleratório cardíaco da divisão simpática, quando a atenção mantida ou o envolvimento social é adaptativo, e retira a inibição, quando o comportamento de luta ou fuga é adaptativo (Beauchaine et al., 2007).

Dois atributos da Teoria Polivagal devem ser considerados nesta conceptualização, pois levam a duas considerações:

- a organização funcional do SNA dos mamíferos é filogeneticamente hierarquizada. Em caso de ameaça, as respostas são ditadas, sucessivamente, pelo sucesso das estruturas neurais mais recentes. Assim, se a primeira resposta de mediação vagal do envolvimento social é ineficaz na gestão de um estímulo, a estratégia de resposta é alterada para o vago *inteligente*, para um comportamento de luta ou fuga. Se esta resposta de luta ou fuga também é ineficaz, então a resposta de paralisação ocorre, mediada pelo vago *vegetativo* (Beauchaine et al., 2007). Dessa forma, as alterações funcionais do vago *inteligente* devem predispor o indivíduo a um risco de labilidade emocional, um dos marcos de psicopatologia (Beauchaine et al., 2007; Eisenberg & Richman, 2011);

- e a regulação emocional e social são consideradas propriedades emergentes das funções regulatórias do mais recente vago *inteligente*. Este controlo suprime as reacções emocionais que caracterizam a resposta de luta ou fuga, sendo um pré-requisito para a emergência do comportamento social complexo (Beauchaine et al., 2007). Dessa forma, deve ser observada uma diminuição da actuação cardíaca vagal nas várias condições mentais em que ocorre desregulação emocional, como por exemplo, a Perturbação Depressiva e as Perturbações da Ansiedade (Beauchaine et al., 2007; Eisenberg & Richman, 2011).

Coerentemente com estas suposições, foi observada atenuação da actuação vagal no comportamento anti-social em crianças e adultos, sintomatologia depressiva, ansiedade, pânico e dificuldades de regulação emocional. Por outro lado, a actuação vagal está associada ao comportamento social e empatia (Beauchaine et al., 2007; Eisenberg & Richman, 2011).

O envolvimento do nervo vago no eixo intestino-encefálico, explicado através da Teoria Polivagal, pode representar um dos mecanismos do seu impacto nas competências emocionais e sociais nas perturbações do foro mental. Relativamente à PHDA, foi sistematicamente revista a possibilidade de crianças com PHDA apresentarem menores níveis de controlo vagal cardíaco, sendo possível mas inconclusivo (Rash & Aguirre-Camacho, 2012). Posteriormente, foi demonstrado que crianças com PHDA apresentam um padrão ineficaz no sistema de controlo do ritmo cardíaco, caracterizado por dominância cardíaca β -adrenérgica e deficiência vagal, estando relacionado com a sintomatologia de desatenção (Tonhajzerova et al., 2016). Assim, o envolvimento do nervo vago e das regiões neuroanatômicas do eixo intestino-encefálico, podem representar dois dos mecanismos com impacto específico na PHDA.



6.A.2 Argumento: existe convergência entre os neurotransmissores envolvidos no eixo intestino-encefálico e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O envolvimento do eixo intestino-encefálico nos vários transmissores corporais pode ter impacto no funcionamento dos vários sistemas de neurotransmissores envolvidos na PHDA.

A comunicação entre as várias estruturas envolvidas no eixo intestino-encefálico ocorre através de *transmissores*, englobando neurotransmissores, hormonas e metabolitos (ver subcapítulo 2.3.1.1 sobre as fragilidades da definição destas substâncias). Estas vias de comunicação metabólicas representam uma das principais formas de comunicação nas relações simbióticas (ver subcapítulo 5.2.5.2), como no caso humano da microbiota intestinal e do funcionamento gastrointestinal. As moléculas produzidas pelo hospedeiro humano podem ser sintetizadas ou imitadas pelos metabolitos derivados da microbiota. Uma das ligações clássicas entre o SNC e a microbiota intestinal é a regulação central da saciedade. A sinalização da saciedade é feita por péptidos, por exemplo YY, que são transportados do tracto gastrointestinal até ao encéfalo pelo sangue (Y. Wang & Kasper, 2014).

A comunidade bacteriana da região intestinal sintetiza várias moléculas neuroactivas como catecolaminas (dopamina, adrenalina e noradrenalina), serotonina, acetilcolina, GABA, AGCC, ácido butanóico e histamina (Y. Wang & Kasper, 2014). Para além disso, no intestino encontra-se armazenada 95% da serotonina corporal (E. a Mayer, 2011). A redução ou manipulação da microbiota intestinal demonstrou ter alterações profundas na transmissão central e periférica de serotonina (Sherwin, Rea, Dinan, & Cryan, 2016). Por exemplo, a suplementação por *Lactobacillus plantarum* foi capaz de atenuar o ciclo celular aumentado de serotonina no córtex pré-frontal, assim como a suplementação por B-galactoligossacarídeo foi capaz de regular o sistema serotoninérgico através da alteração da expressão dos receptores centrais de serotonina (Sherwin et al., 2016).

A Tabela 6-1, resume os neurotransmissores envolvidos com a microbiota intestinal, como seus produtos metabólicos. Outros produtos são listados pela sua importância na argumentação posterior.

Tabela 6-1 Produtos metabólicos da microbiota intestinal

Elemento da microbiota intestinal	Produto metabólico
<i>Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	GABA
<i>Streptococcus, Escherichia, Enterococci, Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus</i>	Serotonina
<i>Bacillus</i>	Noradrenalina
<i>Lactobacillus, Bacillus</i>	Acetilcolina
<i>Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Enterococcus</i>	Histamina
<i>Clostridium, Clostridium sporogenes</i>	Ácido propiónico
<i>Bacteroides, Bifidobacterium, Propionibacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Clostridium, Roseburia, Prevotella</i>	AGCC
<i>Cyanobacteria</i>	beta-N-metilamino-L-alanina
<i>Bactérias gram-negativas</i>	Endotoxinas
<i>Escherichia, Bacillus, Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus</i>	Dopamina
<i>Microorganismos produzidos de esporos, Candida, Streptococcus, espécies de Enterococcus</i>	Promove síntese de serotonina

Legenda: GABA *Gamma-Aminobutyric Acid*, Ácido Gama-Aminobutírico; AGCC Ácido Gordo de Cadeia Curta.

Tabela traduzida e adaptada (Alkasir, Li, Li, Jin, & Zhu, 2017).

Para além da produção de neurotransmissores, a relação com as hormonas ocorre através da acção modulatória que estas exercem sobre os neurónios pré-ganglionares parassimpáticos

no núcleo motor dorsal do nervo vago (E. a Mayer, 2011). Por exemplo, o péptido vasoactivo intestinal é uma hormona sintetizada tanto no cérebro como no intestino e que medeia a modulação imunológica durante um processo inflamatório no SNC (Y. Wang & Kasper, 2014). As enzimas bacterianas podem também gerar produtos neurotóxicos como o ácido láctico e amoníaco (H.-X. Wang & Wang, 2016).

Ou seja, os neurotransmissores produzidos pelas comunidades bacterianas intestinais são centrais na etiologia da PHDA, como identificado no Estado da Arte no capítulo 2 e na revisão de revisões do capítulo 4:

- dopamina, o principal transmissor implicado na PHDA em termos genéticos. Está associado ao sistema dopaminérgico, circuitos de recompensa, regulação emocional, teorias explicativas e é o principal neurotransmissor implicado no princípio activo da medicação estimulante (ver subcapítulo 2.3);

- serotonina, implicada no estudo genético, nas teorias explicativas e no princípio activo da medicação por anfetaminas (ver subcapítulos 2.3 e 2.5);

- GABA, implicado nos resultados de uma possível diminuição da inibição transcortical GABAérgica e na comunicação, pelos seus interneurónios inibitórios, nos bolbos olfactivos, juntamente com os dopaminérgicos (ver subcapítulo 2.4.4 e capítulo 4);

- AGCC, com a possível implicação em termos etiológicos com a redução dos seus níveis, na relação com o sistema dopaminérgico, córtex pré-frontal e matéria cinzenta (implicadas anteriormente), na Teoria Neuroenergética e na possível eficácia como tratamento (ver subcapítulos 2.3.2.10, 2.3.5 e 2.5.2);

- ácido láctico, implicado no Modelo explicativo neuroenergético nos astrócitos que, a curto-prazo, altera a comunicação neuronal e, a longo-prazo, leva a uma diminuição na síntese de ácidos gordos (implicados anteriormente) (ver subcapítulo 2.3.5);

- e amoníaco, implicado na hipótese da monoamina oxidase, cuja acção de catalisação das monoaminas noradrenalina e dopamina origina aldeído e amoníaco (ver subcapítulo 2.3.5).

Assim, o eixo intestino-encefálico, através da sua microbiota, está associado aos *transmissores* implicados na etiologia da PHDA. Em coerência com o argumento A.1, relativo às regiões neuroanatômicas, o múltiplo envolvimento de *transmissores* é convergente com o principal resultado do capítulo 4, sobre um envolvimento encefálico global na PHDA. Não só é coerente com o envolvimento neurológico global, como este impacto nos transmissores pode representar a justificação da hipótese levantada de que a PHDA pode ser caracterizada por um funcionamento desequilibrado entre as várias redes neuronais. Assim, com base neste argumento A, esta tese considerou que o eixo intestino-encefálico pode estar etiologicamente ligado à PHDA.

Conclusões-chave do Argumento A

O eixo intestino-encefálico comunica pelas vias neuroanatômicas, por neurotransmissores e pelo sistema endócrino e imunológico;

O interfuncionamento intestino-neurológico depende de regiões neuroanatômicas que estão envolvidas na etiologia da PHDA e que foram identificadas no capítulo 4;

Dada a grande sobreposição do eixo intestino-encefálico com as estruturas neuroanatômicas e neurotransmissores centrais na etiologia da PHDA, existe coerência teórica de que possa estar envolvido nos mecanismos etiológicos da PHDA;

O envolvimento destas múltiplas regiões neuroanatômicas no funcionamento do eixo intestino-encefálico é coerente com a principal hipótese do capítulo 4, sobre um envolvimento encefálico global na PHDA;

O envolvimento do nervo vago no eixo intestino-encefálico, explicado através da Teoria Polivagal, pode também representar um mecanismo específico presente na etiologia da PHDA.

Questões-chave que surgem após o argumento A e que serão continuamente exploradas:

Tendo em conta a produção de neurotransmissores pela microbiota intestinal e a importância do *segundo cérebro* entérico, pode a maioria dos neurotransmissores desconhecidos também lhe estar associada?

No subcapítulo 2.3.1 foi exposto que, para além dos neurotransmissores mais estudados, estão identificados mais de cem compostos que se comportam similarmente. À medida que o conhecimento científico for progredindo sobre o microbioma intestinal, pode ser ampliado o conhecimento relativamente ao seu envolvimento na produção e funcionamento dos neurotransmissores. Caso esta relação se confirme, torna-se acrescida a importância do funcionamento entre o tracto gastrointestinal e a homeostasia e funcionamento corporal;

Podem as alterações na produção de dopamina pela microbiota intestinal levar a uma diminuição na sua quantidade disponível e na densidade dos receptores e transportadores associados?

Actualmente, não existe explicação científica de como esta relação acontece. Tendo em conta que a dopamina é, actualmente, o neurotransmissor mais vinculado à etiologia da PHDA e de que a microbiota intestinal apresenta como produto metabólico a dopamina, pode representar uma ligação conceptual entre estes dois temas. Por esta razão, e para manter um seguimento coerente da argumentação, os mecanismos específicos desta relação serão construídos no argumento D;

Tendo em conta a responsividade genética, podem as alterações na produção destes neurotransmissores pela microbiota intestinal levar a uma diminuição da densidade dos receptores e transportadores associados e que são identificados mais tardiamente pelos métodos de diagnóstico?

O conceito de responsividade genética está associado ao fenómeno da epigenética, em que os factores ambientais activam ou desactivam partes do genoma humano ditando o fenótipo final. De acordo com este fenómeno, é conceptualmente possível de que os factores ambientais que provoquem disbiose intestinal, através da alteração do funcionamento do eixo intestino-encefálico, possam alterar a expressão genética dos sistemas de neurotransmissores. Para manter um seguimento coerente da argumentação, o fenómeno da epigenética será posteriormente exposto no argumento K;

Será causal a produção de amoníaco pelas comunidades bacterianas intestinais ou uma consequência de alterações no processo?

Não existe actualmente ligação directa entre a PHDA e o amoníaco intestinal. As duas referências directas são relativas a dois relatórios de caso cujo efeito secundário e interacção farmacológica causou hiperamonemia (aumento de amoníaco no corpo), no entanto, as três crianças reportadas apresentavam comorbilidades associadas (Carlson, Reynolds, & Caplan, 2007; Rubenstein, Johnston, Elliott, & Brusilow, 1990). Talvez a ligação indirecta, através da acção da monoamina oxidase, seja a mais viável.



6.B Argumento: existe uma ligação entre o microbioma, sistema digestivo e as doenças neurológicas

Através do eixo intestino-encefálico, as alterações da constituição da microbiota intestinal atingem o funcionamento neurológico pelas vias neuronal, sanguínea e imunológica.

Tendo em conta que as alterações nas comunidades microbianas das várias regiões corporais estão relacionadas com vários tipos de doenças (ver subcapítulo 5.2.5.6), é inevitável questionar se a comunicação bidireccional intestino-encefálica leva a que alterações no microbioma intestinal se traduzam em alterações das funções cerebrais e, em última instância, em Perturbações Mentais. De facto, os modelos animais têm demonstrado que o microbioma intestinal, em condições extremas de desequilíbrio, está relacionado com variações dos níveis de vários factores neurotróficos e monoaminas envolvidos no desenvolvimento e plasticidade cerebral (de Theije, Wopereis, et al., 2014). Actualmente, não existe relação empírica directa entre a PHDA e o eixo intestino-encefálico. De forma a construir essa relação teórica, foram tidos em consideração os exemplos já existentes em relação aos mecanismos de neurodesenvolvimento, representado pela PEA, neurodegenerativos, representado pelas doenças de Parkinson e de Alzheimer, e outras Perturbações Mentais, como a Perturbação Depressiva e a Perturbação do Espectro da Esquizofrenia. A relação existente do eixo intestino-encefálico com as Perturbações Mentais, de vários tipos e características, pode suportar a suposição de que os sistemas digestivo e neurológico desempenham um papel intrínseco nestas doenças.





6.B.1 Argumento: o microbioma intestinal afecta o neurodesenvolvimento

As alterações disbióticas da microbiota intestinal humana alteram a permeabilidade intestinal e têm impacto no neurodesenvolvimento.

O possível envolvimento microbiano com a PEA foi primariamente demonstrado, em 1998, com a hipótese de que a neurotoxina *Clostridium tetani* ascende pelo percurso do nervo vago, do tracto intestinal até ao SNC, provocando os sintomas característicos da PEA. Posteriormente, em indivíduos com PEA foram observadas alterações da constituição do microbioma intestinal, com diminuição da diversidade bacteriana e alteração do rácio entre espécies (Kang et al., 2013; Tomova et al., 2015). Recentemente, foi identificada uma forte correlação entre os sintomas gastrointestinais e a severidade dos sintomas da PEA (Iovene et al., 2017). Como exposto de seguida, estas alterações microbianas gastrointestinais de disbiose são justificadas, de uma forma geral, pelas alterações da permeabilidade intestinal e pela presença de marcadores de inflamação.



6.B.1.1 Existem diferenças na constituição do microbioma intestinal na Perturbação do Espectro do Autismo

São observadas alterações disbióticas relacionadas com a severidade da sintomatologia da PEA.

O estudo do microbioma intestinal na PEA mostrou vários argumentos:

- foram observadas diferenças na constituição das comunidades microbianas intestinais (Kang et al., 2013; L. Wang, Conlon, Christophersen, Sorich, & Angley, 2014);

- as alterações na microbiota gastrointestinal resultam em processos intestinais de inflamação, aumento da permeabilidade da mucosa, alergias alimentares e alteração do pH que influenciam a acção e a produção enzimática (L. Wang et al., 2014). Este aumento de permeabilidade, a Síndrome do Intestino Permeável (do inglês, *Leaky Gut Syndrome*), leva a que os produtos microbianos derivados do funcionamento intestinal escapem para a corrente sanguínea, atinjam o cérebro e alterem o sistema imunológico (Reddy & Saier, 2015). Desta forma, os factores gastrointestinais estão envolvidos na sintomatologia e patogénese da PEA (Tomova et al., 2015; L. Wang et al., 2014).

- foi observada uma alteração no rácio *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, principalmente por redução de *Bacteroidetes*. De uma forma geral, com base na constituição do microbioma intestinal humano (ver subcapítulo 5.2.2), o tracto gastrointestinal é dominado por dois filos bacterianos, *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (Buie, 2015). O filo *Bacteroidetes* engloba os géneros *Prevotella* e *Bacteroides*. Os *Bacteroides* são um grande grupo de bactérias que podem ter benefícios na saúde, mas também contribuem para manifestações inflamatórias e

imunológicas, como febre, lesões e disfunção neurológica (L. Wang et al., 2014). Foi observado um aumento da percentagem de *Bacteroides* em indivíduos com PEA (L. Wang et al., 2014) e redução de *Prevotella* (Rosenfeld, 2015; Tomova et al., 2015; L. Wang et al., 2014). Esta redução de *Prevotella* foi observada na comparação entre irmãos (L. Wang et al., 2014), sendo um género fundamental na produção do AGCC propionato. Assim, a redução no filo *Bacteroidetes* será principalmente devida à redução no género *Prevotella* (Kang et al., 2013; Tomova et al., 2015);

- foi observada uma redução de espécies *Akkermansia* (Tomova et al., 2015; L. Wang et al., 2014), que são bactérias responsáveis pela degradação e manutenção da camada mucosa intestinal, estando relacionadas com a permeabilidade intestinal e os sintomas gastrointestinais observados na PEA (Heberling & Dhurjati, 2015; L. Wang et al., 2014);

- foi observada uma redução das espécies *Bifidobacterium* (Reddy & Saier, 2015; L. Wang et al., 2014), relacionadas com o desenvolvimento de doenças inflamatórias como alergias, doença celíaca, irritação do cólon e possivelmente envolvidas no fornecimento de péptidos muramyl, substâncias imunoestimuladoras, pirogénicas e sonogénicas (L. Wang et al., 2014);

- foi observada uma forte relação positiva entre as manifestações gastrointestinais e a severidade da PEA (Tomova et al., 2015);

- foi observada uma alteração no rácio *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, por aumento de *Firmicutes*. Foi observado um aumento de espécies de *Clostridia*, uma classe anaeróbica de *Firmicutes* que tem como produto metabólico exotoxinas e os AGCC, como o butirato e propionato (Buie, 2015; Kang et al., 2013; Rosenfeld, 2015; Tomova et al., 2015; L. Wang et al., 2014). Foi observada uma forte correlação entre as espécies de *Clostridia* e a severidade das manifestações da PEA, mas não com as alterações intestinais (Rosenfeld, 2015; Tomova et al., 2015). Foi também observado um aumento do género *Lactobacillus* (Reddy & Saier, 2015; Tomova et al., 2015), sendo outro género do filo *Firmicutes* conhecido pelo seu uso probiótico²³ e capacidade de produzir ácido láctico da lactose e outros açúcares, o que reduz o pH no intestino (Rosenfeld, 2015; L. Wang et al., 2014);

- foi observado um aumento de espécies *Desulfovibrio* (Tomova et al., 2015), também com uma forte correlação contributiva na severidade das manifestações da PEA, mas não nas alterações intestinais (Tomova et al., 2015), tendo o tóxico sulfeto de hidrogénio como metabolito (Heberling & Dhurjati, 2015);

- e foi observada uma presença exclusiva de *Alkaliflexus* e *Sutterella* (Tomova et al., 2015), contrariamente à presença exclusiva em indivíduos saudáveis de *Weissella* (Tomova et al., 2015).

²³ Alimentos, substâncias alimentares ou suplementos que contêm microorganismos que se consideram benéficos para a saúde.



6.B.1.2 As alterações dos metabolitos são coerentes com as alterações da constituição

A alteração da constituição da microbiota altera os seus produtos metabólicos tendo um impacto no SNC.

Estes resultados da constituição da microbiota observados na PEA são coerentes com as alterações dos metabolitos presentes no soro sanguíneo, urina e fezes (De Angelis et al., 2013). Foram observadas diferenças com aumento dos níveis de oxalato, homocisteína (Buie, 2015), p-Cresol, com comorbilidade frequente de epilepsia e hiperactividade (Buie, 2015; L. Wang et al., 2014), e nos produtos resultantes do funcionamento intestinal, como o AGCC propionato produzido pelo género *Prevotella* e a amónia associada à permeabilidade intestinal (L. Wang et al., 2014). Foi também observada a alteração na qualidade e quantidade dos compostos orgânicos voláteis (De Angelis et al., 2013), no metabolismo de porfirina e creatina e deficiência de triptofano, o precursor da serotonina (Buie, 2015).

Os AGCC, principalmente o acetato, propionato e butirato, são considerados metabolitos microbianos neuroactivos que atravessam a barreira hemato-encefálica e modulam as funções do SNC, o neurodesenvolvimento e o comportamento. No modelo animal foi observado que o propionato, produzido pelas bactérias entéricas pertencentes a *Clostridia*, *Desulfovibrio* e *Bacteroidetes*, e o butirato provocam alterações comportamentais, sendo que no caso do propionato são similares à PEA (de Theije, Wopereis, et al., 2014; Tomova et al., 2015). O mecanismo através do qual os produtos metabólicos têm impacto comportamental está associado à influência das toxinas bacterianas na junção intracelular do epitélio intestinal, afectando a permeabilidade intestinal. Esta alteração da permeabilidade permite a passagem dos produtos bacterianos para a corrente sanguínea, provocando inflamação e *stress oxidativo* que, por sua vez, resulta em alterações neurológicas e comportamentais (Tomova et al., 2015).



6.B.1.3 A alteração da permeabilidade intestinal activa o processo inflamatório

Com a alteração da permeabilidade intestinal ocorre a passagem de substâncias do lúmen para o interior do corpo.

De uma forma geral, a disbiose, por alteração da constituição da microbiota intestinal, altera os metabolitos decorrentes do seu funcionamento, levando a modificações da permeabilidade da mucosa intestinal, o que permite a passagem de substâncias do lúmen²⁴ para o interior do corpo. A passagem dos metabolitos tem impacto no SNC pela circulação sanguínea, trajecto nervoso e desencadeamento de respostas inflamatórias. Assim, importa demonstrar os

²⁴ Espaço dentro da cavidade tubular do tracto gastrointestinal, desde a boca até ao ânus.

mecanismos reconhecidos através dos quais o processo inflamatório, como resultado disbiótico, tem impacto no SNC.

A alteração da permeabilidade intestinal traduz-se num processo inflamatório, uma vez que várias bactérias gram-negativa²⁵ patogénicas contêm lipopolissacarídeos nas suas paredes celulares que causam danos em vários tecidos, incluindo o SNC (Kang et al., 2013). Os lipopolissacarídeos são uma combinação de lípidos e açúcar, sendo o principal componente das bactérias gram-negativas que constituem 50 a 70% da microbiota intestinal. No entanto, são também endotoxinas e induzem uma reacção inflamatória se entrarem na corrente sanguínea, como acontece após o aumento da permeabilidade intestinal (Hu, Wang, & Jin, 2016). Foi observado na PEA que a inflamação cerebral, induzida por estas substâncias, aumenta a permeabilidade da barreira hemato-encefálica e facilita a acumulação de altos níveis de mercúrio no cérebro, agravando a sintomatologia. Na análise do modelo animal, em ratos, a exposição pré-natal a estes lipopolissacarídeos diminuiu os valores de glutathione, um importante antioxidante natural do corpo envolvido na desintoxicação de metais pesados no cérebro. Esta diminuição da síntese de glutathione pode aumentar a vulnerabilidade à PEA e a outras doenças neurológicas. Esta suposição foi suportada pelo aumento de bactérias gram-negativas na PEA, como os casos de *Desulfovibrio* e *Bacteroides vulgatus*. Por outro lado, as bactérias gram-positivas *Clostridium* são produtoras de exotoxinas e propionato sendo, especificamente, a espécie *Clostridium difficile*, produtora de p-Cresol, que causa a depleção de glutathione (Kang et al., 2013).

A grande correlação entre as alterações gastrointestinais e a presença de citocinas nas amostras fecais suportam a relação entre a inflamação e a permeabilidade intestinal. Por exemplo, o Factor de Necrose Tumoral (TNF, do inglês, *Tumor Necrosis Factor*) alfa (TNF- α), uma citocina pró-inflamatória, está vinculada à relação entre a severidade da sintomatologia de PEA e a disfunção gastrointestinal (Tomova et al., 2015). Ou os valores de interferão (IFN, do inglês, *Interferon*), também de sinalização inflamatória, que suportam o argumento de que a disfunção imunológica é comum na PEA e está envolvida com a inflamação crónica e não aguda (Inoue et al., 2016).

²⁵ Gram-negativo e gram-positivo são termos referentes ao resultado da coloração através da técnica de Gram devido à quantidade de peptidoglicanos presentes na parede celular.



6.B.1.4 Várias hipóteses explicativas têm procurado interpretar as diferenças na constituição e funcionamento do microbioma intestinal na Perturbação do Espectro do Autismo

Já existe um suporte teórico que supõe a disbiose como causa da PEA e não como consequência.

O nível de conhecimento disponível já permitiu a tentativa de compreender se as diferenças do microbioma são a causa ou consequência da PEA. De uma forma geral, existe evidência que a alteração do microbioma intestinal resulta em comportamento idêntico à PEA. Para além dessa evidência, independentemente da extensão da causalidade, tem sido possível a implicação intestinal no funcionamento e desenvolvimento do SNC. Assim, nas patologias neurodegenerativas ou de neurodesenvolvimento tem sido claro que, dentro dos múltiplos factores que as influenciam, a ligação intestino-encefálica terá uma implicação fundamental no seu progresso através da ligação nervosa pelo nervo vago, sanguínea pela permeabilidade e endócrina pelo sistema imunológico (E. A. Mayer, Padua, & Tillisch, 2014). Foi nestas considerações teóricas que os principais modelos relacionados com PEA assentaram. Apesar desta tese não ser referente à PEA, importa referir os vários modelos do Microbioma Humano que lhe estão associados. Sendo uma Perturbação do Neurodesenvolvimento, representam a evidência empírica mais próxima para esta tese relativa à PHDA:

- o Modelo da Conectividade dos Sistemas (do inglês, *Systems Connectivity Model*) - de uma forma global, este modelo considera que o desequilíbrio nas comunidades intestinais de *Clostridia*, *Desulfovibrio* e *Bifidobacterium* leva a processos inflamatórios locais e de alteração da permeabilidade intestinal. Isto permite que as toxinas bacterianas e moléculas inflamatórias atinjam o encéfalo e contribuam para o desenvolvimento da PEA (Weston, Fogal, Cook, & Dhurjati, 2015). Especificamente, as bactérias anaeróbias são produtoras dos ácidos propiónico, etanóico e AGCC, como o butirato, que fornecem energia às células epiteliais intestinais fortalecendo o sistema imunológico. As principais bactérias produtoras de AGCC, sendo *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, induzem a produção de citocinas anti-inflamatórias, enquanto as bactérias pertencentes a *Clostridium* estimulam as citocinas pró-inflamatórias, uma vez que as bactérias do género *Clostridium*, como as espécies *Clostridium difficile* e *Clostridium perfringens*, são grandes produtoras de toxinas (Lazaro, Ponde, & Rodrigues, 2016). Este modelo é coerente com a exposição teórica do capítulo 5 relativa à importância da constituição, estabilidade e disbiose, sendo possivelmente explicado pela afectação imunológica do SNC, conceptualizado no argumento C;

- as alterações no metabolismo de enxofre - considera que a oxidação do grupo tiol (grupo S-H) tem um papel central na PEA, existindo deficiências na transferência do grupo metilo, transmetilação e transsulfuração associadas aos aminoácidos metionina e cisteína. O aminoácido essencial metionina tem que estar disponível na dieta para permitir a síntese de

cisteína. Estas deficiências nas vias metabólicas comprometem a excreção de metais pesados, uma vez que a cisteína limita a produção do antioxidante natural glutatona. A transmetilação está também envolvida na regeneração e conversão da metionina em S-adenosilmetionina, o mais importante co-factor enzimático na transferência dos grupos metilo na biossíntese de DNA, RNA, proteínas, fosfolípidos, creatinina e neurotransmissores (Lazaro et al., 2016). Este modelo é possivelmente explicado pelo impacto que a alteração dos factores ambientais tem no Microbioma Humano, descrito no argumento J, e nos processos epigenéticos de metilação que aumentam a susceptibilidade genética, descritos no argumento K;

- o Modelo da activação imunológica materna - considera que os processos inflamatórios maternos aumentam o risco de PEA na descendência pelas mesmas razões que afectam a própria mãe, mas aplicadas no desenvolvimento do feto e da criança. Esta suposição justifica também o aumento do risco de PEA na presença de doenças auto-imunes familiares e de níveis elevados de factores inflamatórios no sangue materno, placenta e fluido amniótico (Hsiao et al., 2013). Este modelo é possivelmente explicado pela afectação imunológica do SNC, conceptualizado no argumento C, e pelo impacto disbiótico que a alteração dos factores ambientais tem no Microbioma Humano, descritos nos argumentos G ao J.

- a exposição a teratogénicos - apesar da exposição a teratogénicos estar relacionada a várias patologias, algumas das substâncias identificadas apresentam como mecanismo uma relação com o microbioma intestinal e a PEA. Foi o caso do anticonvulsivo valproato, ou ácido valpróico, envolvido no metabolismo de ácido fólico, acetilação de histona, *stress* oxidativo, plasticidade sináptica e apoptose neuronal. As alterações desenvolvimentais que lhe estão associadas incluem alterações neuroanatómicas, na morfologia neuronal e desregulação molecular das monoaminas e neuropeptídeos em várias regiões encefálicas associadas ao comportamento social, repetitivo e emocional. No modelo animal, em rato, foi identificada uma associação entre a sua exposição e o aumento da expressão de marcadores neuroinflamatórios e défices no sistema de serotonina, também com impacto na geração descendente (de Theije, Wopereis, et al., 2014). Este modelo é possivelmente explicado pelo envolvimento do Microbioma Humano nos neurotransmissores, descritos nos argumentos C ao E, e pelos mecanismos de herança transgeracional do fenótipo e genótipo, descritos no argumento K;

- a associação com o glutamato - esta é uma hipótese que não envolve o *stress* oxidativo. O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do corpo humano que funciona em oposição ao GABA. Ambas as condições do aumento e diminuição de glutamato são consideradas na PEA, podendo representar um desequilíbrio na sinalização química excitatória e inibitória no SNC (Heberling & Dhurjati, 2015). Este modelo é possivelmente explicado pelo impacto que ocorre na neuróglia e, conseqüentemente, no SNC, de acordo com o descrito no argumento F;

- os casos da PEA *regressiva* - considera que os casos de PEA que surgem após uma regressão de competências previamente adquiridas pode ser primariamente causado pelo

crescimento excessivo de determinadas bactérias que, por sua vez, podem estar associadas a agentes antimicrobianos que eliminam elementos microbianos normais, permitindo a proliferação resistente destas bactérias. Os principais antibióticos utilizados em crianças são a penicilina e a cefalosporina, que apresentam uma grande incidência de bactérias resistentes. As bactérias resistentes envolvidas na PEA *regressiva* incluem várias estirpes pertencentes a *Clostridia*, *Sutterella* e *Desulfovibrio*. Consequentemente, o excesso de produtos bacterianos tóxicos pode estar envolvido neste processo (De Angelis et al., 2013). A importância deste desequilíbrio pode estar relacionada, por exemplo, com o facto de ser observado um conjunto de espécies, tanto em casos de PEA como em casos representativos da normalidade, que estão associadas ao processo metabólico de transmetilação e transsulfuração, no entanto, cada microbioma não corresponde a uma expressão da totalidade do processo. Assim, a presença anormal de espécies de *Clostridia* e *Desulfovibrio*, que pode representar uma deficiência no metabolismo de enxofre e uma ocupação de nichos únicos metabólicos, representa por consequência um aumento dos seus produtos metabólicos tóxicos, podendo ser a causa de inflamação gastrointestinal, da sequente neuroinflamação associada à permeabilidade intestinal e dos casos da PEA *regressiva* (Heberling & Dhurjati, 2015). Este modelo é possivelmente explicado pelo impacto disbiótico do uso de antibióticos no Microbioma Humano e nas suas funções associadas, descritos no argumento H;

- a Teoria do Excesso de Opióides - esta suposição foi inicialmente suportada pelo facto do excesso de casomorfina, um fragmento péptido similar a um opióide da caseína do leite, induzir isolamento social e apatia em modelos animais. Na transposição para o modelo humano da PEA, os opióides péptidos libertados do glúten e da caseína podem passar pela mucosa intestinal e pela barreira hemato-encefálica atingindo o SNC e alterando o funcionamento cerebral (Lazaro et al., 2016). Este modelo está possivelmente associado às rápidas alterações antropológicas Pós-Agricultura, descritas no argumento J;

- e o impacto ambiental - tendo em conta os múltiplos factores e mecanismos associados à etiologia da PEA, parece haver uma combinação entre a predisposição genética e os factores ambientais. A maior importância dos factores ambientais tem sido demonstrada nos estudos com gémeos (Tomova et al., 2015). Dado o envolvimento intestinal, a dieta é um dos principais factores apontados (De Angelis et al., 2013). As proteínas e hidratos de carbono que resistem à digestão no intestino delgado são o principal substrato de fermentação no intestino grosso. As alterações nos perfis dos produtos de fermentação bacteriana no tracto gastrointestinal podem reflectir-se em mudanças na composição e actividade da microbiota, traduzindo-se em disbiose (L. Wang et al., 2014). Este modelo é possivelmente explicado pelo impacto que as rápidas mudanças ambientais podem ter no Microbioma Humano, descritas no argumento J.

Estas explicações adiantadas foram corroboradas pelo processo inverso dos resultados obtidos em tratamento. O uso dos antibióticos vancomicina e ampicilina, que têm como alvo as lesões das paredes celulares, afectam significativamente a estrutura e fisiologia da microbiota intestinal, principalmente bactérias gram-positivas como *Clostridium difficile*. Foi

demonstrado que o tratamento com estes antibióticos resultou numa melhoria temporária da sintomatologia da PEA (Kang et al., 2013). O mesmo mecanismo foi observado com a introdução de estirpes de *Lactobacillus*, que contribuem para a manutenção da integridade da barreira epitelial intestinal através das junções celulares, o que contribui para a reparação epitelial após a lesão (Iovene et al., 2017). O tratamento oral com *Bacteroides fragilis* corrige a permeabilidade intestinal, altera a constituição microbiana e melhora a sintomatologia de PEA na comunicação e comportamentos estereotipados (Hsiao et al., 2013).

De uma forma geral, existe um conjunto de evidência que indica que as alterações gastrointestinais do ecossistema microbiano humano aumentam a permeabilidade intestinal, levando à Síndrome do Intestino Permeável. Esta condição permite o escape dos produtos microbianos e citocinas para a corrente sanguínea, causando Perturbações do Neurodesenvolvimento, sendo a PEA apenas uma das perturbações resultantes (Reddy & Saier, 2015). Num método inovador conduzido na Ásia, com o objectivo de comparar as diferenças entre indivíduos com PEA e representativos da normalidade, foi analisado o conjunto de genes das células mononucleares sanguíneas periféricas²⁶. Os resultados desta análise sugerem que as alterações do microbioma intestinal não serão uma consequência da doença, mas estão relacionadas com a desregulação do sistema imunológico, especialmente no caso de inflamação crónica, pelo mecanismo mencionado da alteração da permeabilidade (Inoue et al., 2016). Apesar destas conclusões estarem apenas comprovadas para a PEA, similaridades desta perturbação com outras perturbações do desenvolvimento, como a PHDA, podem fazer supor que mecanismos semelhantes estejam na base da sua manifestação.



6.B.2 Argumento: a microbiota intestinal está envolvida nos processos neurodegenerativos

A disbiose, a alteração dos produtos metabólicos e a resposta imunológica estão presentes nos mecanismos neurodegenerativos.

Relativamente às doenças neurodegenerativas, somente a Doença de Parkinson apresenta evidência directa com o microbioma. A Doença de Alzheimer apresenta algumas suposições vinculadas aos mecanismos imunológicos, no entanto, actualmente, mantém-se sem avaliação específica das diferenças da microbiota. Apesar de não serem doenças de neurodesenvolvimento, importa expor a evidência sobre a sua relação com o Microbioma Humano pelo envolvimento que apresentam nas alterações do funcionamento neuronal normal.

²⁶ Células de núcleo redondo como os linfócitos, monócitos, plaquetas, eritrócitos entre outros.



Representam assim, mecanismos adicionais do impacto bidireccional do eixo intestino-encefálico.



6.B.2.1 Existe fundamento teórico que relaciona o microbioma intestinal e a Doença de Parkinson

A alteração da permeabilidade intestinal permite o atingimento do SNC pelo percurso nervoso.

A Doença de Parkinson é uma perturbação neurodegenerativa multifocal caracterizada por acinesia, rigidez muscular, tremor e lentificação de movimento. Apesar destas alterações motoras, outros sintomas estão também associados como demência, depressão, disfunção sensorial, disfunção autonómica (Parashar & Udayabanu, 2017), alterações de sono, funcionamento intestinal e obstipação (Deweerd, 2016; Dobbs et al., 2016). A sintomatologia motora está principalmente relacionada com a perda de neurónios dopaminérgicos na substância negra nos núcleos da base, no entanto, a globalidade das alterações neuropatológicas estendem-se ao SNA, estruturas olfactivas, tronco cerebral e córtex cerebral (Scheperjans, Aho, et al., 2015). As lesões neurológicas podem ocorrer até duas décadas antes do aparecimento dos sintomas (Deweerd, 2016), em que a ausência de biomarcadores acrescenta importância aos mecanismos iniciais de alteração neural na justificação dos sintomas não-motores (Deweerd, 2016; Dobbs et al., 2016). Apresenta poucos marcos significativos na evolução dos tipos de tratamento, sendo que a principal abordagem é constituída pela terapêutica de substituição da dopamina, que data de 1960, após a descrição da deficiência de dopamina nos núcleos da base (Dobbs et al., 2016).

A disfunção gastrointestinal, em particular a obstipação, afecta até 80% dos casos de Doença de Parkinson, podendo preceder a sintomatologia motora em vários anos, sendo assim uma das principais manifestações preliminares (Scheperjans, Aho, et al., 2015). Neste sentido, tem sido foco de investigação a relação fisiopatológica entre o funcionamento intestinal e a sintomatologia da Doença de Parkinson (Scheperjans, Pekkonen, Kaakkola, & Auvinen, 2015). Nesta patologia, o tempo prolongado do trânsito intestinal e a obstipação estão associados com a acumulação de α -sinucleína, uma proteína abundante no cérebro humano, e com alterações neurodegenerativas no SNE, inflamação local, stress oxidativo e aumento da permeabilidade da mucosa intestinal. O aparecimento destas alterações, muito antes da sintomatologia motora característica da doença, aponta para a relevância dos factores ambientais na sua patogénese intestinal. De uma forma geral, o envolvimento intestinal na fase inicial da doença estará relacionado com os mecanismos de inflamação da mucosa intestinal, levando à acumulação de α -sinucleína nos nervos entéricos, que, por sua vez, se propaga através das ligações autonómicas pelo SNC (Scheperjans, Pekkonen, et al., 2015). Os mecanismos gastrointestinais na Doença de Parkinson apresentam similaridade na relação intestino-neurológica descrita relativamente à PEA, no argumento B.1.

Para além da reconhecida perda dopaminérgica na porção compacta da substância negra nos núcleos da base, a Doença de Parkinson faz parte das sinucleinopatias, doenças caracterizadas pela presença de neuritos e corpos de Lewy no cérebro, como o caso da demência com corpos de Lewy. Consistem em inclusões citoplasmáticas eosinofílicas, os corpos de Lewy, insolúveis que se agregam e depositam nos corpos dos processos neuronais (Mukherjee, Biswas, & Das, 2016; Parashar & Udayabanu, 2017). Estes corpos de Lewy são responsáveis pela neurodegeneração e morte neuronal (Parashar & Udayabanu, 2017), sendo que a detecção química *post-mortem* da agregação de α -sinucleína, simultaneamente com a perda neuronal na substância negra, continua a ser considerada o critério chave no seu diagnóstico (Mukherjee et al., 2016).

No entanto, aparentemente, a substância negra não é o local de iniciação de Doença de Parkinson. Existem sinais claros da patologia fora dos núcleos da base, em que as primeiras aglomerações de corpos de Lewy ocorrem em neurónios não-dopaminérgicos nos complexos vago-glosssofaríngeo e cerúleo-subcerúleo, núcleo da rafe caudal, núcleo reticular gigantocelular e vias olfactivas (Parashar & Udayabanu, 2017). Assim, para o diagnóstico precoce da Doença de Parkinson têm sido incluídas regiões fora do SNC, em que é procurado identificar a presença de corpos de Lewy e α -sinucleína, como o caso do intestino (Mukherjee et al., 2016). A distribuição patológica de α -sinucleína ocorre em gradiente ao longo do SNE, sendo coincidente com a distribuição da inervação vagal e do seu núcleo dorsal motor. Adicionalmente, poderá também ocorrer uma inicialização da agregação no apêndice (Mukherjee et al., 2016). Assim, a fisiopatologia da Doença de Parkinson é coerente com as vias de comunicação do eixo intestino-encefálico, através do nervo vago, que foram descritas no argumento A.

Com a compreensão do envolvimento do intestino e do SNE na Doença de Parkinson, iniciaram-se as considerações de que estes poderão ser o ponto de iniciação patológica, ou a via pela qual ocorre o comprometimento do SNC. A hipótese de Braak (Vizcarra, Wilson-Perez, & Espay, 2015) será um dos principais modelos aceites na história da Doença de Parkinson. Propõe que a agregação de α -sinucleína se inicia no núcleo motor dorsal dos nervos vago e glosssofaríngeo, migrando posteriormente para a porção compacta da substância negra. No entanto, o início patológico ocorre antes dessa aglomeração nos plexos mioentérico e submucoso, responsáveis pela inervação intestinal, e nas terminações mais distais do nervo vago. A presença de α -sinucleína fosforilada no tracto gastrointestinal, já foi reportada em indivíduos assintomáticos que posteriormente desenvolveram Doença de Parkinson, ao contrário de indivíduos controlo (Vizcarra et al., 2015). Este mecanismo inicial poderá ser causado pela entrada de um patogénico pela barreira mucosa do tracto gastrointestinal e, através dos neurónios pós-ganglionares, que atinge o SNC ao longo das fibras pré-ganglionares derivadas do nervo vago, que por sua vez, através do transporte transneuronal e axonal retrógrado, atinge selectivamente os núcleos subcorticais (Mukherjee et al., 2016).

A hipótese do duplo atingimento sugere que um patogénico neurotrófico entra no cérebro através da via nasal e gástrica, após a ingestão das secreções nasais na saliva. Este patogénico penetra a barreira epitelial e atinge os neurónios motores pré-ganglionares parassimpáticos do nervo vago, através da transmissão transsináptica dos neurónios do plexo de Meissner. Isto permite o transporte retrógrado pela medula, seguido da propagação para a substância negra (Mukherjee et al., 2016).

Estas possibilidades apresentam coerência com o facto de a alteração da permeabilidade intestinal facilitar a entrada de substâncias indevidas que desencadeiam respostas imunológicas de impacto sistémico, descritas no argumento B.1. O mecanismo específico através do qual este impacto ocorre, por uma questão de seguimento de argumentação, será conceptualizado nos argumentos C a F;



6.B.2.2 O início patológico intestinal conduziu à observação das diferenças no microbioma

Foi observada disbiose intestinal na etiologia neurodegenerativa da Doença de Parkinson.

O intestino surge, assim, implicado no início patológico da Doença de Parkinson. Na análise das diferenças de constituição da microbiota intestinal, foram observadas alterações coerentes com as mudanças funcionais. Por exemplo, foi observada uma redução das famílias *Prevotellaceae* e *Enterobacteriaceae*. A redução de *Prevotella*, que está relacionada com maiores níveis de benéficos AGCC neuroactivos, maior capacidade de biossíntese de tiamina, ácido fólico (ou vitamina B9) e mucina, um composto para a barreira química epitelial, é convergente com os baixos níveis de vitaminas e permeabilidade intestinal observados em indivíduos com Doença de Parkinson (Parashar & Udayabanu, 2017; Scheperjans, Aho, et al., 2015).

As variações na abundância das famílias *Lactobacillaceae*, *Verrucomicrobiaceae*, *Bradyrhizobiaceae* e de *Clostridiales* foram também associadas à Doença de Parkinson. A diminuição de *Prevotellaceae*, conjuntamente com o aumento de *Lactobacillaceae*, foi associada à diminuição dos níveis da hormona intestinal grelina. Para além de ser a hormona associada à sensação de fome, a grelina faz parte das hormonas intestinais que regulam a função dopaminérgica negro-estriada e que, nos casos de Doença de Parkinson, podem limitar a regeneração neurológica dessas regiões. A ligação entre *Prevotella* e a protecção dos neurónios dopaminérgicos ocorre também através do sulfeto de hidrogénio, secretado por este género. Este é um neurotransmissor gasoso intestinal e que demonstra um efeito protector nos neurónios dopaminérgicos em modelos animais da doença. Este neurotransmissor pode igualmente ser justificativo das alterações da permeabilidade e obstipação. Assim, poder-se-á supor que o aumento da permeabilidade intestinal pode ser uma tentativa de aumentar os benefícios do baixo nível de sulfeto de hidrogénio em situações de redução de *Prevotella* e que a obstipação pode ser um mecanismo de tentar aumentar a sua absorção (Cakmak, 2015).

Outras associações são adicionalmente encontradas. Os *Lactobacilli* podem modular a actividade dos neurónios do SNE e aferentes do nervo vago que, por sua vez, afectam a secreção de α -sinucleína celular (Scheperjans, Aho, et al., 2015). Por outro lado, a presença de *Clostridium perfringens*, uma bactéria secretora de toxinas, pode estar associada aos mecanismos de lesões de desmielinização (Vizcarra et al., 2015). A família de *Enterobacteriaceae* foi correlacionada com os sintomas motores de instabilidade postural e dificuldades na marcha (Mukherjee et al., 2016; Parashar & Udayabanu, 2017; Scheperjans, Aho, et al., 2015). A maior abundância desta família pode levar a uma evolução mais rápida da doença, com maiores níveis patológicos de α -sinucleína no cólon. Especificamente, a translocação de *Escherichia coli* para a mucosa do cólon pode suportar esta suposição (Scheperjans, Aho, et al., 2015). A bactéria *Helicobacter pylori* é um dos exemplos mais estudados na associação com Doença de Parkinson. A elevada prevalência da infecção por esta bactéria provoca limitações motoras por dificultar a absorção de levodopa, um dos fármacos no tratamento primário na Doença de Parkinson (Mukherjee et al., 2016; Parashar & Udayabanu, 2017). Foi observado um aumento significativo de proteobactérias²⁷ do género *Ralstonia* na mucosa intestinal, apontando para um equilíbrio microbiano fenotípico com maior tendência inflamatória (Felice, Quigley, Sullivan, O’Keeffe, & O’Mahony, 2016).

Em cerca de 25% dos casos de Doença de Parkinson, tem sido observado um aumento do crescimento bacteriano intestinal, que está associado a limitações motoras e cuja erradicação melhora as flutuações motoras (Parashar & Udayabanu, 2017). Por sua vez, este crescimento está associado à libertação de produtos metabólicos bacterianos que são absorvidos no intestino e excretados na urina. Através do aumento da concentração intraluminal das concentrações de aminoácidos, aumenta a conversão bacteriana de triptofano em sulfato de indoxil (ou indicano). Este aumento de indicano aponta para alterações no crescimento bacteriano, nos défices de absorção e na obstipação, que têm como consequência a redução de espécies de *Lactobacillus*, que estão associadas à produção de AGCC, citocinas anti-inflamatórias e integridade da barreira intestinal, referidas similarmente nos casos de PEA (Cassani et al., 2015). A relação do metabolismo do triptofano, alterado na Doença de Parkinson, traduz-se numa redução significativa dos seus metabolitos no plasma e líquido cefalorraquidiano e, por consequência, numa diminuição dos seus factores neuroprotectivos. Desta forma, a concentração de indicano foi interpretada como sendo um marco de disbiose, reflectindo a presença de componentes da putrefacção de proteínas e nitrogénio, principalmente induzidas por espécies bacterianas pertencentes a *Proteus* e *Klebsiella*. A microbiota intestinal patológica induz, por sua vez, a referida disfunção da parede intestinal, promovendo a inflamação e neuroinflamação, pelo mecanismo de aumento de lipopolissacarídeos e citocinas pró-inflamatórias referido anteriormente (Cassani et al., 2015).

²⁷ Filo de bactérias gram-negativas.

À semelhança das alterações de neurodesenvolvimento na PEA, a disbiose intestinal nos processos neurodegenerativos traduz-se em alteração da permeabilidade e aumento da resposta inflamatória. Estes parecem ser dois conceitos centrais observados na implicação intestino-encefálica. Por esta razão, serão dois mecanismos especificamente conceptualizados nos argumentos C ao F.



6.B.2.3 As diferenças no microbioma intestinal apresentam coerência com os mecanismos neurodegenerativos da Doença de Parkinson

A disbiose tem repercussões no sistema dopaminérgico.

É actualmente considerado que as alterações gastrointestinais na Doença de Parkinson estão precocemente presentes e ligadas ao desenvolvimento patológico da doença. No modelo animal foi demonstrado que a degeneração dos neurónios dopaminérgicos ocorre no intestino (Fang, 2016). No caso da Doença de Parkinson, a microbiota intestinal, através do eixo intestino-encefálico e da modulação da barreira intestinal, encontra-se associada a processos intestinais inflamatórios que podem contribuir para a aglomeração de α -sinucleína causando danos aos neurónios dopaminérgicos (Mukherjee et al., 2016). Este aumento de permeabilidade da mucosa intestinal pode levar à exposição, local e sistémica, de bactérias endotóxicas, consideradas um factor ambiental provocador de Doença de Parkinson, pelo aumento da expressão de α -sinucleína no cólon (Scheperjans, Aho, et al., 2015). O ambiente pró-inflamatório altera a constituição da microbiota, desequilibrando a função associada às espécies e famílias específicas referidas anteriormente. Assim, ocorre uma estreita relação entre a microbiota, α -sinucleína e a neuroinflamação (T. R. Sampson et al., 2016). Inclusive, esta alteração leva à desregulação genética envolvida na biossíntese e secreção de lipopolissacarídeos (Parashar & Udayabanu, 2017), possivelmente agravando o desenvolvimento patológico neurológico, à semelhança da PEA.

Adicionalmente, a síntese de dopamina cerebral é induzida por enzimas produtoras de dopamina, cuja síntese é controlada pelo microbioma intestinal através do eixo intestino-encefálico. Por exemplo, as espécies bacterianas intestinais pertencentes ao género *Bacillus* são reconhecidas por produzirem dopamina. Desta forma, foi considerado que metade do total de dopamina produzido é realizado pelo microbioma intestinal (Parashar & Udayabanu, 2017). Relevante para o caso da PHDA é o envolvimento progressivo da disbiose, alteração da permeabilidade, resposta inflamatória, impacto do SNC e do sistema dopaminérgico, o seu principal sistema etiológico. Desta forma, o argumento D procura identificar os mecanismos específicos através dos quais a resposta imunológica, elicitada pela alteração da permeabilidade, pode ter impacto na disponibilidade e funcionamento do sistema dopaminérgico.



6.B.2.4 A microbiota intestinal está envolvida na Doença de Alzheimer

A alteração da constituição altera os metabolitos e a permeabilidade intestinal que atingem o SNC pela corrente sanguínea e resposta imunológica.

A demência é uma categoria de doenças cerebrais neurodegenerativas, sendo que entre 60% a 80% corresponde à Doença de Alzheimer (Hu et al., 2016). Apesar da Doença de Parkinson, como doença neurodegenerativa, também estar relacionada com a demência, os mecanismos específicos da Doença de Alzheimer conferem-lhe características diferentes. Não existe actualmente nenhuma evidência que caracterize a constituição da microbiota de indivíduos com Doença de Alzheimer, no entanto, indirectamente esta relação foi observada. As suas características neuropatológicas centram-se na existência de placas senis no tecido cerebral, que são representadas por um aumento da deposição dos níveis do péptido β -amilóide, extracelularmente, e dos níveis da proteína tau²⁸, levando a uma perda generalizada de neurónios e sinapses (Reitz, Brayne, & Mayeux, 2011).

Um dos mecanismos da possível influência da microbiota intestinal na Doença de Alzheimer surge pela sua relação com o funcionamento cognitivo. A alteração da constituição da microbiota intestinal, por modulação no modelo animal de rato, demonstrou alterar o funcionamento da memória de trabalho e espacial (Hu et al., 2016), tendo também impacto no cerebelo, com alterações motoras e nas suas funções associadas (Pistollato et al., 2016). Este envolvimento cognitivo e motor é coerente com o envolvimento do eixo intestino-encefálico com as estruturas neuroanatómicas e neurotransmissores necessários às competências cognitivas e motoras. A disbiose intestinal apresenta maior impacto cognitivo na presença conjunta com *stress* e pelo padrão de dieta associado a uma dieta ocidental (Hu et al., 2016; Pistollato et al., 2016).

O mecanismo mais importante é relativo ao impacto que a disbiose intestinal exerce na permeabilidade intestinal, atingindo o SNC. Enquanto a fisiopatologia na Doença de Parkinson aponta para o atingimento do SNC através do percurso nervoso, na Doença de Alzheimer este atingimento ocorrerá pela corrente sanguínea. O tracto gastrointestinal, do esfago ao ânus, é composto por uma camada de células epiteliais que formam a barreira mucosa de protecção do corpo. Uma vez que a mucosa intestinal é colonizada pela microbiota intestinal, os factores que provocam disbiose, tanto pela alteração de constituição como pela redução de diversidade, têm impacto no funcionamento intestinal, alterando a permeabilidade desta barreira protectora. Após a entrada de substâncias para a corrente sanguínea é despoletada uma reacção imunológica com aumento dos níveis inflamatórios que, por sua vez, provocam um aumento

²⁸ Uma proteína que estabiliza os microtúbulos e que se acumula intracelularmente criando novelos neurofibrilares.



da permeabilidade da barreira hemato-encefálica, responsável pela protecção encefálica (Hu et al., 2016; Keaney & Campbell, 2015; Pistollato et al., 2016; Zheng et al., 2015).

A relação com a resposta imunológica surge com os exemplos dos lipopolissacarídeos e da calprotectina. Em indivíduos com Doença de Alzheimer foi observado um aumento três vezes superior de lipopolissacarídeos comparativamente a indivíduos saudáveis. No modelo animal, em rato, estes níveis superiores surgem associados ao aumento de β -amilóide no hipocampo, a défices cognitivos, ao aumento do fluxo de β -amilóide do sangue para o cérebro e ao aumento da sua produção neuronal. O outro exemplo é relativo à calprotectina, uma proteína libertada no sistema imunológico pelos leucócitos neutrófilos e monócitos, servindo como marcador de inflamação intestinal. Está fortemente relacionada com a permeabilidade, sendo que em indivíduos com Doença de Alzheimer foi observado o seu valor elevado. Estes dois exemplos apontam para as alterações da mucosa intestinal e de inflamação (Hu et al., 2016).

A relação com os neurotransmissores também fundamenta o envolvimento da microbiota intestinal na Doença de Alzheimer. Alguns exemplos específicos foram considerados:

- a alteração da constituição da microbiota pode alterar espécies bacterianas, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que metabolizam glutamato e produzem GABA e AGCC, como acetato, butirato e propionato. A diminuição da produção de GABA está associada a alterações cognitivas, ansiedade, depressão e alterações sinápticas, enquanto a diminuição de AGCC afecta a glucose cerebral, a homeostasia energética cerebral, as respostas imunológicas e o crescimento celular epitelial (Hu et al., 2016; Pistollato et al., 2016), alterações visíveis na Doença de Alzheimer;

- as cianobactérias intestinais produzem o aminoácido beta-N-metilamino-L-alanina, uma neurotoxina que elicita a excitotoxicidade interagindo com a sinalização do receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA). A alteração de funcionamento deste receptor é conhecida na Doença de Alzheimer e noutras neuropatologias (Hu et al., 2016; Pistollato et al., 2016);

- a diminuição de triptofano, como produto metabólico, pode representar uma diminuição da biossíntese de serotonina. Um nível superior extracelular de serotonina reduz a formação de placas de β -amilóide, reduzindo a perda neuronal e de sinapses (Hu et al., 2016);

- a microbiota intestinal produz vitaminas, como o caso da vitamina B12, cuja diminuição é um importante risco de demência. Apesar desta vitamina poder ser obtida através da dieta, uma grande parte é sintetizada pela microbiota (Hu et al., 2016);

- a alteração dos níveis dos metabolitos intestinais ocorrem antes das mudanças patológicas encefálicas (Hu et al., 2016);

- e a microbiota intestinal converte polifenóis antioxidantes da dieta em ácidos fenólicos, que interferem com a acumulação de β -amilóide (D. Wang et al., 2015).

O que é relevante para o caso da PHDA, é que, à semelhança da PEA e da Doença de Parkinson, estão envolvidos os factores que provocam a disbiose intestinal na alteração dos

produtos metabólicos da microbiota e da permeabilidade intestinal. Estes factores, contribuem para o atingimento do SNC através da corrente sanguínea e da resposta imunológica e parecem ser os mecanismos centrais na afectação neurológica e de ligação ao neurofuncionamento cognitivo e motor. Esta coerência de mecanismos envolvidos justificam a necessidade de serem especificamente conceptualizados nos argumentos C ao F. Adicionalmente, como dentro destes factores se enumeram não só as infecções patogénicas de ligação imunológica, mas também factores ambientais como o *stress*, antibióticos, padrão alimentar e aumento dos níveis das condições de higiene, significa que foi assinalada a necessidade da sua conceptualização, que ocorrerá nos argumentos G ao J.



6.B.3 Argumento: a evidência aponta para um envolvimento nas várias Perturbações Mentais

O eixo intestino-encefálico tem impacto nos vários tipos de perturbações do foro mental.

O estudo dos mecanismos etiológicos da Perturbação Depressiva tem estado principalmente focado na diminuição dos neurotransmissores, alterações no eixo HPA e imunológicas, mas ainda sem um resultado universalmente aceite. Os resultados iniciais do seu estudo microbiano, ainda em modelo animal, sugerem uma relação entre a constituição da microbiota intestinal, o fenótipo metabólico e os níveis das catecolaminas, dopamina, adrenalina e noradrenalina, no hipocampo (M. Yu et al., 2017). No modelo humano, as diferenças de constituição foram observadas na proporção de espécies, com maior representação de *Bacteroidetes* e menor representação de *Lachnospiraceae*. As estirpes do tipo de *Oscillibacter* e *Alistipes*, géneros do filo de *Bacteroidetes*, demonstraram um aumento significativo associado à sintomatologia depressiva. Por exemplo, a estirpe *Oscillibacter* apresenta o ácido valérico como produto metabólico, um homólogo do neurotransmissor inibidor GABA, que diminui a sintomatologia depressiva (Vlainic, Suran, Vlainic, & Vukorep, 2016).

São sugeridos três principais mecanismos da influência da microbiota intestinal na Perturbação Depressiva:

- o reconhecido funcionamento pelo eixo HPA, cujas alterações de funcionamento observadas são referentes ao aumento do nível de cortisol e Factor de Libertação de Corticotrofina devido ao *stress* neuroendócrino e com possível ligação ao aumento da sintomatologia depressiva. O tratamento com a bactéria *Lactobacillus farciminis* atenua a resposta deste eixo após a reparação da mucosa intestinal e a consequente redução dos níveis de lipopolissacarídeos;

- pelo mecanismo de interferência directa no funcionamento dos neurotransmissores, uma vez que as bactérias intestinais são produtoras de GABA, o principal neurotransmissor



inibitório envolvido em vários processos fisiológicos e mentais e na patogénese da Perturbação Depressiva e Perturbações da Ansiedade (ver argumento B.3);

- e pelos processos inflamatórios que podem estar alterados. A Imunoglobulina A (IgA) e a Imunoglobulina M (IgM), uns dos anticorpos do sistema imunológico que medeiam a resposta inflamatória aos lipopolissacarídeos, estão elevados na Perturbação Depressiva. Adicionalmente, a alteração da circulação de citocinas induz a sintomatologia depressiva (abordado no argumento C) (Szczesniak, Hestad, Hanssen, & Rudi, 2016; Vlainic et al., 2016).

No centro destes mecanismos surge o processo inflamatório, que apresenta influência no funcionamento do eixo HPA e no funcionamento dos neurotransmissores, pelo eixo intestino-encefálico mediado pela microbiota intestinal. Foram observadas diferenças nos valores de citocinas pró-inflamatórias como a Interleucina (IL) do tipo 1 beta (IL-1 β) do tipo 6 (IL-6), o solúvel receptor do tipo 2 (IL-2), o receptor antagonista do tipo 1 (IL-1), TNF- α , e proteína C-reactiva. A IL-6 e a proteína C-reactiva apresentam implicação no resultado final dos sintomas depressivos (Kiecolt-Glaser, Derry, & Fagundes, 2015). As citocinas estão envolvidas na alteração da produção, metabolismo e transporte dos neurotransmissores associados ao humor, como o caso da dopamina, glutamato e serotonina, e alteram a actividade neural das regiões cerebrais. As citocinas libertadas periféricamente enviam sinais moleculares e celulares através das vias neurais que aumentam o processo de inflamação do SNC (Kiecolt-Glaser et al., 2015).

As restantes perturbações do foro mental não apresentam o mesmo nível de evidência que a PEA e a Doença de Parkinson. No entanto, à semelhança da Doença de Alzheimer, existem resultados que apontam para essa mesma possibilidade relativamente à Perturbação Depressiva. A Perturbação Bipolar e a Perturbação do Espectro da Esquizofrenia apresentam evidência preliminar do envolvimento de alterações da microbiota intestinal (S. J. Evans et al., 2017; Hamdani et al., 2015; Jacka & Berk, 2016; Latalova, Hajda, & Prasko, 2017). Desta forma, o eixo intestino-encefálico, mediado pela microbiota intestinal, apresenta um impacto nas várias categorias das perturbações do foro mental. Esta suposição é coerente com o impacto do nervo vago nas competências emocionais e sociais das várias perturbações do foro mental, de acordo com a Teoria Polivagal. Relevante para esta tese é o facto de as alterações do neurodesenvolvimento estarem já representadas nesta associação. Dada a grande sobreposição do eixo intestino-encefálico com a etiologia da PHDA, existe coerência teórica preliminar de que esteja envolvido nos mecanismos da PHDA.



6.B.4 Argumento: o processo inflamatório é o denominador comum

Existe uma tendência para que a disbiose resulte numa resposta imunológica em doenças dopaminérgicas.

Apesar das diferenças sintomatológicas entre as várias doenças mentais, o funcionamento do eixo intestino-encefálico apresenta uma complexidade que pode justificar estas mesmas diferenças. Através do seu funcionamento já existe evidência da sua relação com as alterações de neurodesenvolvimento, neurodegenerativas e de humor com vários mecanismos de atingimento do SNC pela disbiose intestinal. O que importa realçar, é que através do funcionamento do eixo intestino-encefálico existem dois denominadores comuns:

- existe uma tendência para um envolvimento com doenças que partilham com a PHDA a etiologia dopaminérgica (ver subcapítulo 2.3.4 e Figura 2-4), como o caso da Doença de Parkinson, Perturbações Depressiva, Bipolar e do Espectro da Esquizofrenia;

- e existe um mecanismo central comum nestas doenças representado pela disbiose da microbiota intestinal, alteração dos seus metabolitos, alteração da permeabilidade intestinal e activação imunológica.

A relação com o sistema endócrino e imunológico corresponde ao terceiro mecanismo de comunicação do eixo intestino-encefálico. Por uma questão de organização desta argumentação, a ligação intestino-imunológica foi propositadamente adiada para o seguinte argumento C. Esta decisão baseou-se em dois pontos centrais: 1) pelos mecanismos imunológicos serem o denominador comum da afectação do SNC, o que poderá indicar ser fundamental para a relação intestino-neurológica, devendo ser aprofundado; e 2) porque a evidência aponta para que seja o mecanismo etiologicamente mais ligado à PHDA, o que será construído nos argumentos seguintes.



Conclusões-chave do Argumento B

O eixo intestino-encefálico, mediado pela microbiota intestinal, apresenta um impacto transversal às várias categorias das perturbações do foro mental;

A disbiose da microbiota intestinal, com alteração da constituição e da estabilidade, é um mecanismo central comum nas doenças mentais, representando coerência com os conceitos centrais de um microbioma saudável, expostos na revisão do capítulo 5;

A presença de factores ambientais disbióticos leva a processos de alteração da permeabilidade intestinal, o que permite a entrada de toxinas bacterianas e moléculas inflamatórias: 1) na PEA contribuem para as alterações de neurodesenvolvimento; 2) na Doença de Parkinson levam à acumulação de α -sinucleína nos nervos entéricos, com uma propagação coincidente com a inervação vagal e coerente com as vias de comunicação do eixo intestino-encefálico, descritas no argumento A; e 3) na Doença de Alzheimer o envolvimento cognitivo e motor é coerente com as estruturas neuroanatómicas e neurotransmissores do eixo intestino-encefálico;

Os mecanismos imunológicos, elicitados pela alteração da permeabilidade, são um mecanismo comum às doenças mentais e podem ter impacto na disponibilidade e funcionamento do sistema dopaminérgico, o que será explorado nos argumentos C e D;

Dada a coerência que é observada entre as conceptualizações preliminares, para as perturbações do foro mental referidas, existe evidência que suporta a necessidade de uma conceptualização etiológica na PHDA e que deve englobar a relação microbiota-intestino-imunológica.

Questões-chave que surgem após o argumento B e que serão continuamente exploradas:

Podem as substâncias alimentares ou de exposição ambiental representar parte dos patogénicos neurotróficos que têm impacto no SNC, através da alteração de permeabilidade intestinal?

Esta tese conceptualiza que sim. A rápida mudança da exposição ambiental e a introdução massiva de químicos alimentares tem um impacto, actualmente, incalculável e que será abordado no argumento J;

Sendo o triptofano precursor do neurotransmissor serotonina pode, analogamente à Doença de Parkinson, ter uma implicação conceptual na PHDA, através deste neurotransmissor?

Esta possível ligação com a PHDA já foi considerada, no entanto, a relação entre a redução de serotonina e a disponibilidade de triptofano ainda não foi confirmada na PHDA (Cenit et al., 2017). Será conceptualizada a sua ligação através do sistema imunológico no argumento C.



6.C Argumento: existe coerência entre os mecanismos imunológicos e endócrinos mediados pelo eixo intestino-encefálico e a Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

A constituição da microbiota intestinal molda o perfil imunológico com um impacto local e sistémico e que afecta as áreas neuroanatômicas e neurotransmissores associados à PHDA.

Os argumentos anteriores fundamentaram a intrínseca ligação entre os sistemas digestivo e nervoso em vários tipos de perturbações do foro mental como a PEA, Doença de Parkinson e Perturbação Depressiva. No entanto, a evidência preliminar com estas doenças pode não ser apenas representativa da sua maior importância no estudo do Microbioma Humano, mas antes de serem das doenças mais estudadas²⁹, o que inevitavelmente se pode traduzir em mais estudos que procuram avançar o seu conhecimento.

Existe assim robustez teórica preliminar que vincula o Microbioma Humano, especificamente o intestinal pelo eixo intestino-encefálico, à etiologia das Perturbações do Neurodesenvolvimento, Neurodegenerativas e do Humor. Será expectável que futuras relações sejam criadas. Com este argumento C foi pretendido fundamentar a relação com a

²⁹ A 13 de Julho de 2017 a PEA, Doença de Parkinson e Perturbação Depressiva apresentavam um total respectivo de artigos indexados à *PubMed* de 20 321, 55 265 e 94 484. De acordo com uma pesquisa rápida pelas queries respectivas: "*Autistic Disorder*"[Mesh] OR "*Autism Spectrum Disorder*"[Mesh], "*Parkinson Disease*"[Mesh], e "*Depressive Disorder*"[Mesh].



PHDA, através das vias endócrina e imunológica, e conceptualizar que será a forma de comunicação que lhe estará mais associada.



6.C.1 Argumento: a comunicação do eixo intestino-encefálico envolve todo o sistema endócrino e imunológico

Existe um envolvimento global do sistema imunológico, desde os mecanismos inatos, aos específicos e ao SNC.

A divisão desta terceira forma de comunicação do intestino-encefálico é realizada devido ao envolvimento de outros sistemas corporais para além do digestivo e neurológico. É caracterizada por uma sobreposição de mecanismos, devido à similaridade conceptual e biológica entre neurotransmissores e hormonas (ver subcapítulo 2.3.1) assim como o funcionamento indissociável com as formas de comunicação expostas no argumento A.

A primeira ligação conceptual entre o sistema digestivo e o imunológico é relativa ao tracto gastrointestinal ser uma invaginação tubular, com as extremidades na boca e no ânus e o lúmen no seu interior. Ou seja, o lúmen, que é o *interior* do tracto gastrointestinal, corresponde na realidade ao exterior do corpo humano. Assim, a mucosa que o reveste é uma barreira para o exterior corporal. Será assim natural que esta fronteira seja fortemente vigiada pelo sistema imunológico e que a microbiota intestinal que a coloniza tenha um papel fundamental na sua função (E. a Mayer, 2011).

Apesar das células enteroendócrinas constituírem apenas 1% das células epiteliais intestinais, constituem o maior órgão endócrino corporal com mais de 20 tipos diferentes de células. O SNE apresenta um sistema imunológico associado ao intestino com dois terços das células imunológicas corporais, com milhares de células enteroendócrinas e com mais de 20 hormonas. Esta complexidade de comunicação interoceptiva enfatiza a importância deste sistema para a manutenção da homeostasia corporal (E. a Mayer, 2011).

Existem três mecanismos através dos quais a informação sensorial corporal é processada no intestino: 1) pelos neurónios aferentes primários; 2) pelas células imunológicas; e 3) pelas células enteroendócrinas (E. a Mayer, 2011). Desta forma, a comunicação segue dois caminhos principais, com a influência bidireccional intestino-encefálica associada: o funcionamento de regulação hormonal ou neurotransmissor e os processos imunológicos (L. Wang et al., 2014). Mais uma vez, esta divisão funcional não é totalmente praticável dada a interligação destes dois sistemas. Representa, acima de tudo, uma tentativa de organização explicativa dos argumentos utilizados, que ao longo da argumentação foram sendo fusionados.

As células enteroendócrinas funcionam como o primeiro nível de integração dos estímulos químicos e mecânicos relacionados com o conteúdo intestinal, com as suas eferências envolvidas na regulação digestiva e do SNC, através do SNE. Este controlo é exercido através das vias: 1) endócrina, com acção da hormona via corrente sanguínea, longe do local da sua produção; 2) parácrina, com acção local nas células vizinhas; e 3) autócrina, com acção sobre a própria célula produtora (E. a Mayer, 2011; Paul, 2013). As células enteroendócrinas espalhadas pelo epitélio intestinal segregam neurotransmissores e outros péptidos sinalizadores em resposta aos estímulos luminiais, representando a comunicação gastro-endócrino-neurológica (Y. Wang & Kasper, 2014).

Dada a relação próxima com o sistema imunológico, a Tabela 6-2 expõe o seu funcionamento essencial e os principais critérios-chave.

Tabela 6-2 Divisão e funcionamento essencial do sistema imunológico

O sistema imunológico é um mecanismo de defesa contra potenciais patogénicos ou antigénicos (qualquer substância capaz de induzir uma resposta imunológica), por exemplo, vírus, bactérias, parasitas eucarióticos, fungos ou proteínas. É dividido em dois tipos:

1) Inato ou não específico (porque apresenta uma resposta generalizada e idêntica para qualquer patogénico), dividido em duas linhas de defesa:

1.1) a primeira linha de defesa é composta por barreiras celulares como a pele e as mucosas;

1.2) a segunda linha de defesa é composta pela resposta inflamatória (que representa a confluência de recursos para combater o patogénico) e pelos fagócitos (que são glóbulos brancos ou leucócitos). Os fagócitos ingerem os patogénicos e colocam fragmentos (proteínas ou cadeias de péptidos mais curtas) resultantes da destruição no exterior da sua parede celular como forma de sinalização, no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*), neste caso, MHC de tipo 2 (MHC-2), tornando-se Células Apresentadoras de Antigénico (APC, do inglês, *antigen-presenting cell*). Existem vários tipos de fagócitos, destacando-se os neutrófilos (mais numerosos e rápidos), macrófagos (mais versáteis), mastócitos (mediadores de histamina) e as células dendríticas (consideradas as melhores APC activadoras do sistema específico).

2) Adaptativo ou específico (porque apresenta especificidade na sua resposta ao patogénico), com respostas através de dois tipos de leucócitos:

2.1) Linfócitos B (ou células B. *B* por serem produzidos na medula espinal, do inglês, *bone marrow*). As células B são responsáveis pela resposta humoral, ou seja, pela captação de patogénicos no fluido extracelular. O reconhecimento dos patogénicos é realizado num receptor dedicado, constituído por uma porção comum e uma porção variável, resultante de uma aleatorização do seu DNA, durante o processo de diferenciação celular da mesma célula comum inicial estaminal (hematopoiese). Após este reconhecimento, os linfócitos B ficam activados, colocam os fragmentos patogénicos sinalizadores no MHC-2 (à semelhança dos fagócitos) e iniciam a sua própria multiplicação com a diferenciação em dois papéis:

- Linfócito B de memória, com a função de armazenar o registo patogénico realizado, ficando prontas a uma nova activação;

- Linfócito B efector (ou plasmócito, do inglês, *plasma cell*), com a função de produzir anticorpos para o patogénico activador. Os anticorpos libertados ligam-se ao patogénico activador, marcando-os para os fagócitos ou levando à sua destruição, pela alteração das suas propriedades e funções.

2.2) Linfócitos T (ou células T. *T* por serem produzidos no timo, do inglês, *thymus*). São os leucócitos capazes de identificar os patogénicos dentro de células infectadas ou células com defeito aptas a apoptose (processo de morte celular). Apresentam duas formas de serem activados, por dois tipos de linfócitos T:

- Linfócito T auxiliar (Th, do inglês, *T-helper cell*), que são activadas pelas sinalizações realizadas nos MHC-2, dividindo-se em células Th memória (com a mesma função de registo) e célula Th efectora, com a função de aumentar o nível de alarme do sistema imunológico pela activação dos vários linfócitos (alguns linfócitos B mesmo que detectem um patogénico só são activados pelas células Th) através da libertação de citocinas e incentivo à proliferação;

- Linfócito T citotóxico (Tc, do inglês, *Cytotoxic T cell*), que são responsáveis por matar as células sinalizadas como infectadas. Uma vez que são o tipo de linfócito capaz de identificar as células com o patogénico no seu interior ou aptas a serem suprimidas, não são activados pelo MHC-2 sinalizador (que sinaliza patogénicos nos espaços extracelulares exteriores a cada célula individual), mas pelo MHC-1. Este complexo do tipo 1 está presente em todas as células nucleares, conferindo assim capacidade a cada célula de sinalizar o seu estado.

São adicionalmente considerados os Linfócitos T regulatórios (Treg) ou supressores, que são responsáveis pela regulação negativa e desactivação dos leucócitos, servindo assim como mecanismo de segurança. Apesar das variações de interpretação relativa ao seu nome, nesta tese, os Treg referem-se aos linfócitos regulatórios (também denominados como supressores). Assim, é excluído nesta tese o conceito de que os linfócitos T supressores e auxiliares podem ser conjuntamente denominados por linfócitos reguladores.

As células T apresentam dois tipos de linhagem: as que exibem o receptor molecular CD4 (do inglês, *cluster of differentiation 4*) e as que exibem o receptor molecular CD8. Estas células diferem na forma como reconhecem o antigénico e como medeiam as funções regulatórias e efectoras. As células com CD4 e CD8 medeiam a adesão, respectivamente, a MHC2 e MHC1. As células que apresentam o receptor CD4 e CD8 podem também ser denominadas células CD4+ (CD4 positivas) e CD8+ (CD8 positivas) (analogamente, as células também podem ser MHC1+ e MHC2+). Uma vez que a presença dos receptores CD4 e CD8 está maioritariamente associada, respectivamente, aos linfócitos Th e Tc, na literatura, os linfócitos T podem também ser denominados por CD4+Th e CD8+Tc. Assim, de uma forma geral, as células T CD4+ estão associadas a respostas libertadoras de citocinas a antigénicos extracelulares, enquanto as células T CD8+ estão associadas à acção de detectar e suprimir outras células.

Adicionalmente, um terceiro ramo é constituído por células exterminadoras naturais (NKC, do inglês, *Natural Killer Cell*). As NKC estão pré-programadas para responder a um patogénico matando as células por indução de apoptose. As diferenças relativas às células B e T estão associadas a uma menor variabilidade de receptores por serem rapidamente activadas (não demorando dias como as outras), proliferadas e diferenciadas. A sua actividade é potenciada pela produção de IFN alfa (IFN- α) durante as infecções, produzindo citocinas pró-inflamatórias. Algumas destas citocinas são potentes activadoras de macrófagos, desempenhando um papel importante na primeira fase da resposta inata, enquanto a resposta adaptativa é construída.

Legenda: APC *Antigen-Presenting Cell*, Células Apresentadoras de Antigénico; CD4 Receptor molecular *Cluster of Differentiation 4*; CD4+ Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 4*; CD8 Receptor molecular *Cluster of Differentiation 8*; CD8+ Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 8*; DNA *Deoxyribonucleic Acid*, Acido Desoxirribonucleico; IFN- α Tipo alfa de *Interferon/Interferão*; MHC *Major Histocompatibility Complex*, Complexo Principal de Histocompatibilidade; MHC-1 Tipo 1 de *Major Histocompatibility Complex/Complexo Principal de Histocompatibilidade*; MHC-2 Tipo 2 de *Major Histocompatibility Complex/Complexo Principal de Histocompatibilidade*; NKC *Natural Killer Cell*, Células Exterminadoras Naturais; Tc *Cytotoxic T cell*, Linfócito T citotóxico; Th *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar; Treg Linfócitos T regulatórios.

(Khan Academy, 2017; Paul, 2013).

Cerca de 70 a 80% das células imunológicas corporais estão contidas nos tecidos linfóides associados ao intestino, reflectindo o equilíbrio entre a tolerância e a imunidade intestinal. A camada de células epiteliais da mucosa intestinal representa a barreira entre o hospedeiro e um dos *habitat* corporais mais complexos. O facto das células imunológicas intestinais serem

imunologicamente hiporresponsivas às comunidades bacterianas mutualistas, mantendo simultaneamente a capacidade de reacção aos organismos patogénicos, sugere que, em condições fisiológicas de homeostasia, são responsáveis pela sinalização, resposta e adaptação imunológica à exposição exterior (E. a Mayer, 2011). Por exemplo, os segmentos filamentosos no intestino podem restaurar o funcionamento dos linfócitos B e T intestinais e a comunidade bacteriana comunica com o hospedeiro através dos Receptores do Tipo Toll³⁰ (TLR, do inglês, *Toll-Like Receptors*) (E. a Mayer, 2011; H.-X. Wang & Wang, 2016). Através destas ligações, os neurónios também respondem aos componentes virais e bacterianos. As células epiteliais intestinais podem transportar metabolitos microbianos para o ambiente corporal interno, interagindo assim o SNC com estes componentes (H.-X. Wang & Wang, 2016).

Os terminais aferentes do nervo vago, próximos das células mucosas imunológicas, contêm receptores para a sinalização molecular libertada por estas células, incluindo os produtos dos mastócitos, como proteases, histamina, serotonina e Factor de Libertação de Corticotrofina do eixo HPA e citocinas (E. a Mayer, 2011). Esta relação com o Factor de Libertação de Corticotrofina, representa o funcionamento conjunto entre o SNA e o eixo HPA. De facto, o *stress*, pela sua relação com eixo HPA, pode causar alterações na microbiota, causando alterações na barreira epitelial, no aumento sistémico dos níveis de corticosterona e nas respostas imunológicas (Y. Wang & Kasper, 2014).

Um dos principais mecanismos de activação do sistema imunológico está associado às citocinas, principalmente associadas ao Linfócitos T auxiliar (Th, do inglês, *T-helper cell*) (Tabela 6-2). As citocinas são pequenas proteínas que incluem interleucinas, quimiocinas, IFN e TNF com vários efeitos nos órgãos através das vias endócrina, parácrina e autócrina. Estas moléculas sinalizadoras, produzidas por células e regiões específicas, são meios de comunicação entre as várias células imunológicas. Por exemplo, as quimiocinas são uma família estruturalmente pequena de citocinas que se ligam às células com os seus receptores receptivos e induzem o movimento dos leucócitos na direcção da fonte da sua produção (Owen, Punt, & Stranford, 2013).

Relativamente às citocinas, a Tabela 6-3 representa uma listagem parcial destas substâncias que, devido ao seu elevado número e funções continuamente actualizadas, foram seleccionadas pela sua relevância para esta argumentação. Igualmente simplificada foi a divisão entre o seu mecanismo de impacto como pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, pois ocorre uma grande interacção individual e combinada das suas acções, podendo mesmo

³⁰ Receptores que fazem parte do sistema imunológico inato humano e que são o primeiro passo na produção da resposta por citocinas, estando largamente distribuídos pelos neurónios.

algumas desempenhar um duplo papel pró e anti-inflamatório (Cavaillon, 2001; Dinarello, 2007; Monastero & Pentylala, 2017).

Tabela 6-3 Lista selectiva de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias

Citocinas	Fonte	Actividade
Pró-inflamatórias		
IL-1; IL-1 β	Várias células incluindo monócitos, macrófagos, células dendríticas, NKC e células não imunológicas como as células epiteliais, endoteliais, adipócitos, astrócitos e células do músculo liso.	Vários efeitos nas células B e T, monócitos, eosinófilos, células dendríticas, fibroblastos, células do fígado e do sistema nervoso. Induz a inflamação local e sistémica como a febre, a fase aguda da resposta e estimulação da produção de neutrófilos.
IL-2	Células T activadas.	Estimula a proliferação e a diferenciação das células B e T. Activa as NKC.
IL-4	Células T (principalmente Th2), mastócitos, basófilos e células estromais* da medula óssea.	Promove a diferenciação celular das células T desactivadas em Th2. Estimula o crescimento e diferenciação das células B. Induz a mudança de classe para IgE. Promove a resposta alérgica.
IL-5	Células T (principalmente Th2), mastócitos e eosinófilos.	Induz a formação e diferenciação de eosinófilos. Estimula o crescimento e diferenciação das células B.
IL-6	Algumas células T e B, várias células não-linfóides, incluindo macrófagos, células estromais* da medula óssea, fibroblastos, células musculares e endoteliais, adipócitos e astrócitos.	Regula as funções das células B e T. Efeito <i>in vivo</i> na hematopoiese. Induz inflamação e a fase de resposta aguda.
IL-12	Macrófagos, células B e células dendríticas.	Factor importante na indução da diferenciação de Th1. Induz a produção de IFN- γ pelas células T e NKC. Aumenta a actividade celular das NKC e Tc.
IL-17	Células T CD4+ (principalmente Th17), CD8+, T- $\gamma\delta$, NKC, linfócitos intra-epiteliais e outras células.	Promove a inflamação através do aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α , G-CSF, GM-CSF e quimiocinas) pelas células epiteliais, endoteliais e fibroblasto.
IL-18	Células da linhagem dos monócitos e células dendríticas.	Citocina pertencente à família da IL-1. Promove a diferenciação de Th1. Induz a produção de IFN- γ pelas células T. Aumenta a citotoxicidade das NKC.
IL-23	Células dendríticas activadas e macrófagos.	Induz a diferenciação de Th17.
IL-33	Vénulas endoteliais e células musculares lisas.	Citocina pertencente à família da IL-1. Induz a produção de citocinas pelos Th2, mastócitos, eosinófilos e basófilos.
IFN- α	Células activadas como macrófagos, células dendríticas, linfócitos e células infectadas.	Induz a resistência às infecções víricas. Inibe a proliferação celular. Aumenta a expressão de moléculas de MHC-1 nas células nucleadas.

IFN- γ	Células activadas por componentes microbianos e virais: macrófagos, células dendríticas, linfócitos e células infectadas por vírus.	Induz resistência à infecção viral, inibe a proliferação celular e aumenta a expressão de moléculas MHC-1.
TNF- α	Monócitos, macrófagos e outros tipos de células incluindo células T activadas, NKC, neutrófilo e fibroblasto.	Forte mediador das funções imunológicas e inflamatórias. Regula o crescimento e diferenciação de várias células. Citotóxica para várias células. Promove a angiogénese, reabsorção óssea e processos trombóticos. Suprime o metabolismo lipogénico.
GM-CSF	Células T, macrófagos, fibroblastos e células endoteliais	Factor de Crescimento para células progenitoras hematopoiéticas e Factor de Diferenciação para as linhagens de granulócitos e monócitos.

Anti-inflamatórias

IL-10	Células T activadas CD4+ e CD8+, macrófagos e células dendríticas.	Promove a proliferação de células B, tímocitos e mastócitos. Em cooperação com TGF- β estimula síntese de IgA e secreção de células B. Antagonista da geração de Th1.
IL-13	Células T activadas (principalmente Th2), mastócitos e NKC.	Envolvida nas respostas de Th2. Regula a síntese de IgE e suprime as respostas inflamatórias.
TGF- β	Algumas células T (principalmente Treg), macrófagos, plaquetas e outras células variadas.	Inibe o crescimento, diferenciação e função de células como as células T, B, monócitos, macrófagos. Inibe a inflamação. Induz a mudança de classe para IgA.

Legenda: * Células estromais são células de tecido conjuntivo de um órgão; CD8+ Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 8*; G-CSF *Granulocyte Colony-Stimulating Factor*, Factor de Estimulação de Colónias e Granulócitos; GM-CSF *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*, Factor de Estimulação de Colónias, Granulócitos e Macrófagos; IFN Vários tipos de *Interferon*, Interferão; IgE Imunoglobulina E; IL Vários tipos de Interleucina; MHC-1 Tipo 1 de *Major Histocompatibility Complex*/Complexo Principal de Histocompatibilidade; NKC *Natural Killer Cell*, Células Exterminadoras Naturais; T- $\gamma\delta$ Tipo gama delta de Linfócito T; TGF- β Tipo beta de *Transforming Growth Factor*/Factor de Transformação do Crescimento; Th1 Tipo 1 de *T-helper cell*/Linfócitos T auxiliar; Th17 Tipo 17 de *T-helper cell*/Linfócitos T auxiliar; Th2 Tipo 2 de *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar; TNF *Tumor Necrosis Factor*, Factor de Necrose Tumoral.

(Cavaillon, 2001; A. H. Miller, Haroon, Raison, & Felger, 2013; Monastero & Pentyala, 2017; Owen et al., 2013; Paul, 2013).

Relativamente ao SNA, a inervação do ramo simpático encontra-se relacionada com a componente inibitória, diminuindo o trânsito gastrointestinal e a secreção através da modulação inibitória colinérgica e estimulação dos músculos lisos. Este ramo está também envolvido na modulação imunológica da mucosa e da interacção entre a microbiota e as células de defesa, através dos receptores TLR. Por outro lado, o ramo parassimpático encontra-se relacionado com a componente excitatória, através das divisões vagal e sacral, para as porções superior e inferior do corpo, respectivamente. O *input* excitatório vagal ocorre para os gânglios no SNE, mediando os reflexos motores vago-vagal e, durante a fase cefálica³¹ da digestão, mediando a secreção de ácido gástrico para as células libertadoras de histamina,

³¹ Fase preparatória de secreção antes do alimento chegar ao estômago.

mediadoras da libertação de serotonina e enteroendócrinas, contendo gastrina e somatostatina. A modulação vagal da activação dos macrófagos, através dos receptores de acetilcolina nicotínicos, tem sido identificada como parte do reflexo anti-inflamatório vago-vagal (E. a Mayer, 2011). Esta relação imunológica com o nervo vago e a histamina é, respectivamente, convergente com a Teoria Polivagal e com a implicação da histamina, que será exposta posteriormente no argumento E.

Adicionalmente a este funcionamento complexo, o SNC tem as suas próprias células pertencentes ao sistema imunológico. Existe uma presença regular de macrófagos e células dendríticas no plexo coróide e meninges, células microgliais no parênquima cerebral e leucócitos no líquido cefalorraquidiano. As alterações na auto-imunidade podem ser um resultado de alteração directa do tecido neural, uma vez que o microbioma mutualista afecta a reactividade das células periféricas imunológicas do SNC. Por outro lado, a libertação no intestino de moléculas sinalizadoras, citocinas e péptidos antimicrobianos pelo SNC, neurónios e células endócrinas e imunológicas tem um impacto na microbiota (Y. Wang & Kasper, 2014). O que importa destacar sobre o eixo intestino-encefálico, neste argumento C.1, é que na comunicação pelo sistema imunológico existe um envolvimento dinâmico de todas as células deste sistema e do SNC.



6.C.2 Argumento: existe um envolvimento imunológico na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

As respostas imunológicas intestinais mediadas pela microbiota tendem para um perfil imunológico libertador de citocinas inflamatórias com impacto neurológico coerente com a PHDA.

Apesar da ausência de evidência da relação directa entre a PHDA e o processo inflamatório periférico, como o caso da permeabilidade da mucosa intestinal, a associação com as doenças alérgicas tem sido escrutinada repetidamente. A PHDA encontra-se associada a várias condições alérgicas como conjuntivite alérgica, rinite alérgica, asma, dermatite atópica e alergia alimentar. Apesar de décadas de investigação, até hoje, a explicação para esta associação mantém-se controversa (Melamed & Heffron, 2016; Miyazaki et al., 2017).



6.C.2.1 Os vários quadros alérgicos na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção podem ter a mesma origem

A microbiota intestinal medeia os processos de inflamação sistémicos.

Dada a evidência construída até então nesta tese, e analogamente à *crise* conceptual na PHDA, poder-se-á supor que esta falta de consenso é representativa da ausência de conhecimento em variáveis fundamentais para a sua própria interpretação. Ou seja, a falta de conhecimento relativamente ao microbioma comensal e mutualista humano impossibilitou uma compreensão aprofundada do funcionamento dos sistemas corporais humanos, uma vez que microbiota humana é fundamental a esse mesmo funcionamento. Assim, pela argumentação até então realizada, o elo de ligação entre a PHDA e os vários quadros alérgicos representativos de alterações imunológicas pode ser a microbiota intestinal. Independentemente do qual o elo de ligação, a suposição de uma origem comum a todos os quadros alérgicos é coerente com suposições idênticas anteriores e que se prolongam até hoje (P. Marshall, 1989; Melamed & Heffron, 2016).

Com base na exposição do capítulo 5 e dos argumentos A ao C, levanta-se a hipótese de que os vários quadros alérgicos associados à PHDA têm como origem comum o Microbioma Humano. Suportam este argumento:

- a associação positiva bidireccional entre a PHDA e as várias doenças alérgicas;
- os quadros alérgicos envolvendo várias regiões corporais, coerentes com os principais *habitat* corporais microbianos, como as vias respiratórias, tracto gastrointestinal e pele;
- a intrínseca relação entre a microbiota e as várias regiões corporais, sendo essencial ao seu funcionamento;
- as variações no equilíbrio microbiano que são traduzidas em quadros de doença;
- e a ligação e participação da microbiota com o sistema imunológico.



6.C.2.2 A ligação microbiota-intestino-imunológica pode representar a origem comum

A microbiota medeia o centro imunológico intestinal de controlo sistémico.

A microbiota intestinal pode estar na origem da desregulação imunológica central, como pode ser sustentado pela evidência construída até então nesta tese. Caso esta hipótese seja confirmada, o quadro alérgico alimentar, pela ligação intestinal, ganha destaque relativamente às restantes regiões. A reacção corporal às substâncias estranhas ao corpo introduzidas oralmente, e que atravessam o tracto gastrointestinal, pode representar o desenvolvimento da resposta imunológica dos restantes sistemas. Este é o conceito de *tolerância oral* (do inglês, *oral tolerance*). Actualmente, este conceito é utilizado de forma variada na literatura científica.



Nesta tese, *tolerância oral* representa a sensibilidade imunológica sistémica e local, induzida por substâncias inócuas introduzidas oralmente no corpo (Pabst & Mowat, 2012).

Ou seja, a resposta imunológica na mucosa intestinal, mediada pela microbiota intestinal e desencadeada pela exposição a substâncias no tracto gastrointestinal, como os alimentos, pode influenciar a resposta imunológica local ou sistémica. Esta suposição é coerente com os argumentos relativos ao envolvimento sistémico imunológico mediado pela microbiota intestinal. Esta suposição é igualmente coerente com suposições idênticas, anteriores, que se prolongam até hoje (de Theije, Bavelaar, et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012). Por sua vez, este impacto sistémico suporta a suposição de que PHDA pode estar associada a uma desregulação imunológica central sistémica. Suportam esta suposição os seguintes factos:

- é através do tracto gastrointestinal que ocorre a entrada e processamento do combustível alimentar energético essencial ao funcionamento corporal, acrescentando a importância de ter uma forte ligação ao sistema imunológico;

- o lúmen corresponde ao exterior do corpo. Correspondendo à maior área corporal em contacto com o exterior, com 400 metros quadrados (Van Spaendonk et al., 2017), duzentas vezes superior à da pele (Brandtzaeg, 2009), acrescentando a sua importância no controlo da entrada de patogénicos;

- a densidade das comunidades bacterianas mutualistas aumenta progressivamente ao longo do tracto gastrointestinal, sendo assim o intestino a região corporal mais densa (Pabst & Mowat, 2012);

- em todos os ecossistemas corporais, o intestino é o que apresenta maior complexidade e, coincidentemente, apresenta a comunidade microbiana mais complexa;

- existe uma forte componente imunológica associada à mucosa intestinal. A mucosa intestinal contém mais de 80% das células B activadas, sendo largamente o maior órgão produtor de anticorpos (Brandtzaeg, 2009);

- a complexa comunidade microbiana intestinal apresenta uma intrínseca ligação com o sistema imunológico;

- e a microbiota intestinal tem uma participação no equilíbrio endócrino, hormonal e de neurotransmissores.

Assim, com base na argumentação até então realizada, esta tese considera a hipótese de que a desregulação imunológica central na PHDA, poderá ter a sua origem na ligação microbiota-intestino-imunológica.

Para esta suposição ser sustentável, os mecanismos de regulação imunológica à exposição alimentar deverão ser coerentes com a regulação das restantes regiões corporais e com a fisiopatologia da PHDA.



6.C.2.3 A resposta imunológica intestinal afecta as áreas neuroanatômicas alteradas na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O perfil imunológico potenciador de citocinas inflamatórias tem um impacto neuroanatômico e neurofuncional coerente com a PHDA.

A mucosa intestinal corresponde à separação entre o interior e o exterior do corpo humano. Apesar desta barreira física ser continuamente vigiada pelo sistema imunológico e da acção das enzimas gastrointestinais que degradam os alimentos, o corpo desenvolve uma reacção de tolerância aos antigénicos inofensivos alimentares (Johnston, Chien, & Bryce, 2014).

A tolerância oral é um mecanismo de regulação e com impacto sistémico

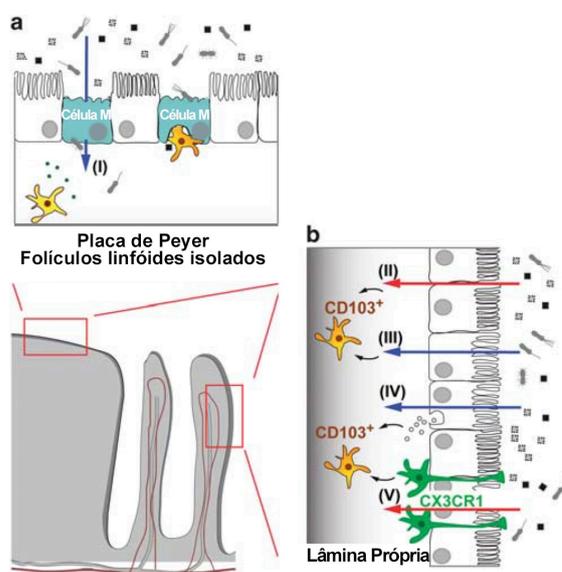
Na mucosa encontra-se a microbiota intestinal mediando o processo fundamental de iniciar uma resposta imunológica contra antigénicos alimentares nocivos ou manter a tolerância ao material alimentar inofensivo. Ou seja, a tolerância oral é a consequência da complexa interacção imunológica de forma a proteger as barreiras mucosas, finas e vulneráveis, colonizadas por uma densa comunidade microbiana mutualista. De facto, as reacções imunológicas contra a microbiota resultam em doença inflamatória intestinal, como a Doença de Crohn e Colite Ulcerosa (de Theije, Bavelaar, et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012).

Existem vários mecanismos de captação dos antigénicos (Figura 6-2) dependendo do local em que ocorram. A mucosa intestinal pode ser dividida em duas regiões: 1) indutiva, onde os antigénicos captados activam as células T e B desactivadas. Fazem parte desta região, o tecido linfático associado ao intestino, Placa de Peyer, folículos linfóides e nódulos linfáticos mesentéricos de drenagem; e 2) efectora, onde as células efectoras diferenciadas exercem a sua função. Fazem parte desta região a Lâmina Própria e o epitélio. A Lâmina Própria também contribui para a indução da tolerância, como um local de captação de antigénicos e recolha de células dendríticas que irão encontrar células T desactivadas nos nódulos linfáticos (Brandtzaeg, Kiyono, Pabst, & Russell, 2008; Pabst & Mowat, 2012).

Esta organização das várias regiões intestinais é essencial para a vigilância imunológica dos patogénicos, do reconhecimento microbiano e dos produtos metabólicos associados à digestão enzimática e à actividade microbiana. Apesar do baixo pH no estômago e da presença de enzimas capazes de degradarem os nutrientes na porção superior do tracto gastrointestinal, alguns componentes resistentes entram no lúmen intestinal. O material de baixo peso molecular pode passar directamente, por difusão, pelos poros nas junções entre as células epiteliais intestinais, os enterócitos, enquanto os complexos moleculares maiores necessitam de atravessá-los (Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012). É nesta fase que a comunidade microbiana intestinal e a permeabilidade da mucosa intestinal ditam, ou não, quais as



substâncias que passam para o interior do corpo. A alteração da permeabilidade no equilíbrio microbiano e intestinal altera este controlo de entrada dos materiais alimentares, dos produtos da digestão, dos elementos da comunidade microbiana intestinal e dos metabolitos associados. Por sua vez, estas alterações podem desencadear processos inflamatórios locais e sistémicos, com impacto no SNC, acções estas, repetidamente associadas às perturbações do foro mental, como já referido.



a) As células M, no epitélio, medeiam o transporte transcelular de partículas e da microbiota intestinal. A passagem dos antigénicos ocorre para as células dendríticas que povoam a parte interior do epitélio ou que se encontram numa bolsa da célula M (I).

b) As células dendríticas podem também captar os antigénicos que atravessam a junção celular: por difusão (II); que foram transferidas pelas células epiteliais por vias transcelulares (III); que foram libertadas por exossomas* contendo antigénicos derivados de enterócitos que exibem MHC-2 (IV); recebendo os antigénicos captados por macrófagos directamente do lúmen (V); ou, directamente do lúmen (não demonstrado) à semelhança dos macrófagos.

Figura 6-2 Mecanismos de captação de antígenos no tecido linfático associado ao intestino e Lâmina Própria

Legenda: * Exossomas são um tipo de vesículas extracelulares, capazes de atravessar as células com conteúdo molecular (RNA e proteínas). São secretadas por exocitose quando as vesículas se fusionam com a membrana plasmática. São secretados por mastócitos, células dendríticas, células epiteliais intestinais (também denominadas enterócitos) e linfócitos B e T; CD103+ Células que exibem a Cadeia de integrina alfa E; CX3CR1 Receptor de quimiocina C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1; MHC-2 Tipo 2 de Major Histocompatibility Complex/Complexo Principal de Histocompatibilidade.

(Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012; Paul, 2013). Figura traduzida e adaptada (Pabst & Mowat, 2012).

Nesta interacção com a comunidade microbiana estão associadas várias células:

- células mielóides, células que na hematopoiese resultam principalmente em leucócitos de resposta inata e que apresentam o receptor da quimiocina C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1 (CX3CR1). Estas células podem mapear o lúmen intestinal através da barreira epitelial sem alterar a sua integridade e as junções. O facto de interagirem directamente com as bactérias do lúmen significa que podem desempenhar o papel de tolerância às bactérias;
- as células M, pelo seu papel de mediador da entrada das várias moléculas, substâncias e microbiota;
- e as células dendríticas, pela sua capacidade de ligação directa e indirecta ao conteúdo do lúmen (Pabst & Mowat, 2012).

Após esta passagem pelo processo de vigilância do intestino, os antigénicos alimentares são disseminados pelas circulações linfática e sanguínea. A veia porta hepática drena todo o sangue que passa pelo intestino directamente para o fígado, que apresenta várias Células

Apresentadoras de Antígeno (APC, do inglês, *Antigen-Presenting Cell*) que contribuem para a indução da tolerância. As células endoteliais do fígado fazem a amostragem dos antígenos em circulação e podem actuar como células APC, estando principalmente envolvidas na indução da tolerância em vez da imunidade activa. Por outro lado, o transporte dos antígenos da Lâmina Própria para os nódulos linfáticos do mesentério, por células dendríticas que expressam a cadeia de integrina alfa E (CD103), poderá ser o evento associado às consequências sistémicas da tolerância oral (Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012). A maior importância do mesentério só foi recentemente reconhecida, sendo mesmo proposta a sua designação como órgão. Relativamente ao sistema imunológico, terá o papel de amostragem do ambiente intestinal, mediando as respostas locais e sistémicas através da regulação da migração das células B, T, células exterminadoras naturais (NKC, do inglês, *Natural Killer Cell*) e dendríticas (Coffey & O'Leary, 2016).

As células dendríticas que apresentam a cadeia CD103 (ou que são *positivas* na presença da cadeia CD103) (CD103+) e as células estromais³² promovem que as células T expressem o Factor de Transcrição *forkhead box P3* (Foxp3) e se tornem Linfócitos T regulatórios (Treg) *positivos* na presença de Foxp3 (Foxp3+). Estas últimas, deixam os nódulos linfáticos do mesentério e dirigem-se para o intestino delgado, onde sofrem uma segunda expansão sustentada pelas células mielóides com CX3CR1 e produtoras de IL do tipo 10 (IL-10) (anti-inflamatória) e pelos antígenos intestinais. Estes antígenos intestinais permitem assim a manutenção de Treg que, juntamente com alguns macrófagos, produzem Factor de Transformação do Crescimento (TGF, do inglês, *Transforming Growth Factor*) do tipo TGF beta (TGF- β) (anti-inflamatória) e contribuem para a produção da resposta não-inflamatória de IgA contra os próprios antígenos intestinais. Este será um dos mecanismos que permite a relação simbiótica com a microbiota (Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012).

Outros componentes surgem associados ao funcionamento das células dendríticas CD103+ (Figura 6-3). Estas activam células T desactivadas e promovem um fenótipo de Treg Foxp3+, um processo requerendo TGF- β e ácido retinóico. O ácido retinóico atribui Receptores de Quimiocina 9 (CCR9) e de integrina $\alpha 4\beta 7$ nas células Treg e B secretoras de IgA. Adicionalmente, as células CD103+ utilizam indolamina 2,3 dioxigenase (IDO), sendo que uma perda da sua função leva a um fenótipo associado a linfócitos Th do tipo 1 (Th1) e 17 (Th17), limitando as Treg.

A mucina secretada pelas células calciformes do epitélio intestinal apoiam este funcionamento anti-inflamatório. Este parece ser o mecanismo através do qual é mantida a tolerância oral (Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012).

³² Células de tecido conjuntivo de um órgão.

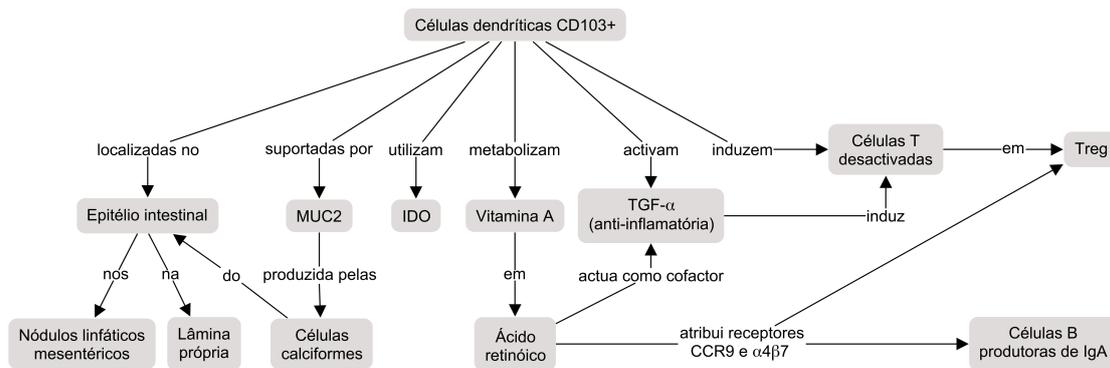


Figura 6-3 Contributo das células dendríticas CD103+ na tolerância oral

Legenda: $\alpha 4\beta 7$ Integrina alfa 4 beta 7; CCR9 *Chemokine Receptor 9*, Receptor de Quimiocina 9; CD103+ Células que exibem a Cadeia de integrina alfa E; IDO Indolamina 2,3 dioxigenase; IgA Imunoglobulina A; MUC2 Tipo 2 de Mucina; TGF- α Tipo alfa de *Transforming Growth Factor*/Factor de Transformação do Crescimento; Treg Linfócitos T regulatórios.

Figura original ("CmapTools," 2017; Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012).

Ou seja, de uma forma geral, a tolerância oral é caracterizada por condições de supressão imunológica nas quais as células dendríticas e as células T assumem um importante papel. No cenário de tolerância aos antígenos alimentares, ocorre uma redução das respostas de hipersensibilidade, da proliferação das células T e da produção de citocinas. As células Treg produzem TGF- β (anti-inflamatória) e, conjuntamente com alguns macrófagos, IL-10 (anti-inflamatória) de forma a suprimir a resposta imunológica (de Theije, Bavelaar, et al., 2014; Johnston et al., 2014; Paul, 2013). Igualmente, as respostas por anticorpos também devem estar suprimidas, em especial a Imunoglobulina E (IgE) e Imunoglobulina G tipo 2a (IgG2a) (produzida pelos Th1) (Pabst & Mowat, 2012).

A libertação de citocinas inflamatórias alteram o funcionamento dos neurotransmissores e das áreas neuroanatômicas

Apesar de vários caminhos complexos caracterizarem a reacção imunológica alimentar, de uma forma geral, ocorre uma expressiva mudança para um perfil imunológico catalisador de citocinas com um aumento de linfócitos Th do tipo 2 (Th2) e uma redução dos Treg (de Theije, Bavelaar, et al., 2014; Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012).

A maioria destas reacções é mediada por IgE. Os antígenos específicos de IgE são secretados pelos plasmócitos (ou células B efectoras) após a apresentação do antígeno pelas células Th2 ou a estimulação pelas citocinas associadas aos Th2, como interleucinas do tipo 4 (IL-4), 5 (IL-5) e 13 (IL-13). A IgE liga-se aos mastócitos e basófilos e, após a exposição alimentar, é conjuntamente ligada com o antígeno. Esta ligação leva à degranulação dos mastócitos o que provoca a secreção de mediadores inflamatórios como as citocinas, histamina, leucotrienos e prostaglandina (de Theije, Bavelaar, et al., 2014).

Os mastócitos assumem também um papel importante nesta mediação, uma vez que vários neuropéptidos podem levar à sua activação, incluindo a substância P, Factor de Crescimento Nervoso (NGF, do inglês, *Nerve Growth Factor*), Péptido vasoativo intestinal e neurotensina. Após a sua activação podem produzir várias substâncias activadoras dos neurónios entéricos como a triptase, histamina, serotonina, NGF e TNF- α (de Theije, Bavelaar, et al., 2014).

Este perfil imunológico marcado por um aumento de citocinas pró-inflamatórias incita a própria resposta imunológica. No entanto, como já referido anteriormente, as respostas imunológicas apresentam uma implicação no SNC. Existem três vias principais que permitem que uma inflamação periférica possa atingir o SNC:

- via humoral, que consiste na passagem das citocinas nas regiões permeáveis da barreira hemato-encefálica. Estas, incluem os órgãos circunventriculares, que são estruturas mediais em torno do terceiro e quarto ventrículo cerebral caracterizados por não terem barreira hemato-encefálica. Adicionalmente, ocorre o transporte activo de citocinas em circulação no parênquima cerebral através dos seus transportadores específicos (Kaur & Ling, 2017; A. H. Miller et al., 2013; Miyata, 2015);

- via neural, que envolve a activação dos receptores de citocinas nas fibras dos nervos aferentes, com posterior transdução do seu sinal para o encéfalo (A. H. Miller et al., 2013);

- e a via celular, em que as quimiocinas enviadas para o SNC activam as células imunológicas do SNC, a micróglia, que também libertam quimiocinas, o que atrai as células periféricas para as meninges e parênquima (A. H. Miller et al., 2013).

Para além de na comunicação do eixo intestino-encefálico estarem envolvidos vários neurotransmissores, o impacto específico das citocinas também se estende aos principais sistemas conhecidos como o de serotonina, adrenalina, noradrenalina, dopamina e glutamato. As citocinas provocam alterações síntese, recaptação e libertação dos neurotransmissores (Tabela 6-4). Relevante para esta argumentação é o impacto das citocinas, como componente da resposta imunológica, nos neurotransmissores centrais na etiologia da PHDA.

Dadas as várias formas que as citocinas atingem o SNC, a investigação das regiões neuroanatómicas afectadas pela activação imunológica tem ocorrido pela observação das alterações neuropsicológicas após a administração de citocinas ou através de indutores de citocinas juntamente com PET e fMRI. Os resultados apontam para que várias regiões do SNC sofram as principais alterações de funcionamento: núcleos da base, com aumento do metabolismo de glucose no globo pálido e estriado, putâmen e caudado e aumento da recaptação e do ciclo celular no estriado; substância negra, com hiperactivação; córtex cingulado dorsal anterior e subgenual com hiperactivação; amígdala; hipocampo; ínsula; e córtex pré-frontal (Juengling et al., 2000; A. H. Miller et al., 2013).

Tabela 6-4 Mecanismos de acção das citocinas inflamatórias que alteram o funcionamento dos sistemas de neurotransmissores

Mecanismos de acção na alteração do funcionamento dos neurotransmissores	
Síntese	<p>Através das suas vias de comunicação, activam a enzima IDO que converte triptofano (o principal aminoácido da serotonina) em quinurenina, levando a uma redução da disponibilidade de serotonina. Esta activação de IDO pode alterar o equilíbrio do funcionamento anti-inflamatório das células dendríticas CD103+, induzindo o fenótipo de aumento de Th e diminuição de Treg (Figura 6-3). A quinurenina, por sua vez, pode ser convertida em ácido quinurénico nos astrócitos e ácido quinolínico na micróglia (associado também ao processo de libertação, em baixo).</p> <p>As citocinas levam à alteração de funcionamento do tetraidrobiopterina (BH4), um co-factor das enzimas triptofano hidroxilase e tirosina hidroxilase que funcionam como enzimas limitadoras da síntese de serotonina, dopamina e noradrenalina. A BH4 é também requerida para a actividade de fenilalanina hidroxilase que converte fenilalanina em tirosina (precursor de dopamina, adrenalina e noradrenalina). Apesar das citocinas inflamatórias induzirem Guanosina Trifosfato Ciclohídroclase I (GTPCH, do inglês, <i>Guanosine Triphosphate Cyclohydrolase I</i>), uma enzima responsável pela síntese de BH4, alteram a BH4 por dois mecanismos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - a BH4 é uma enzima co-factor para a conversão de arginina em óxido nítrico pela enzima Óxido Nítrico Sintase (NOS, do inglês, <i>óxido nítrico sintase</i>). As citocinas inflamatórias estimulam a enzima NOS para produzir óxido nítrico levando ao aumento da utilização de BH4 (convertido para BH2 durante a reacção); - e as citocinas inflamatórias contribuem para o <i>stress</i> oxidativo levando à degradação de BH4.
Recaptação	<p>A influência na recaptação ocorre através da activação de vias sinalizadoras, incluindo Proteína-Quinases Activadas por Mitogénicos (MAPK, do inglês, <i>Mitogen Activated Protein Kinases</i>), como a MAPK p38, que levam ao aumento da expressão e função dos transportadores de recaptação para a serotonina, noradrenalina e dopamina. Poderá também estar envolvido na redução da concentração de ácido 5-Hidroindolacético (5-HIAA), o principal metabolito de serotonina, e no aumento do recaptador de dopamina.</p>
Libertação	<p>A influência na libertação de neurotransmissores pode estar associada ao IFN-α, que se traduz num aumento da recaptação e diminuição do principal precursor de dopamina (também relacionado com a produção de ácido quinurénico como consequência da activação de IDO, descrito em cima).</p> <p>As citocinas inflamatórias estão também associadas à libertação de glutamato e à redução da expressão dos transportadores de glutamato nos astrócitos, levando ao aumento da excitotoxicidade do glutamato. A libertação de glutamato pelos astrócitos tem mais probabilidade de aceder aos receptores extra-sinápticos de NMDA, que por sua vez levam à diminuição de BDNF, importante na neurogénese. A activação de IDO leva à produção de ácido quinolínico que estimula directamente os receptores NMDA, elevando o excesso da sinalização glutamatérgica.</p> <p>A resposta no GABA e serotonina à exposição de citocinas inflamatórias parece estar associada a uma diminuição da sua libertação, o que promove adicionalmente a resposta inflamatória. Citocinas, como a IL-1, aumentam a expressão e actividade neuronal da acetilcolinesterase e a inibição da libertação de acetilcolina nos neurónios do hipocampo.</p>

Legenda: 5-HIAA Ácido 5-Hidroindolacético; BDNF *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, Factor Neurotrófico Derivado do Cérebro; BH4 Tetraidrobiopterina; CD103+ Células que exibem a Cadeia de integrina alfa E; GABA *Gamma-Aminobutyric Acid*, Ácido Gama-Aminobutírico; GTPCH *Guanosine Triphosphate Cyclohydrolase I*, Guanosina Trifosfato Ciclohídroclase I; IDO Indolamina 2,3 dioxigenase; IFN- α Tipo alfa de *Interferon/Interferão*, IL-1 Tipo 1 de Interleucina; MAPK *Mitogen Activated Protein Kinases*, Proteína-Quinases Activadas por Mitogénicos; NMDA N-metil-D-aspartato; NOS *Nitric Oxide Synthase*, Óxido Nítrico Sintase; Th *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar; Treg Linfócitos T regulatórios.

(A. H. Miller et al., 2013).

Relevante para esta conceptualização é o facto destes resultados serem coerentes com as principais regiões alteradas na PHDA, identificadas no capítulo 4. Ou seja, o impacto das citocinas nestas regiões neuroanatómicas e nos neurotransmissores representa mais um mecanismo através do qual uma resposta imunológica pode atingir o SNC, coerentemente com a etiologia neuroanatómica da PHDA.

O microbioma intestinal medeia a resposta imunológica à exposição alimentar

No intestino, a mediação à exposição alimentar é realizada pela microbiota intestinal, sendo que os produtos metabólicos resultantes desta exposição e da actividade e interacção microbiana têm uma ligação directa com o sistema imunológico. A constituição da microbiota influencia os mecanismos de tolerância, sendo que as respostas imunológicas activas direccionadas à microbiota resultam em doenças inflamatórias (Pabst & Mowat, 2012) e auto-imunes (Schirmer et al., 2016). A disbiose intestinal está associada à sensibilidade alérgica, uma vez que algumas bactérias e os seus produtos poderão exercer uma actividade de suporte para as populações de Treg (e provavelmente células dendríticas CD103+). Por exemplo: algumas células Treg só ficam activadas após a entrada de antigénicos resultantes da actividade da microbiota; as propriedades de células dendríticas CD103+ intestinais não se assemelham a outras células idênticas noutros órgãos corporais; e uma das fontes de ácido retinóico provém das células epiteliais, após a metabolização dos retinóides da dieta ou da biliar (Johnston et al., 2014; Pabst & Mowat, 2012). Os AGCC são um dos exemplos clássicos de como as moléculas derivadas das bactérias contribuem para a homeostasia intestinal, uma vez que servem como energia para as células epiteliais, modulam a produção de citocinas e induzem a expansão de Treg.

A tentativa de relacionar a constituição microbiana intestinal com as citocinas activas foi realizada em 2016 (Schirmer et al., 2016). Os resultados apontaram para uma relação com a variação interindividual das citocinas dos microorganismos específicos. A maioria das associações detectadas surgem associadas às citocinas e aos estímulos indutores, o que corrobora que o sistema imunológico reconhece e interage com a microbiota com elevada especificidade, resultando num fenótipo imunológico. Este controlo será principalmente mediado pela microbiota através da libertação de mediadores intermediários, como os metabolitos, em vez da interacção específica entre os microorganismos e as células imunológicas (Schirmer et al., 2016).

Ou seja, estes resultados corroboram a exposição realizada anteriormente, relativamente à importância e ao mecanismo através dos quais a microbiota intestinal tem um impacto no sistema imunológico, de repercussões locais e sistémicas. O cruzamento da evidência sobre o perfil da constituição da microbiota intestinal e a libertação de citocinas é, no entanto, actualmente impossível de realizar com a PHDA pois o único estudo que reporta diferenças de constituição da microbiota em indivíduos com PHDA apenas permite um raciocínio



especulativo (Aarts et al., 2017). Assim, com base nos argumentos até então apresentados, esta tese considera a hipótese de que a constituição da microbiota intestinal molda o funcionamento imunológico, tendo um impacto local e sistémico, o que afecta o funcionamento das áreas neuroanatómicas e dos neurotransmissores associados à PHDA.

Conclusões-chave do Argumento C

Esta tese considera a hipótese de que a desregulação imunológica central na PHDA poderá ter a sua origem na ligação microbiota-intestino-imunológica;

Na comunicação entre o eixo intestino-encefálico e o sistema imunológico existe um envolvimento dinâmico de todas as suas células, incluindo no SNC;

A relação imunológica com o nervo vago e a histamina é coerente com a Teoria Polivagal, exposta no argumento A.1, e indica a possível implicação da histamina, que será posteriormente exposta no argumento E;

A conjugação do argumento A (sobre a comunicação do eixo intestino-encefálico pelas áreas neuroanatómicas e neurotransmissores etiologicamente ligados à PHDA) com o argumento C.1 (sobre o envolvimento imunológico) representa coerência com a principal hipótese do capítulo 4 sobre uma afectação sistémica do SNC na PHDA;

A resposta imunológica na mucosa intestinal, mediada pela microbiota intestinal e desencadeada pela exposição a substâncias no tracto gastrointestinal, como os alimentos, pode influenciar a resposta imunológica local ou sistémica. Esta suposição é coerente com os argumentos relativos ao envolvimento sistémico imunológico mediado pela microbiota intestinal;

Os mecanismos de tolerância oral são permitidos pelas células dendríticas CD103+ e estromais, que promovem que as células T se tornem Foxp3+ Treg, produtores de citocinas anti-inflamatórias;

As citocinas têm impacto no funcionamento de neurotransmissores centrais na etiologia da PHDA, assim como, alteram o funcionamento de regiões neuroanatómicas coerentes com as regiões alteradas na PHDA e identificadas no capítulo 4;

As citocinas, como componente da resposta imunológica, representam mais um mecanismo através do qual uma resposta imunológica pode atingir o SNC.

Questões-chave que surgem após o argumento C e que serão continuamente exploradas:

Qual a origem da desregulação imunológica central?

Possivelmente a microbiota intestinal (exposto no argumento C.2);

O que dita o local da afectação alérgica?

Possivelmente a forma como ocorre a conjugação dos factores ambientais inflamatórios e disbióticos (dos argumentos G ao K);

Pode ser causal a associação entre a PHDA e a desregulação imunológica central?

Esta tese conceptualiza que sim (dos argumentos A ao K);

A PHDA leva a alterações imunológicas ou as alterações imunológicas levam à PHDA?

Esta tese conceptualiza que são os factores ambientais inflamatórios e disbióticos que provocam a PHDA (dos argumentos A ao K);

Como podem ser explicados os casos de PHDA sem comorbidade aos quadros alérgicos?

Possivelmente a susceptibilidade genética dopaminérgica, abordada especificamente no seguinte argumento D.



6.D Argumento: a dopamina é um neuro-imuno-transmissor

A dopamina está vinculada simultaneamente ao funcionamento neurológico e imunológico.

A dopamina é o principal sistema de neurotransmissores etiologicamente ligado à PHDA (ver subcapítulo 2.3). Adicionalmente, é um dos principais neurotransmissores do SNC, tradicionalmente associado à cognição, comportamento, controlo de movimento, funcionamento cardiovascular e regulação endócrina. É uma monoamina, classificada como catecolamina, em conjunto com a adrenalina e noradrenalina, sendo precursora da noradrenalina. Apresenta duas famílias de receptores: receptores similares ao DRD1, constituída por DRD1 e DRD5, e receptores similares ao DRD2, constituída por DRD2, DRD3 e DRD4. A existência dos receptores do tipo 6 (DRD6) e 7 (DRD7) não é ainda conclusiva. Estes receptores desempenham um papel importante no SNC e nos vários órgãos periféricos como o coração, rins, tracto gastrointestinal, músculos lisos dos vasos capilares dos principais órgãos e em todos os órgãos linfóides do sistema imunológico (Levite, 2016).

A maioria das células imunológicas, se não todas, apresentam RNA mensageiro (mRNA), responsável pela comunicação da informação genética, para os cinco receptores de dopamina e expressam proteínas de DRD1 a DRD5 nas suas paredes celulares, funcionando como receptores de dopamina e outros transmissores análogos. Os receptores de dopamina estão expressos nas células T, B e dendríticas, NKC, macrófagos, micróglia, monócitos, neutrófilos e eosinófilos (Levite, 2016).

As células T, mesmo desactivadas, apresentam receptores de dopamina suficientes para que esta possa mediar alterações nas suas funções. A presença de receptores é transversal aos Treg e aos linfócitos T citotóxicos (Tc, do inglês, *Cytotoxic T cell*). A diferença entre estas células reside no facto de que os receptores dos Treg, quando activados por dopamina ou outro agonista, provocam a supressão da sua capacidade de inibir os efectores Th e Tc. Este será o mecanismo através do qual a dopamina induz a produção de citocinas (Levite, 2016).

Podem ocorrer diferentes tipos de resposta das células T à dopamina, podendo mesmo ser contraditórias, segundo vários factores:

- segundo o nível de concentração de dopamina, em que uma baixa concentração induz uma resposta ideal, uma concentração média reduz o efeito da resposta e uma concentração alta não provoca alterações, sendo mesmo tóxica;

- segundo o nível prévio de activação das células T, em que estando activadas inibe a sua função, estando desactivadas induz a activação ou potencia as suas funções, mas se forem especificamente activadas por antigénicos, citocinas, anticorpos ou outras células T também inibe a sua função;

- segundo o tipo de células T, em que ocorrem diferentes respostas consoante sejam células maduras Treg, Tc, que exibem o receptor molecular CD4 (do inglês, *cluster of differentiation*) (CD4+) ou que exibem o receptor CD8 (CD8+), entre outras;

- e segundo o receptor específico de dopamina, em que, por exemplo, células T desactivadas com DRD3 induzem TNF- α (inflamatória), mas com DRD2 induzem IL-10 (anti-inflamatória) (Levite, 2016).

Estes factores significam que a dopamina, tendencialmente, activa células T desactivadas, induzindo várias das suas funções como:

- a adesão à matriz extracelular como, por exemplo, o caso das células Tc CD8+ que aderem às células do endotélio;

- a migração quimiotática³³, como por exemplo o caso das células Tc CD8+;

- a migração ao órgão de origem (do inglês, *homing*), como por exemplo o caso das células T desactivadas;

- a secreção de citocinas, como por exemplo os casos de DRD2 e IL-10, DRD3 e TNF- α ou ambas por DRD1 a DRD5;

- a proliferação de células T;

- e a protecção dos linfócitos do *stress* oxidativo e apoptose (Levite, 2016).

Por outro lado, a dopamina também apresenta um papel inibidor em células T activadas. Isto resulta numa regulação inibidora da sua proliferação e secreção de várias citocinas inflamatórias IL-2, IL-6, IL-4 e IFN gama (IFN- γ). Adicionalmente, apresenta um papel de inibição nos Treg, o que significa que tem um papel de *inibição dos inibidores*. O resultado é a supressão de Treg e a activação das células T efectoras, Th e Tc. A simultânea relação com as células dendríticas aumenta a sua importância no funcionamento do sistema imunológico (Figura 6-4). Por estes factores, a dopamina surge associada ao funcionamento equilibrado do sistema imunológico (Levite, 2016).

Nesta relação, a dopamina é libertada pelas células dendríticas e funciona como a interface entre estas células e as células T desactivadas, sendo um factor polarizador de Th2. Por exemplo, o bloqueio de DRD1 inibe a produção de Th17 e o bloqueio de DRD2 aumenta a produção de IL-17 (inflamatória). Os antagonistas de DRD2 alteram a secreção de citocinas e a expressão dos receptores de quimiocinas, o que resulta na mudança para uma resposta de Th1. Vários agonistas e antagonistas dopaminérgicos podem também induzir a sinalização

³³ A atracção das células ao local do gradiente.

nas células T, podendo ser a justificação do potente efeito da dopamina no sistema imunológico e do efeito de múltiplas intervenções farmacológicas (Levite, 2016).

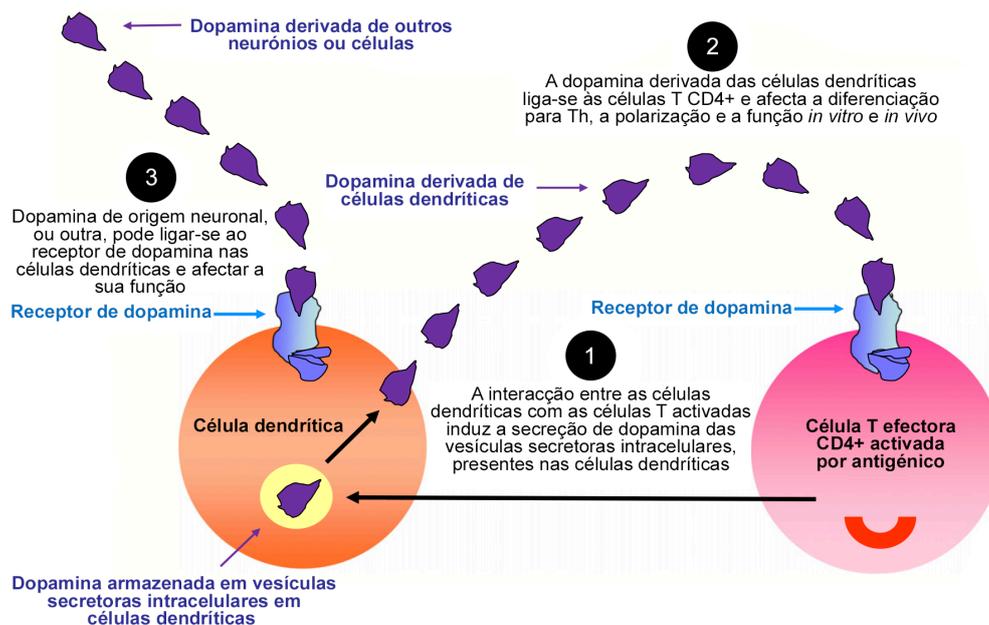


Figura 6-4 A importância da dopamina nas células T e dendríticas

A expressão dos receptores de dopamina em todos os tipos e subtipos de células T é altamente dinâmica e sensível a factores contextuais, em especial, ao estado de activação das células T por outros antigénicos, mitogénicos, anticorpos, citocinas ou outras moléculas activadoras. Desta forma, as células T, activadas ou em repouso, expressam diferentes níveis de receptores de dopamina. A observação de que a activação das células T, através dos seus receptores para antigénicos, provoca alterações nos níveis de mRNA dos receptores dopaminérgicos e na expressão do número de receptores nas suas paredes celulares, demonstra que ocorre uma comunicação entre as células T através dos seus diferentes receptores (como os receptores para antigénicos e os receptores DRD1 a DRD5). Da mesma forma, alguns receptores de citocinas e receptores dopaminérgicos parecem comunicar entre si.

Legenda: CD4+ Células que exibem o receptor molecular *Cluster of Differentiation 4*; DRD1 *Dopamine Receptor D1*, Receptor de Dopamina D1; DRD5 *Dopamine Receptor D5*, Receptor de Dopamina D5; mRNA *Messenger Ribonucleic Acid*, Ácido Ribonucleico Mensageiro; Th *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar.

Figura traduzida e adaptada (Levite, 2016).

Ou seja, as células T necessitam de dopamina, produzem dopamina e podem libertar e recaptar dopamina. Isto suporta a consideração de que o reconhecido *neurotransmissor* dopamina é, efectivamente, um *neuro-imuno-transmissor* (Levite, 2016). Por sua vez, dadas as extensas ligações etiológicas da dopamina (ver subcapítulo 2.3.4 e Figura 2-4), então pode ser considerada a hipótese de que os efeitos provocados nas células T, mediados pela expressão dos receptores dopaminérgicos, podem justificar várias alterações do funcionamento mental e, em última instância, as perturbações mentais.

Vários argumentos podem suportar esta hipótese. A falta de receptores específicos da dopamina nas células T e dendríticas melhora alguns sintomas neurológicos das doenças autoimunes mediadas pelas células T, como o caso de Doença de Parkinson e Esclerose Múltipla. Assim, esta relação entre a dopamina e o sistema imunológico está enquadrada com várias perturbações auto-imunes que, coerentemente, apresentam níveis e composição

anormais de receptores dopaminérgicos, assim como uma resposta anormal à dopamina. Igualmente, as várias perturbações referidas ao longo desta conceptualização, como a Doença de Parkinson, Perturbação do Espectro da Esquizofrenia, Doença de Alzheimer, Perturbação Depressiva e da Ansiedade, em conjunto com a PHDA também apresentam esta coerência nos níveis e rácios anormais de subpopulações de células T, nos níveis anormais de receptores e respostas à dopamina e à medicação dopaminérgica (Levite, 2016).

Por estas razões, na restante conceptualização desta tese, este conjunto de doenças foi denominado de *doenças dopaminérgicas*. Não foi pretendido reduzir as etiologias multifactoriais de cada doença a apenas uma associação à dopamina, mas antes simplificar a argumentação seguinte. Coincidentemente, foi nestas *doenças dopaminérgicas* mentais que surgiu a primeira evidência de que o eixo intestino-encefálico poderia estar presente na sua etiologia. Com base nos argumentos A e C, esta tese supõe que esta coincidência não é casual, mas devida à grande ligação da microbiota intestinal com o sistema imunológico. Assim, com base neste argumento D, esta tese considera a hipótese de que a dopamina é um dos elos de ligação entre as *doenças dopaminérgicas* mentais e a desregulação imunológica sistémica, mediada pela microbiota intestinal através do eixo intestino-encefálico.

Actualmente, a implicação total desta evidência é impossível de ser traçada. O conjunto dos sistemas dopaminérgico, adrenérgico, serotoninérgico, colinérgico e GABA representa os mais estudados e compreendidos. No entanto, este conhecimento é ainda incompleto pois representa um total de cinco sistemas num total superior a cem neurotransmissores e hormonas (ver capítulo 2.3.1.1 e Tabela 2-3). Nestes 5%, o sistema dopaminérgico é o que apresenta evidência mais robusta da sua relação com a PHDA, no entanto, também com outras Perturbações Mentais e, como agora exposto, com uma complexidade mais elevada do que a *tradicionalmente* descrita. O que parece ser claro, é a relação intrínseca de um dos principais neurotransmissores das Perturbações Mentais com o sistema imunológico. Apesar da extensão desta implicação ainda ser inconcebível, este facto, por si só, poderá ser precursor de uma mudança de paradigma relativamente às Perturbações Mentais, tão intimamente ligadas na sua etiologia ao neurotransmissor de dopamina e ao sistema imunológico (Levite, 2016).

Apesar da coerência deste argumento D, as suposições dos parágrafos anteriores devem ser consideradas de forma conservadora. Cada sistema de neurotransmissores tem um conjunto de mecanismos com um elevado nível de complexidade, desde a interacção entre agonistas, antagonistas, inibidores de recaptção, inibidores das enzimas sintetizadoras e inibidores de catabolismo. Adicionalmente, existe a possibilidade, provavelmente ainda mais complexa, da interacção entre os vários sistemas.

Assim, para esta conceptualização, o que importa reter do trabalho de Levite (2016) é que uma grande parte das células imunológicas tem representação de receptores dopaminérgicos (a autora também considera a possibilidade de serem todas as células). As células T necessitam

de catecolaminas para a sua sobrevivência e função. Cada receptor apresenta a sua relação com diferentes propriedades das células T, com possível sobreposição entre estas funções. A dopamina tem uma expressão dinâmica e de impacto sensível ao contexto e ao momento, sendo que o impacto nas células T abrange a activação dos efectores desactivados e a supressão dos activados e Treg. As células Treg produzem e secretam dopamina de efeito autócrino pelo DRD1. A dopamina desactiva as células T, quando activadas por antigénicos e citocinas, e previne a activação por estas moléculas, se presente no momento da exposição. O seu papel importante na comunicação entre as células dendríticas e imunológicas, juntamente com o seu efeito polarizador das células Th para Th1, Th2 e Th17, implica um impacto em todo o sistema imunológico adaptativo. Dentro da complexidade envolvida, a autora considera que a dopamina é usada pelo sistema imunológico para ligar e desligar os vários tipos de respostas e comunicações das células T com as restantes células e sistemas corporais, em especial o SNC (Levite, 2016). Relativamente à PHDA, este envolvimento dopaminérgico imunológico é coerente com o perfil imunológico traçado anteriormente e com as alterações neuroanatômicas descritas.



6.D.1 Argumento: a dopamina suporta o impacto dos factores ambientais inflamatórios na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Seguindo várias suposições, os factores ambientais inflamatórios e disbióticos podem representar mecanismos etiologicamente convergentes com a PHDA.

Tendo em conta a importância do sistema imunológico e da dopamina relativamente à PHDA, neste argumento foi procurado construir coerência adicional numa base especulativa e lógica. Será genericamente considerado que a PHDA apresenta uma menor expressão de dopamina, seja por menor concentração de dopamina, maior recaptção ou menor densidade de receptores (consideração genérica com base nas várias hipóteses consideradas no subcapítulo 2.3.1 e efeito das intervenções farmacológicas no subcapítulo 2.5.1). A especulação sobre o efeito da dopamina nas células imunológicas, para além das células T e dendríticas, não será considerada nesta argumentação. Apesar da expressão dos receptores de dopamina na maioria, ou na totalidade, das células imunológicas, foi considerado que apenas as células T e dendríticas apresentam alguma evidência inicial do seu funcionamento com a dopamina, sendo esta coerência subsequentemente explorada.

As células T estão envolvidas na produção, libertação e recaptção de catecolaminas, incluindo dopamina. Várias células T produzem catecolaminas (dopamina incluída), sendo que os Treg produzem uma maior concentração comparativamente às células efectoras. Esta produção é, no entanto, altamente dinâmica e influenciada pelos factores envolvidos e mencionados anteriormente. Este facto, pode permitir a especulação de que uma resposta inflamatória intestinal, caracterizada por uma expressiva mudança para um perfil imunológico catalisador de citocinas, com um aumento de Th2 e uma redução dos Treg, pode levar à redução de dopamina disponível.

No entanto, a libertação de dopamina pelas células T somente ocorre se estas forem activadas, o que não é coerente com a especulação anterior. Porém, de acordo com a Figura 6-4, a activação das células T CD4+ (principalmente Th) provoca a captação de dopamina proveniente das células dendríticas, cuja função é alterada por dopamina de outros locais, incluindo o neuronal. Assim, esta utilização de dopamina por parte das células dendríticas pode permitir a especulação de uma depleção da dopamina disponível, sendo coerente com a argumentação desta tese.

As células T estão também envolvidas na recaptção da dopamina extracelular. São sensíveis à concentração extracelular, o que representa que, pela sua presença no cérebro, são capazes de detectar anormalidades nos níveis de dopamina e reagir de acordo com isso. O tipo de resposta possível, a altas e baixas concentrações, é desconhecido, mas será de seguida especulado.

Relativamente à baixa concentração de dopamina cerebral, podem ser especulados dois possíveis caminhos: 1) o facto de existir baixa concentração não provoca alterações, dado que funcionam melhor a baixa concentração; e 2) apresentam um papel regulador, libertando dopamina e adequando os níveis. Estes dois cenários não são coerentes com a fisiopatologia da PHDA. No entanto, num cenário de inflamação de origem intestinal, a activação das células T pode alterar esta sua função de regulação dos níveis de dopamina cerebral.

Relativamente a um cenário de alta concentração de dopamina, esta poderá representar uma resposta tóxica, com possível impacto nas células T e nas células imunológicas cerebrais da micróglia. A micróglia, com macrófagos residentes cerebrais, é caracterizada pela libertação de citocinas inflamatórias em caso de activação. Para além desta envolvência imunológica, existe evidência de que estejam envolvidas no desenvolvimento do SNC, incluindo a sobrevivência, migração e apoptose neuronal, crescimento axonal e corte e maturação de sinapses (Mosser, Baptista, Arnoux, & Audinat, 2017). Dada a extensa relação da micróglia no encéfalo, os resultados locais podem fundamentar várias alterações de funcionamento, justificando a sua relação com várias condições patológicas mentais, incluindo do neurodesenvolvimento (Mosser et al., 2017). Assim, o impacto imunológico sistémico, através do eixo intestino-encefálico, e um cenário de maior concentração de dopamina de efeito tóxico, através das células T, podem induzir alterações cerebrais de extensão incalculável através da

micróglia, mas coerente com esta tese e com a hipótese de um envolvimento sistémico no capítulo 4.

A característica inibitória da dopamina em relação às células T activadas e o facto de ser especialmente inibitória se presente no momento da activação das células T, pode indicar um mecanismo supra-regulatório extra-sistema imunológico. As sobreposições de funções parácrinas, autócrinas e endócrinas, por si só, são reguladoras entre elas, no entanto, a dopamina pode exercer um controlo adicional, à luz do seu envolvimento na comunicação entre as células imunológicas, possivelmente, por uma redução dos níveis de dopamina disponíveis em situações inflamatórias locais e sistémicas. De facto, as doenças alérgicas, como representação das condições que apresentam uma activação do sistema imunológico, são marcadas pela sua relação com a sintomatologia depressiva, de ansiedade e alterações mentais (Costa-Pinto et al., 2006; de Theije, Bavelaar, et al., 2014; P. S. Marshall, O'Hara, & Steinberg, 2002; Melamed & Heffron, 2016; Schmitt, Buske-Kirschbaum, & Roessner, 2010). Por exemplo, a alergia alimentar está também implicada na Perturbação do Espectro da Esquizofrenia, PEA e PHDA (de Theije, Bavelaar, et al., 2014). Ou no cenário contrário, em que a sintomatologia depressiva, ansiedade ou de resposta ao *stress* se traduzem em alterações do sistema imunológico. De facto, a PHDA, Perturbação Depressiva, doenças de Parkinson e de Alzheimer já foram apontadas como *sendo* doenças imunológicas (D'Andrea, 2005; Leonard, 2010; Pelsser, Buitelaar, & Savelkoul, 2009; Sulzer et al., 2017).

Esta relação bidireccional exposta, é coerente com o envolvimento das células T imunológicas na disponibilidade de dopamina e na expressão dos receptores dopaminérgicos. O simples envolvimento destas células é, por si só, uma ponte teórica coerente entre a relação criada ao longo deste capítulo 6, sobre o impacto imunológico no SNC através do eixo intestino-encefálico. Assim, pode ser inferido que um processo inflamatório leva a alterações da disponibilidade das catecolaminas, incluindo a dopamina.

O impacto de uma reacção imunológica temporária na disponibilidade de neurotransmissores, dada a complexidade envolvida, poderá ser equilibrada por outros neuromecanismos. No entanto, a exposição inflamatória continuada pode levar a um desequilíbrio progressivo dos níveis de neurotransmissores. Este facto pode justificar que as doenças auto-imunes, como a Doença de Parkinson, a Doença de Alzheimer, entre outras, apresentem um denominador comum de sintomatologia depressiva. Coincidentemente, como exposto no capítulo 2, o mesmo se aplica à PHDA. Assim, pode ser especulado que um processo inflamatório continuado tem um impacto na redução da disponibilidade das catecolaminas, incluindo a dopamina, pelo que se coloca a questão de a PHDA poder também ser considerada uma doença imunológica.

Perante esta sucessão de suposições e hipóteses, serão de seguida materializadas duas conceptualizações, correspondendo aos dois principais cenários possíveis: 1) uma hipótese conservadora (Figura 6-5), em linha com a evidência existente até ao presente, em que os

factores genéticos predispõem que ocorra PHDA na presença de factores ambientais inflamatórios (intestinais, alimentares, *stress* e maternos); e 2) uma hipótese alternativa (Figura 6-6) em que há uma procura de integrar as evidências mais recentes e as suposições argumentadas nesta tese.



6.D.2 Argumento: Hipótese conservadora da implicação dopaminérgica na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

A combinação entre o aumento da activação imunológica, o fenótipo de menor expressão dopaminérgica e o factor de inibição da dopamina parece mostrar coerência ao justificar o desenvolvimento da PHDA.

Nesta hipótese conservadora (Figura 6-5), a predisposição genética da PHDA apresenta genótipos associados ao sistema dopaminérgico, mas também aos outros sistemas. Centrado na dopamina, existem dois genótipos possíveis: 1) os indivíduos com PHDA que não apresentam alteração dos genes codificadores dopaminérgicos (mas sim noradrenérgicos e serotoninérgicos). Estes apresentam maioritariamente alterações comportamentais associadas aos circuitos noradrenérgico e serotoninérgico (nível de alerta, atenção, cognição, sono). Na figura, são denominados como *comportamentos não-dopaminérgicos* (divisão comportamental simplista para organização da argumentação, dada a sobreposição de comportamentos emocionais e de atenção e o funcionamento indissociável dos neurotransmissores); 2) os indivíduos com PHDA que apresentam alteração dos genes codificadores dopaminérgicos. Este genótipo traduz-se numa expressão fenotípica de menor expressão da dopamina pelos vários mecanismos associados, apresentando impacto não só nas células neuronais, mas também nas imunológicas. O impacto neuronal traduz-se nos comportamentos convencionalmente associados à dopamina (controlo motor, sistema de recompensa, motivação, alerta e emoção), denominados *comportamentos dopaminérgicos*. O impacto nas células imunológicas traduz-se numa alteração da comunicação entre as células envolvidas no processo imunológico, levando à diminuição do mecanismo da inibição da dopamina sobre as células imunológicas activadas.



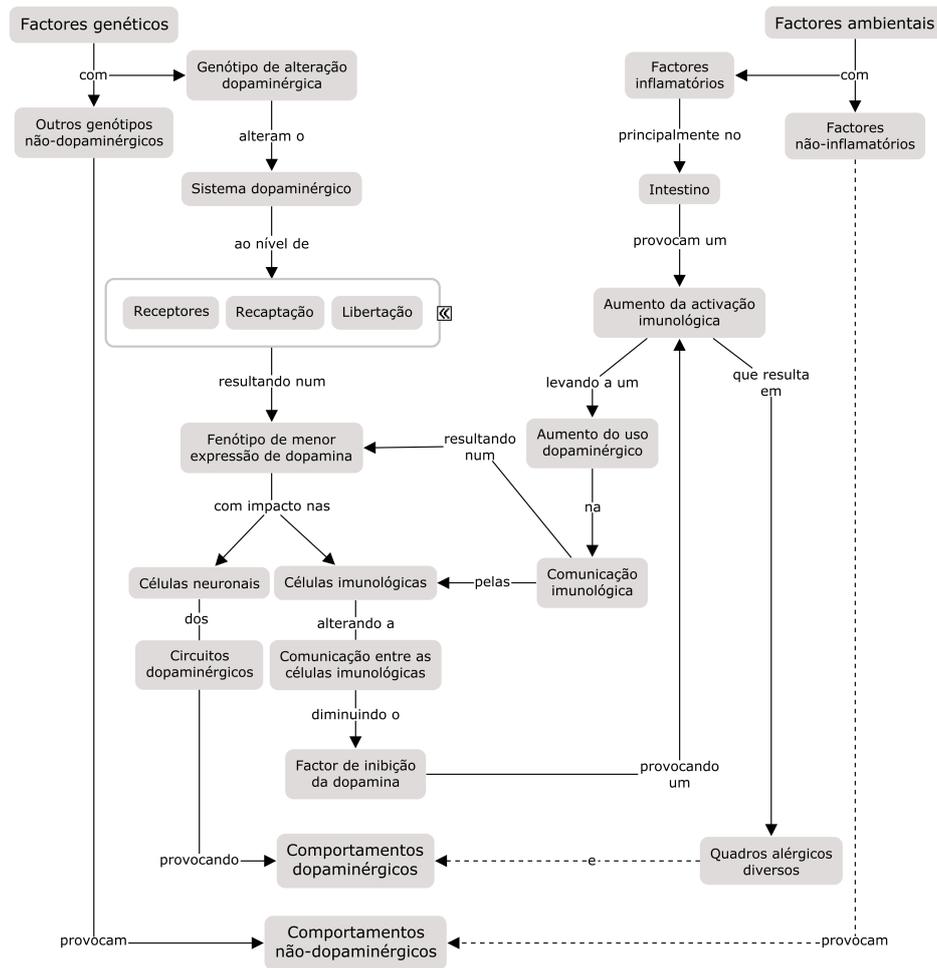


Figura 6-5 Hipótese conservadora da implicação dopaminérgica na etiologia da Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção, através do eixo intestino-encefálico

Figura original ("CmapTools," 2017).

Mediante estes dois génotipos, a presença de factores ambientais potenciadores de inflamação (factores maternos durante a gestação, alimentares, *stress*) podem ter dois desfechos possíveis. Em indivíduos com fragilidade genética dopaminérgica, esta exposição inflamatória ambiental pode levar à activação sistémica imunológica intestinal, que por sua vez leva ao aumento da activação das células imunológicas. Como estes indivíduos apresentam menos inibição imunológica dopaminérgica, resultam em doenças atópicas e alérgicas. Adicionalmente, o aumento da activação imunológica leva ao aumento do uso de dopamina que, num quadro de susceptibilidade genética de menor expressão dopaminérgica, pode contribuir para a falha de comunicação imunológica. Este pode ser o factor que justifica a grande sobreposição reportada entre PHDA e as doenças inflamatórias e alérgicas. De facto, a tríade do circuito fechado de retroalimentação positiva entre o *Aumento da activação imunológica*, *Fenótipo de menor expressão de dopamina* e *Factor de inibição da dopamina*, parece ser coerente ao justificar que o impacto ambiental inflamatório se possa traduzir, nos casos de predisposição genética, no desenvolvimento da PHDA. Seria interessante perceber empiricamente se nos casos com PHDA e quadros alérgicos existe uma maior prevalência de

comportamentos dopaminérgicos, sendo um argumento *confirmatório* para com esta hipótese gerada.

No entanto, esta hipótese conservadora poderia ser coerente, apenas, antes da mais recente evidência pois:

- não contempla o Microbioma Humano;
- não contempla o eixo intestino-encefálico;
- não contempla o efeito das citocinas;
- e não contempla a explicação dos casos com PHDA sem alteração genética dopaminérgica.

Assim, esta tese especula uma hipótese alternativa que procura colmatar estas falhas (Figura 6-6).



6.D.3 Argumento: Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Os factores ambientais com características inflamatórias podem induzir alterações características da PHDA pela alteração do perfil imunológico.

Nesta hipótese alternativa (Figura 6-6), os factores ambientais que apresentam um impacto no funcionamento corporal, com características inflamatórias e de alteração do microbioma, podem induzir alterações características da PHDA. A susceptibilidade genética dopaminérgica dita a presença ou não de comorbilidade com quadros alérgicos. A causa da PHDA pode, então, residir na manifestação dos factores ambientais inflamatórios e disbióticos, como o *stress*, factores maternos e alimentares, provocando uma alteração da microbiota humana, principalmente intestinal, através dos mecanismos de tolerância oral. Esta disbiose altera o funcionamento e os produtos metabólicos que, conjuntamente com a alteração da permeabilidade intestinal, induzem uma resposta imunológica local de repercussões sistémicas. O perfil de activação imunológica altera o equilíbrio das aminas, induzindo uma mudança para um perfil com menor acção dos Treg e maior activação dos Th que, por sua vez, leva ao aumento da produção de citocinas que, através do eixo intestino-encefálico, provocam alterações nas regiões neuroanatómicas da etiologia da PHDA.



Conclusões-chave do Argumento D

A dopamina funciona como um neuro-imuno-transmissor. O envolvimento dopaminérgico imunológico é, por si só, coerente com o perfil imunológico traçado no argumento C;

Uma grande parte, talvez a totalidade, das células imunológicas tem receptores de dopamina;

As células T, mesmo desactivadas, apresentam receptores de dopamina suficientes para que esta possa mediar alterações nas suas funções;

O simples envolvimento das células T na produção, libertação e recaptção de catecolaminas (incluindo a dopamina) é, por si só, uma ponte teórica coerente com a relação criada ao longo deste capítulo 6, relativamente ao impacto imunológico no SNC através do eixo intestino-encefálico;

O facto de que as células T necessitam, produzem, libertam e recaptam a dopamina permite especular que um processo inflamatório pode levar a alterações da sua disponibilidade. Por outro lado, um cenário de maior concentração de dopamina tem um efeito tóxico nas células T que, através da micrógliã, pode induzir alterações neurológicas sistémicas, sendo coerente com a hipótese do capítulo 4;

A activação das células T CD4+, principalmente Th, provoca a captação de dopamina proveniente das células dendríticas, cuja função é alterada por dopamina proveniente de outros locais, incluindo o de origem neuronal. Assim, suporta a especulação de que este poderá ser um dos mecanismos específicos que levam a uma depleção da dopamina disponível, sendo coerente com a argumentação desta tese;

A dopamina surge associada ao funcionamento equilibrado do sistema imunológico através dos seus papéis de inibidora de células T activadas e de *inibição dos inibidores* Treg;

A activação dos receptores de dopamina dos Treg provoca a supressão da sua capacidade de inibir os efectores Th e Tc, sendo o possível mecanismo através do qual a dopamina induz a produção de citocinas;

Sendo que os Treg produzem uma maior concentração de catecolaminas comparativamente às células efectoras, pode ser especulado que uma resposta inflamatória intestinal leva à mudança para um perfil imunológico catalisador de citocinas, ao aumento de Th2, à redução dos Treg e à redução de dopamina disponível. Assim, representa mais um mecanismo específico da sua depleção, sendo coerente com a argumentação desta tese;

A dopamina faz parte de um dos principais sistemas de neurotransmissores associado às Perturbações Mentais. Tendo em conta a relação intrínseca com o sistema imunológico, pode existir uma necessidade de mudança de paradigma relativamente às Perturbações Mentais;

O conjunto de perturbações do foro mental expostas no argumento B apresentam em comum um envolvimento etiológico da dopamina. Com base nos argumentos A e C, esta coincidência é coerente com a ligação da microbiota intestinal ao sistema imunológico. Este argumento D, acrescenta coerência a esta ligação pelo envolvimento da dopamina no sistema imunológico.

Questão-chave levantada e especulada no argumento D:

Considerando que um processo inflamatório pode ter um impacto no equilíbrio da disponibilidade das catecolaminas, incluindo a dopamina, pode a PHDA também ser considerada uma doença imunológica?

A Hipótese conservadora deste argumento D considera que a fragilidade genética dopaminérgica, mediante uma exposição inflamatória ambiental, pode levar a uma activação sistémica imunológica intestinal, que provoca o aumento da activação das células imunológicas e justifica a grande sobreposição reportada entre a PHDA e as doenças inflamatórias e alérgicas. A Hipótese alternativa suporta que as alterações comportamentais da PHDA podem ser justificadas por alterações neuroanatómicas

globalizadas, derivadas do microbioma intestinal e do seu impacto sistémico, através das três vias de comunicação do eixo intestino-encefálico.



6.E Argumento: a histamina altera o funcionamento neuronal

A histamina tem um impacto sistémico nos sistemas dos neurotransmissores e está relacionada com a sintomatologia comportamental da PHDA.

Outro argumento que reforça o envolvimento do sistema imunológico é referente à histamina. A histamina é uma substância central no sistema imunológico. É uma amina derivada da histidina e faz parte das monoaminas, conjuntamente com as catecolaminas, como a dopamina, adrenalina e noradrenalina derivadas da tirosina, e a serotonina derivada da triptamina. Dado que a histamina está tão relacionada com os neurotransmissores centrais no funcionamento mental, é conceptualmente necessária uma atenção especial relativa ao seu papel no neurodesenvolvimento e na PHDA. Actualmente, é desconhecido qual o impacto dos factores disbióticos no funcionamento imunológico da histamina. Esta tese coloca a hipótese de que uma activação imunológica continuada, derivada de factores ambientais inflamatórios e disbióticos, pode afectar a eficácia deste mecanismo de equilíbrio da histamina.

A histamina é um componente principal dos mastócitos e basófilos, também envolvida com os neutrófilos e eosinófilos, sendo libertada aquando da sua activação ou degranulação e com efeitos biológicos observados em poucos minutos. Existem quatro receptores de histamina, de H1 a H4, estando o receptor H2 responsável pela inibição da degranulação dos mastócitos, inibindo a sua própria libertação. A maioria dos efeitos da histamina nas reacções alérgicas é mediada pelo receptor H1, induzindo a contração dos músculos lisos, aumentando a secreção mucosa e a permeabilidade dos vasos sanguíneos. O receptor H2 contribui também para estes efeitos e, adicionalmente, aumenta a libertação do ácido do estômago e estimula as glândulas exócrinas³⁴ (Owen et al., 2013).

No processo inflamatório, o recrutamento das populações de leucócitos para o local da infecção aumenta o nível de activação imunológica, sendo libertadas citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 e IL-6, quimiocinas, prostaglandinas e histamina. Adicionalmente, as citocinas IL do tipo 3 (IL-3) e o Factor de Estimulação de Colónias, Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF, do inglês, *Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor*) potenciam a diferenciação dos monócitos das células estaminais, induzem a

³⁴ Glândulas produtoras de secreções expelidas para o exterior.



proliferação de eosinófilos e a degranulação dos basófilos com a libertação de histamina. A promoção do estado de inflamação é potenciada pelos mediadores pró-inflamatórios que promovem a fagocitose e a continuação da degranulação dos neutrófilos, basófilos e eosinófilos, por sua vez levando a uma segunda libertação dos mediadores inflamatórios como a histamina e as prostaglandinas (Owen et al., 2013).

Entre os vários receptores de histamina, o receptor H3 apresenta maior relevância para esta conceptualização pela sua possível implicação nos mecanismos de tolerância oral. Coerente com esta relação, é o facto dos aditivos alimentares artificiais, de cor e sabor, estarem entre as toxinas possíveis de aumentar o risco da PHDA (ver subcapítulo 2.3.3.7). No entanto, os mecanismos através dos quais algumas crianças são mais susceptíveis não são ainda reconhecidos. Segundo a argumentação até então realizada, esta tese considera a hipótese de que o argumento C.2, relativo ao envolvimento imunológico na PHDA, justifica este envolvimento, podendo a diferença de susceptibilidade ser explicada pela Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica (Figura 6-6). Vários argumentos suportam esta hipótese relativamente à histamina e ao receptor H3: 1) a histamina é uma monoamina à semelhança dos neurotransmissores implicados na PHDA; 2) no modelo animal existe coerência entre a actividade dos receptores H3 e os conceitos tipicamente associados à PHDA, como aumento da hiperactividade, alterações no comportamento inibitório, afectação da aprendizagem e promoção da libertação de dopamina no córtex pré-frontal; e 3) a histamina parece ser o mediador nos mecanismos de afectação comportamental (Stevenson et al., 2010).

Ainda sobre esta diferença de resposta e a Hipótese alternativa, a possibilidade de existir susceptibilidade genética pode ter algum suporte num estudo de 2010 em que foi analisado se o efeito dos aditivos alimentares, que têm sido descritos como toxinas possíveis de aumentar o risco da PHDA, podem ser moderados pelas diferenças genéticas entre as crianças. Foram analisados os polimorfismos genéticos relacionados com a dopamina, como o DAT1 e DRD4, as catecolaminas, como a COMT, o receptor adrenérgico ADRA2A e a enzima de histamina N-metiltransferase. Deste estudo emergiu a existência de uma relação entre a histamina e a sintomatologia da PHDA, sendo o gene codificador da enzima de histamina N-metiltransferase o moderador das respostas comportamentais aos aditivos alimentares. Estes alelos de risco relacionados com a histamina aparentam ter dois mecanismos de acção: a influência no nível global de hiperactividade e na vulnerabilidade comportamental aos aditivos na dieta (Stevenson et al., 2010).

Outros argumentos que suportam esta possível relação da histamina com a PHDA derivam do modelo animal do rato espontaneamente hipertenso³⁵. Esta análise animal suporta a hipótese dopaminérgica e a utilização da medicação estimulante (que inibe a recaptção e estimula a

³⁵ Considerado um modelo animal da PHDA por apresentar hiperactividade, impulsividade, baixa atenção e défices de aprendizagem e memória.

libertação de dopamina, aumentando a concentração de dopamina disponível) e não-estimulante (inibidor de recaptção de noradrenalina). Em ambos os tipos de medicação ocorre um aumento da libertação de histamina cortical. A histamina está intimamente ligada ao processo de aprendizagem e memória através dos seus receptores H1 a H4. O receptor H3, para além de ser um auto-receptor envolvido no controlo de histamina, é encontrado em neurónios que participam no controlo da síntese e libertação de noradrenalina, dopamina, acetilcolina, serotonina e GABA no SNC e no Sistema Nervoso Periférico (L.-L. Liu et al., 2008). Na tentativa de compreender o potencial terapêutico da atomoxetina na aprendizagem espacial e memória, foi demonstrado que ocorre um aumento de histamina extracelular no córtex pré-frontal, sendo a via histaminérgica uma das vias reguladoras desta região (juntamente com os restantes neurotransmissores noradrenérgicos, dopaminérgicos, colinérgicos e serotoninérgicos). Assim, os neurónios cerebrais histaminérgicos apresentam um papel significativo na regulação da aprendizagem, memória, capacidade de locomoção, ritmo circadiano e outros processos fisiológicos (L.-L. Liu et al., 2008).

Os corpos celulares destes neurónios histaminérgicos encontram-se no núcleo talâmico tuberomamilar, com projecções eferentes para todo o SNC, incluindo os principais núcleos subcorticais e o córtex cerebral. Esta morfologia é similar às restantes aminas (dopamina, noradrenalina e serotonina) sugerindo que esta região funciona como centro regulador de toda a actividade encefálica (Passani, Bacciottini, Mannaioni, & Blandina, 2000).

Assim, a via histaminérgica apresenta coerência com a sintomatologia da PHDA: 1) nas alterações dos níveis de atenção e alerta, através da sua presença central talâmica. O que é coerente com a sintomatologia de desatenção e com as alterações talâmicas de EEG observadas na PHDA; 2) nas alterações de hiperactividade, através do envolvimento do receptor H3. O que é coerente com a sintomatologia da PHDA; 3) na regulação comportamental e inibitória, através da regulação dos principais neurotransmissores e do seu impacto no córtex pré-frontal, uma das principais estruturas etiologicamente ligadas à PHDA; e 4) no envolvimento de controlo generalizado das redes neuronais, o que é coerente com a principal conclusão do capítulo 4.

Claro que este impacto ambiental na sintomatologia da PHDA será mínimo num caso agudo ou esporádico, provavelmente, de forma similar à sintomatologia depressiva temporária durante as mudanças sazonais ou no caso das alergias sazonais (Lam, Song, & Yatham, 2004; P. S. Marshall et al., 2002). No entanto, poderá ser conceptualmente relevante no caso da exposição continuada a factores ambientais disbióticos e inflamatórios pois, como argumentado até então, podem ocorrer múltiplos caminhos para o surgimento da sintomatologia da PHDA. Está ainda longe de ser compreendida a extensão do envolvimento histaminérgico nas redes neuronais e no equilíbrio dos neurotransmissores juntamente com o impacto dos processos imunológicos no funcionamento cerebral. Apesar da complexidade envolvida, o sistema histaminérgico pode representar mais um argumento coerente entre a etiologia e a sintomatologia da PHDA com os processos inflamatórios e disbióticos.

De uma forma geral, a histamina suporta os argumentos anteriores e adiciona à Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica (Figura 6-6) o impacto sistémico do processo imunológico pelos níveis de histamina e, conseqüentemente, nos níveis das aminas envolvidas na etiologia e sintomatologia da PHDA. Assim, o genótipo de *susceptibilidade histaminérgica*, conjuntamente com os genótipos *dopaminérgicos*, pode aumentar o risco de os factores ambientais inflamatórios e disbióticos resultarem na PHDA.

Conclusões-chave do Argumento E

Actualmente, é desconhecido qual o impacto dos factores disbióticos no funcionamento imunológico da histamina. Esta tese conceptualiza que uma activação imunológica continuada, derivada de factores ambientais inflamatórios e disbióticos, pode afectar a eficácia deste mecanismo de equilíbrio da histamina;

Entre os vários receptores de histamina, o receptor H3 apresenta maior relevância para esta conceptualização pela sua possível implicação nos mecanismos de tolerância oral (expostos no argumento C);

O papel regulatório central da histamina, com impacto generalizado na actividade encefálica, é coerente com a hipótese do capítulo 4 sobre o envolvimento de todas as principais redes neuronais na PHDA;

A regulação dos neurónios histaminérgicos tem influência comportamental generalizada, principalmente em termos de hiperactividade e atenção, o que é coerente com a sintomatologia comportamental da PHDA;

Esta conceptualização da histamina suporta os anteriores argumentos e adiciona à Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica (Figura 6-6) o impacto do processo imunológico sistémico nos níveis de histamina e, conseqüentemente, nos níveis das aminas que têm impacto na sintomatologia da PHDA. Assim, o genótipo de *susceptibilidade histaminérgica*, conjuntamente com os *genótipos dopaminérgicos*, pode aumentar o risco de os factores ambientais inflamatórios e disbióticos resultarem nas alterações neuroanatómicas identificadas no capítulo 4.



6.F Argumento: a neuróglia responde aos processos inflamatórios

A activação imunológica sistémica tem repercussões em todo o SNC.

A neuróglia, ou células da glia, são células não-neuronais do SNC e do Sistema Nervoso Periférico que representam a maioria das células encefálicas, cerca de duas a dez vezes mais, com uma distribuição e morfologia variada, à semelhança do que sucede com os neurónios (Ben Haim & Rowitch, 2017; Kandel et al., 2013; Takouda, Katada, & Nakashima, 2017). Estas células são divididas em duas grandes classes:

- micróglia: células do sistema imunológico, mobilizadas pela presença de antigénicos e citocinas, tornando-se fagócitos no caso de lesão, infecção ou doenças degenerativas;
- e macróglia: que inclui oligodendrócitos, células de Schwann e astrócitos que representam cerca de 80% das células presentes no encéfalo. Desta percentagem, cerca de metade corresponde a oligodendrócitos e a outra metade a astrócitos (Kandel et al., 2013).

Inicialmente, a neuróglia foi considerada como importante no suporte estrutural aos neurónios (Kettenmann & Verkhratsky, 2008), no entanto, o aumento da compreensão destas células levou ao reconhecimento do seu envolvimento fundamental no neurodesenvolvimento e no funcionamento neuronal energético, vascular e imunológico. Estas células já foram implicadas em várias patologias do foro mental como, por exemplo, PHDA, PEA, demência, Doença de Alzheimer, Esclerose Lateral Amiotrófica, Doença de Huntington, Doença de Parkinson, Perturbação Depressiva, Perturbação de Tourette, Perturbação do Espectro Esquizofrenia e Perturbação Bipolar (Hong, Kim, & Im, 2016; Killeen et al., 2013; Oades, Myint, Dauvermann, Schimmelmann, & Schwarz, 2010; Pardo, Vargas, & Zimmerman, 2005; Sica, Caccuri, Quarracino, & Capani, 2016). Na relação com a PHDA destacam-se os astrócitos e a micróglia. A relação entre os astrócitos e a PHDA foi construída no Modelo cognitivo neuroenergético (ver subcapítulo 2.3.5). A possível relação com a micróglia será de seguida exposta.

A micróglia são as células residentes imunológicas no SNC, sendo essenciais no controlo de condições patológicas neuronais. Partilham com os astrócitos a função de gerar a reconstituição do tecido neuronal danificado, de participar na resposta imunológica e na modelagem das ligações sinápticas (Aguzzi, Barres, & Bennett, 2013; Jha, Lee, & Suk, 2016; Pardo et al., 2005). Ambas respondem à activação imunológica, migrando para os locais de inflamação e activando a fagocitose (Aguzzi et al., 2013; Zhan et al., 2017). A complexidade

do funcionamento entre as várias células do sistema nervoso ainda não é completamente compreendida, no entanto, alguns aspectos têm sido coerentes na possível relação com a PHDA:

- o impacto de respostas imunológicas organizadas pelos astrócitos nas alterações de neurodesenvolvimento já foi anteriormente reportado como um dos mecanismos neurobiológicos da etiologia de PEA (Pardo et al., 2005) sendo, actualmente, uma explicação também viável para todas as Perturbações do Neurodesenvolvimento (Jha et al., 2016; Sloan & Barres, 2014). O facto de que esta consideração já foi reportada, reforça a viabilidade do conceito apresentado nesta tese de que a responsividade das células do SNC aos mecanismos imunológicos tem impacto no neurodesenvolvimento e neurofuncionamento do SNC;

- nos casos de activação imunológica, a micróglia é rapidamente activada conduzindo a alterações moleculares também associadas a neurotoxicidade (Aguzzi et al., 2013; Jha et al., 2016);

- tendo em conta que cada astrócito pode apresentar mais de dois milhões de sinapses com influência próxima e distante (Kettenmann & Verkhratsky, 2008) é, actualmente, impossível de conceptualizar o impacto real que a alteração de funcionamento dos astrócitos, em resposta a uma exposição imunológica, principalmente continuada, pode representar no funcionamento neuronal (Sica et al., 2016; Takouda et al., 2017; Zhan et al., 2017). Estes factos, aumentam a importância do impacto negativo que os factores ambientais inflamatórios e disbióticos podem apresentar no SNC, pelos mecanismos já descritos anteriormente;

- a micróglia e os astrócitos respondem não só a respostas inflamatórias locais mas também a quimiocinas e citocinas inflamatórias sistémicas (Oades et al., 2010; Sloan & Barres, 2014; Zhan et al., 2017). No modelo animal, o mecanismo de inflamação resulta em comportamentos de hiperactividade e comportamento estereotipado, com impacto no córtex frontal e activação globalizada da neuróglia (Hornig, Weissenbock, Horscroft, & Lipkin, 1999). A desregulação derivada desta activação aumenta a produção das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α), contribuindo para a degeneração neuronal (Hong et al., 2016). Esta resposta sistémica representa mais um mecanismo de possível impacto das citocinas no funcionamento e neurodesenvolvimento do SNC. O impacto generalizado no SNC é coerente com a hipótese do capítulo 4 de uma implicação globalizada das redes neuronais na PHDA;

- as alterações no funcionamento da neuróglia, incluindo a micróglia e os astrócitos, resultam em comportamentos típicos da PHDA (Oades et al., 2010; Sandau, Alderman, Corfas, Ojeda, & Raber, 2012), dando coerência ao argumento de que as alterações de funcionamento destas células podem resultar, por si só, em PHDA;

- uma das características anatómicas dos astrócitos é a sua forma de conexão, que facilita a transferência da informação e dos metabolitos entre grandes distâncias. Este parece ser um dos mecanismos pelos quais uma alteração nas funções dos astrócitos apresenta consequências profundas na actividade neuronal (Escartin & Bonvento, 2008). Adicionalmente, a micróglia e os astrócitos influenciam a libertação dos neurotransmissores

aminas no SNC (Bazargani & Attwell, 2017). Estes dois mecanismos sustentam o impacto globalizado que uma alteração dos astrócitos pode ter no neurofuncionamento, sendo coerente com a hipótese do capítulo 4 de uma implicação globalizada das redes neuronais na PHDA;

- o processo de formação dos astrócitos, astrogénese, é mediada por factores exógenos e mudanças externas. De facto, os factores externos influenciam a sua função e a sua formação, podendo resultar em alterações de neurodesenvolvimento e funcionamento (Sloan & Barres, 2014). Este facto representa a importância que os factores ambientais podem exercer no neurodesenvolvimento, sendo coerente com a argumentação desta tese;

- e a micróglia expressa os quatro receptores de histamina, o que permite a activação e modulação pela histamina, substância P e citocinas. Isto resulta na libertação adicional, pela própria micróglia, de factores pró-inflamatórios (TNF- α e IL-6) que contribuem para o desenvolvimento da inflamação neuronal (Dong et al., 2014; R. Ferreira et al., 2012; Zhu, Qu, Lu, & Zhang, 2014). Esta relação com a histamina é coerente com o argumento E e com o impacto exercido pela histamina e as citocinas, derivadas do processo imunológico, no desenvolvimento e funcionamento do SNC.

Permanece em aberto uma questão do capítulo 4 relativamente ao que representam os níveis aumentados de NAA no córtex pré-frontal medial, observado em crianças e adultos com PHDA (ver subcapítulo 4.2). O NAA é sintetizado do aspartato, um aminoácido não essencial, e acetilcoenzima A na mitocôndria dos neurónios. Juntamente com NAAG, é libertado no fluido extracelular após a sua estimulação, sendo o NAAG hidrolisado de volta a NAA nos astrócitos. O aumento dos níveis de NAA são principalmente reconhecidos como um reflexo do estado de activação das regiões encefálicas o que não apresentou uma total coerência com a discussão realizada no capítulo 4 sobre as alterações neuroanatômicas na PHDA.

A coerência deste resultado poderá ser observada com a conceptualização até então neste capítulo 6. Estes valores aumentados de NAA podem ser representativos do aumento da actividade dos astrócitos como resultado da activação e modulação imunológica, tendo uma tendência para a região frontal (com base no modelo animal). Esta suposição apresenta total coerência com a principal implicação frontal neuroanatômica na etiologia da PHDA e com a região em que os valores de NAA foram reportados.

Por outro lado, a base conceptual do Modelo cognitivo energético na PHDA assenta na consideração de que uma alteração no funcionamento dos astrócitos se pode traduzir num fornecimento energético ineficaz dos astrócitos para o funcionamento dos neurónios (ver subcapítulo 2.3.5). Este conceito é coerente com as alterações morfológicas e funcionais que os astrócitos sofrem, juntamente com a micróglia, durante um processo inflamatório, e que foram descritos anteriormente. Isto pode significar que durante um processo inflamatório as mudanças que ocorrem podem traduzir-se num fornecimento energético ineficaz para os neurónios, que por sua vez pode levar aos padrões de hipoactivação neuronal observado no córtex pré-frontal da PHDA (ver capítulo 4). Por fim, esta insuficiência energética, a longo

prazo, pode ter impacto nos oligodendrócitos, o que se traduz numa insuficiência na síntese de ácidos gordos e no atraso e redução da mielinização dos axónios (ver subcapítulo 2.3.5). De facto, na neuróglia foram identificados diferentes mecanismos de impacto no caso de um processo inflamatório isolado ou de uma exposição continuada inflamatória e disbiótica (Jha et al., 2016). Assim, a exposição continuada, pelo impacto que exerce nos oligodendrócitos, pode justificar os maiores tempos de reacção e os menores valores na disponibilidade de AGCC o que é coerente com as alterações de controlo inibitório e com os níveis observados de ácidos gordos na PHDA (ver subcapítulos 2.3.2.8, 2.3.2.10, 2.3.5, 2.4.1.1 e 2.4.1.2).

Desta forma, a neuróglia, principalmente a micróglia e os astrócitos, representam mais uma forma de afectação do SNC na presença de factores inflamatórios e disbióticos. A sua activação, como consequência de uma resposta imunológica, coerentemente à sua localização e funções, altera o desenvolvimento e funcionamento generalizado do SNC. Assim, este argumento E pode representar a justificação de como um processo imunológico pode resultar num impacto sistémico do SNC, sendo coerente com a hipótese do capítulo 4 sobre o envolvimento globalizado das redes neuronais na etiologia da PHDA. É também coerente com os argumentos anteriores uma vez que as citocinas e a histamina têm um efeito na neuróglia que influencia a construção sináptica, a disponibilidade energética para o funcionamento dos neurónios e o equilíbrio dos principais neurotransmissores associados à sintomatologia e etiologia neuroanatómica da PHDA.



Conclusões-chave do Argumento F

As alterações do funcionamento da neuróglia, incluindo a micróglia e os astrócitos, resultam em comportamentos típicos da PHDA;

Na presença de factores inflamatórios e disbióticos, a neuróglia, principalmente a micróglia e os astrócitos, representa mais um mecanismo possível de afectação do SNC;

A micróglia e os astrócitos influenciam a libertação dos neurotransmissores aminas no SNC e a micróglia expressa os quatro receptores de histamina. Isto permite a sua activação e modulação pela histamina e citocinas, sendo coerente com o argumento E;

A responsividade das células do SNC aos mecanismos imunológicos tem impacto no neurodesenvolvimento e neurofuncionamento, com influência na construção sináptica, na disponibilidade energética para o funcionamento dos neurónios e no equilíbrio dos principais neurotransmissores que estão associados à sintomatologia e etiologia neuroanatômica da PHDA;

A micróglia e os astrócitos respondem não só a respostas inflamatórias locais, mas também a quimiocinas e citocinas inflamatórias sistémicas. Esta resposta sistémica, juntamente com o impacto globalizado provocado por uma alteração dos astrócitos, é coerente com a hipótese de uma implicação globalizada das redes neuronais na PHDA, considerada no capítulo 4;

Os factores ambientais podem exercer alterações no neurodesenvolvimento através da influência na astrogénese, que é mediada por factores exógenos e mudanças externas;

As características das ligações dos astrócitos (que facilitam a transferência da informação e dos metabolitos entre grandes distâncias) e a rapidez da activação da micróglia (que conduz a alterações moleculares associadas a neurotoxicidade), aumentam a importância do impacto negativo que os factores ambientais inflamatórios e disbióticos podem apresentar no SNC;

Os valores aumentados de NAA, identificados no capítulo 4, podem ser representativos do aumento de actividade dos astrócitos, derivado da activação e modulação imunológica, e que se podem traduzir num fornecimento energético ineficaz para os neurónios, principalmente, da região frontal;

A exposição inflamatória continuada, pelo seu impacto nos oligodendrócitos, resulta em maiores tempos de reacção e menores valores na disponibilidade de AGCC, sendo coerente com as alterações de controlo inibitório e os níveis observados de ácidos gordos na PHDA.



6.G Argumento: a primeira colonização altera o neurodesenvolvimento

Todos os factores envolvidos com a primeira colonização apresentam evidência que suporta a ligação microbiota-intestino-imuno-encefálica na PHDA.

Os argumentos anteriores fundamentam a ligação *microbiota-imuno-neurológica*. Apesar de também exporem o papel fundamental da microbiota como mediadora intestinal, centraram-se principalmente na relação imuno-neurológica. Os argumentos seguintes centram-se, principalmente, nos factores que alteram a microbiota.

Com base na evidência do capítulo 5, um dos primeiros critérios-chave de um microbioma saudável é relativo à importância da primeira colonização na constituição do microbioma. A exposição intra-uterina, o tipo de parto, prematuridade, amamentação e a exposição a antibióticos são os principais factores reconhecidos, actualmente, de alterarem o primeiro contacto microbiano, a constituição da microbiota, a colonização intestinal e, conseqüentemente, aumentarem o risco a doenças (Rautava, Luoto, Salminen, & Isolauri, 2012).

Assim, para que o conjunto dos argumentos anteriores sejam conceptualmente viáveis, os factores que provocam disbiose identificados no capítulo 5, em última instância, têm que estar ligados com a PHDA.



6.G.1 Argumento: o período de gestação tem impacto na microbiota e sistema imunológico

A exposição imunológica gestacional pode alterar o funcionamento dopaminérgico e da micróglia tendo implicações nas redes neuronais.

Ainda antes da primeira exposição, durante o parto, a tolerância imunológica do bebé é instruída pela mãe através da passagem pela placenta de células maternas que induzem nos nódulos linfáticos do bebé o desenvolvimento de Treg CD4+, CD25+ e Foxp3+, com impacto no sistema imunológico até ao início da fase adulta (Mold et al., 2008). O ambiente intra-uterino



não é estéril, apresentando comunidades específicas associadas à placenta, líquido amniótico, cordão umbilical e mecónio (Amenyogbe, Kollmann, & Ben-Othman, 2017). Esta exposição gestacional assume vários contornos: os quadros alérgicos maternos demonstraram ser um grande factor de alergia no bebé; o *stress* materno, associado a elevados níveis de cortisol, foi associado ao perfil imunológico desequilibrado de tendência de Th e a alterações comportamentais e cognitivas no desenvolvimento; quadros inflamatórios, não sendo auto-imunes, durante a gravidez estão associados a várias Perturbações Mentais; a presença da perturbação de hiperactivação dos mastócitos, mastocitose, na mãe aumenta a probabilidade de PEA (neurodesenvolvimento); a activação materna de IL-6 (inflamatória) altera o neurodesenvolvimento levando a alterações comportamentais típicas da PHDA e PEA (de Theije, Bavelaar, et al., 2014). Assim, percebe-se que os factores inflamatórios maternos induzem alterações imunológicas na criança, em que ocorre uma mudança para um perfil imunológico de Th, do qual resultam, entre outras, alterações de neurodesenvolvimento.

Adicionalmente, um tempo de gestação curto com nascimento pré-termo pode estar associado a alterações da constituição inicial da microbiota. É observado, nestes casos, um atraso na colonização das espécies de *Bifidobacterium* comparativamente a bebés de termo (Rautava et al., 2012). Parece possível que num bebé pré-termo que tenha a necessidade de um ambiente protegido, como a incubadora, a privação do contacto imediato que ocorre entre a pele do bebé e da mãe, juntamente com um intestino subdesenvolvido para acomodar as espécies colonizadoras, pode ser a principal justificação (Butel et al., 2007; Rautava et al., 2012). Num estudo prospectivo, o tempo de gestação estava positivamente associado à diversidade microbiana da pele. Os partos prematuros apresentaram uma menor diversidade e equitatividade quando comparados com os partos de termo, sendo que a alteração do desenvolvimento do microbioma da pele afecta a imunidade, a maturação e as funções das estruturas deste órgão (Pammi et al., 2017). Dada a relação do nascimento prematuro e do baixo peso à nascença com a PHDA, pode equacionar-se que a alteração da constituição da microbiota, com as suas consequências associadas, pode contribuir para a PHDA.

No modelo animal foi observado que a exposição à activação imunológica materna resulta em alterações metabólicas no córtex cingulado, no aumento dos níveis de NAA e creatina e em alterações de comportamento inibitório (Q. Li et al., 2015). Estes resultados são convergentes com a região neuroanatômica, com os níveis de NAA e com as dificuldades inibitórias observadas na PHDA. O facto de que a exposição à activação imunológica materna pelo bebé resulta na transmissão de uma alteração imunológica, é coerente com a observação do aumento dos níveis de NAA e a hipótese de que pode ser representativo do aumento de activação imunológica dos astrócitos. Pode assim traduzir-se em alterações de neurodesenvolvimento e neurofuncionamento típicos da PHDA.

Por outro lado, a activação imunológica materna tem impacto nas células da micróglia. As células da micróglia apresentam uma distribuição heterogénea, sendo observada maior densidade nos tractos axonais em desenvolvimento. Este é o caso dos axónios

dopaminérgicos, cujo crescimento é influenciado pela redução e alteração da micróglia e a activação imunológica materna. A redução da micróglia favorece a extensão dorsal dos axónios dopaminérgicos, enquanto a activação imunológica materna está associada a um aumento da inervação dopaminérgica ventral (Mosser et al., 2017). A activação imunológica materna, com a alteração do perfil imunológico da criança, é coerente com os argumentos expostos sobre a relação imunológica da dopamina e da micróglia e o risco de alterações do neurodesenvolvimento típicas da PHDA.

O sistema dopaminérgico, de origem central na substância negra, área tegmental e hipotálamo, apresenta projecções para o corpo estriado, sistema límbico e hipófise (ver subcapítulo 2.3.1). Encontra-se implicado nas redes de atenção pelas suas projecções axonais ao longo do córtex frontal. Relativamente às suas sub-regiões, a anterior cingulada poderá ter um papel mais importante no nível de atenção, a límbica poderá estar mais associada às funções executivas e as variações do nível de activação dos receptores dopaminérgicos poderão estar associados ao controlo inibitório (Cassaday, Nelson, & Pezze, 2014). Dado que este funcionamento em rede deriva da relação entre as regiões do sistema dopaminérgico e da distribuição dinâmica da micróglia, possivelmente, o funcionamento entre as regiões estará mais dependente da comunicação global do que da associação específica a cada região, o que é coerente com a hipótese relativa ao funcionamento desequilibrado entre as várias redes neuronais. Este aspecto é igualmente aplicado ao funcionamento das redes dorsal e ventral da atenção. Apesar das redes dorsal e ventral de atenção serem especializadas em diferentes subprocessos (respectivamente, o controlo *top-down* da atenção e a detecção de estímulo relevantes para o comportamento), este funcionamento só pode ser implementado pela sua interacção dinâmica (Vossel, Geng, & Fink, 2014), sendo por este factor consideradas na etiologia da PHDA (Bush, 2010; F. Xavier Castellanos & Proal, 2012; Samuele Cortese, Kelly, et al., 2012; Vossel et al., 2014). O funcionamento alterado da rede ventral foi associado a um sistema hiperdopaminérgico, possivelmente implicado nas alterações etiológicas de atenção da Esquizofrenia (Jimenez et al., 2016). Assim, também no caso da PHDA será coerente considerar que a exposição à activação imunológica materna, altera a micróglia e o neurodesenvolvimento, e provoca um aumento da inervação dopaminérgica ventral, cujo funcionamento hiperdopaminérgico poderá alterar o funcionamento dinâmico das redes de atenção. Juntamente com o facto desta exposição também alterar o perfil imunológico da criança, é mais uma vez coerente a ligação entre o sistema imunológico e o funcionamento e desenvolvimento neuronal.



6.G.2 Argumento: o parto representa a primeira colonização externa

O parto por cesariana altera a primeira constituição estando mais associada a doenças imunológicas.

O parto por cesariana aumentou de 6,7% em 1990 para 19,1% em 2014, tendo alguns países como os Estados Unidos da América, Brasil e China uma percentagem acima dos 30% (Amenyogbe et al., 2017). Por este aumento ter excedido as recomendações da Organização Mundial de Saúde, tem sido procurada a sua relação com várias doenças (Miettinen, Hermansson, Merikukka, Gissler, & Isolauri, 2015). Como exposto anteriormente, o conceito-chave é que o tipo de parto, pelo canal vaginal ou por cesariana, dita a primeira grande exposição microbiana do bebé, tendo como resultado a diferente constituição do microbioma em todas as regiões corporais (Maria G Dominguez-Bello et al., 2010; Miettinen et al., 2015), incluindo o intestino (Maria Gloria Dominguez-Bello et al., 2011).

Esta diferença do microbioma em resultado do tipo de parto apresenta coerência com a Teoria da Biogeografia das Ilhas (ver subcapítulo 5.2.5.1) que postula que a constituição depende da ordem pela qual as espécies são introduzidas na comunidade, tendo os primeiros colonizadores implicações futuras em termos de funcionamento e estabilidade. Tendo em conta que as primeiras comunidades bacterianas do bebé se assemelham às comunidades vaginais ou da pele consoante se trate, respectivamente, de um parto vaginal ou cesariana, é esperado que a diferença no tipo de parto se traduza em resultados de desenvolvimento diferentes.

De salientar que, em convergência com a importância dada à primeira colonização vaginal do bebé, foi reportado um método inovador que consiste na incubação de gazes no canal vaginal materno durante o parto por cesariana, de forma a que quando o bebé nasce possa ser envolvido pelos fluídos vaginais colonizadores. Os resultados apontaram para um restabelecimento parcial do microbioma da pele (Maria G Dominguez-Bello et al., 2016). Ainda é muito precoce compreender se este restabelecimento tem resultados diferentes no desenvolvimento.

A microbiota está implicada como sendo um factor que favorece a associação do parto por cesariana ao maior risco de alergias (Amenyogbe et al., 2017), como rinite alérgica, alergias atópicas (Pistiner, Gold, Abdulkerim, Hoffman, & Celedon, 2008) e asma (Amenyogbe et al., 2017; Thavagnanam, Fleming, Bromley, Shields, & Cardwell, 2008), mas também obesidade (Huh et al., 2012), doenças auto-imunes (Huh et al., 2012), doença celíaca (Amenyogbe et al., 2017), PEA (Curran et al., 2015) e outras (Sevelsted, Stokholm, Bonnelykke, & Bisgaard, 2015). A relação específica com a PHDA foi revista e a evidência foi pouco conclusiva, no



entanto, considerando que poderá existir um maior risco associado ao parto por cesariana (Curran et al., 2015, 2016; Talge, Allswede, & Holzman, 2016).

Dado o intrínseco funcionamento entre as células T e o neuro-imuno-transmissor de dopamina, existe uma ligação conceptual entre este aumento de alergias derivado do parto por cesariana e a consequência no funcionamento neuronal. Para esta suposição poder ser considerada relativamente à PHDA, então deverá ser observada uma relação preliminar entre o parto por cesariana e outras Perturbações Mentais. De facto, tal é observado numa *doença dopaminérgica*, a Perturbação do Espectro da Esquizofrenia (Boksa & El-Khodor, 2003), e numa Perturbação do Neurodesenvolvimento, a PEA (Curran et al., 2015).

Por outro lado, existe uma relação da cesariana com as doenças imunológicas tendencialmente associadas à PHDA. isto significa que o parto por cesariana pode contribuir para o aumento da tendência de um perfil imunológico potenciador de citocinas inflamatórias que, por sua vez, atingem o funcionamento neuronal pela alteração dos neurotransmissores e áreas neuroanatômicas coincidentes com a PHDA. A evidência disponível é, ainda, escassa para determinar quais os factores que ditam a patologia que pode ser desenvolvida, mas ocorre um impacto das citocinas inflamatórias em regiões neuroanatômicas chave da PHDA. Assim, apresenta validade a hipótese de que a mudança para o tipo de parto por cesariana possa acarretar alterações no desenvolvimento imunológico que, através do sistema dopaminérgico, levam a alterações nas áreas neuroanatômicas convergentes com a PHDA.



6.G.3 Argumento: a amamentação coloniza a microbiota intestinal

As propriedades do leite materno são factor de protecção imunológico e de PHDA.

As diferenças na microbiota de crianças amamentadas em comparação a crianças alimentadas por fórmula foram primeiramente reportadas há mais de cem anos, sendo percebido que os componentes do leite materno promoviam o crescimento de *Bifidobacterium*³⁶ (Amenyogbe et al., 2017; Sandhu et al., 2017). O leite materno contém proteínas, bactérias maternas e nutrientes importantes para o crescimento infantil e para o desenvolvimento do ambiente microbiano neonatal e do sistema imunológico (Gensollen, Iyer, Kasper, & Blumberg, 2016; Pannaraj et al., 2017).

³⁶ Hoje em dia são reconhecidos como os oligossacarídeos do leite humano. Os oligossacarídeos são hidratos de carbono constituídos por dois dissacarídeos e até dez monossacarídeos ligados por uma ligação glicosídica alfa ou beta.



O leite materno apresenta no seu próprio microbioma uma maior concentração de *Streptococcus* e *Staphylococcus* e também possui *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, e *Propionibacterium*, sendo que as crianças amamentadas apresentam mais *Bifidobacterium* e *Lactobacilli*. Várias bactérias produtoras de AGCC são também encontradas no leite materno como, por exemplo, *Veillonella*, *Propionibacterium* e *Faecalibacterium* (Amenyogbe et al., 2017). Assim, é reconhecido no leite materno o envolvimento de espécies microbióticas implicadas no funcionamento das regiões corporais e produtoras de AGCC.

O leite materno coloniza o intestino da criança e molda a microbiota intestinal (Stearns et al., 2017). Curiosamente, a mudança da microbiota intestinal para uma composição mais similar à do adulto ocorre não na introdução dos alimentos sólidos aos seis meses, mas sim na paragem da amamentação após o primeiro ano (Amenyogbe et al., 2017; Pannaraj et al., 2017). As bactérias presentes no leite materno suprimem o aumento da diversidade das bactérias associadas à comida sólida (Pannaraj et al., 2017). Este aspecto é coerente com a Teoria da Biogeografia das Ilhas relativa à importância da primeira colonização. Esta situação, juntamente com o facto de que as bactérias do leite materno estão associadas a um menor risco de desenvolver reacções alérgicas, suportam a recomendação da Organização Mundial de Saúde sobre a continuação da amamentação, pelo menos, até aos 12 meses, mesmo após a introdução da alimentação sólida (Pannaraj et al., 2017).

Este factor protector imunológico fornecido pelo leite materno foi primeiramente associado a vários tipos de imunoglobulinas presentes no leite. Adicionalmente, o leite materno apresenta um perfil anti-inflamatório mediado por grandes concentrações de TGF- β , IL-10 e outras moléculas que sobrevivem à passagem pelo tracto gastrointestinal. Desta forma, crianças amamentadas apresentam um perfil imunológico com uma concentração superior anti-inflamatória de TGF- β e IL-10 e inferior inflamatória de TNF- α e IL-2, o que se traduz numa menor predisposição para doenças imunológicas (Amenyogbe et al., 2017). Contrariamente, crianças não amamentadas apresentam um perfil imunológico de citocinas inflamatórias, com impacto em alterações neuroanatômicas similares à da PHDA e comorbilidade com doenças imunológicas. Adicionalmente, foi reconhecido o papel do leite materno de mediador da função homeostática imunológica pelo impacto que apresenta na microbiota intestinal (Amenyogbe et al., 2017).

Desta forma, o leite materno corresponde a um factor de protecção de PHDA se for considerado que a ligação microbiota-intestino-imunológica é a origem comum dos vários quadros de comorbilidade imunológica da PHDA. De facto, existe evidência de que a falta deste factor protector do leite se traduza em alterações comportamentais e de neurodesenvolvimento, como a PHDA e PEA (Lawrence, 2014; S. Park et al., 2014), corroborando a possível relação entre as alterações da microbiota intestinal e as alterações comportamentais típicas de neurodesenvolvimento.

Conclusões-chave do Argumento G

A importância da gestação, do parto e da amamentação no Microbioma Humano é coerente com a Teoria da Biogeografia das Ilhas, exposta no capítulo 5, relativa à importância da primeira colonização;

Os factores disbióticos associados ao menor tempo de gestação, baixo peso à nascença, activação imunológica materna, parto por cesariana e ausência de amamentação estão associados a uma alteração do microbioma e a alterações coerentes com a PHDA;

Os factores inflamatórios maternos induzem alterações imunológicas na criança, ocorrendo uma mudança para um perfil imunológico com Th e dos quais resultam, entre outras, alterações de neurodesenvolvimento;

A alteração do perfil imunológico da criança é coerente com os argumentos C ao F, relativos à relação imunológica da dopamina e da micróglia com o sistema imunológico e do risco de alterações de neurodesenvolvimento típicas da PHDA;

É coerente considerar que a exposição à activação imunológica materna, altere a micróglia (alterando o neurodesenvolvimento) e provoque um aumento da inervação dopaminérgica ventral, cujo funcionamento hiperdopaminérgico poderá alterar o funcionamento dinâmico das redes de atenção;

O facto de que a exposição à activação imunológica materna pelo bebé resulta na transmissão de uma alteração imunológica é coerente com a observação do aumento dos níveis de NAA e a hipótese de que pode ser representativo do aumento de activação imunológica dos astrócitos. Pode assim traduzir-se em alterações de neurodesenvolvimento e neurofuncionamento típicos da PHDA;

Dado o intrínseco funcionamento entre as células T e o neuro-imuno-transmissor de dopamina, existe uma ligação conceptual entre o aumento de alergias e o tipo de parto por cesariana com uma consequência neuroanatómica convergente com a PHDA;

O leite materno coloniza o intestino da criança, molda a microbiota intestinal e é constituído por espécies microbióticas produtoras de AGCC e necessárias ao funcionamento das regiões corporais;

Crianças não amamentadas apresentam um perfil imunológico coerente com um perfil de citocinas inflamatórias, com impacto em alterações neuroanatómicas similares à da PHDA e com comorbilidade com doenças imunológicas.





6.H Argumento: os antibióticos alteram a estabilidade da microbiota

Apesar de desconhecido nos seres humanos, é conceptualmente viável o impacto dos antibióticos nas alterações de neurodesenvolvimento.

A definição de *antibiótico* não é uniforme. Atendendo à etimologia da palavra, nesta tese, será considerado como sendo agentes antimicrobianos com função de eliminar ou prevenir o desenvolvimento de microorganismos (ver subcapítulo 5.1.1, para definição de *microorganismo*). Nesta categoria, enquadram-se os exemplos dos antibacterianos, antifúngicos, antivíricos e outras substâncias de acção específica (PubMed, 2017a).

Os antibióticos têm sido utilizados na vanguarda dos tratamentos contra as doenças infecciosas durante o último século, como a tuberculose e a sépsis, reduzindo a prevalência da mortalidade associada praticamente a zero (Blaser, 2016; Fowler, Walker, & Davies, 2014). São centrais no tratamento médico, com uma utilização intensa na prevenção, tratamento e redução do risco de infecções e em intervenções cirúrgicas. Por exemplo, em 2010, foi estimado que o consumo das sete principais classes de antibióticos atingiu cerca de 70 biliões de doses individuais, o que representa 10 cápsulas para cada ser humano na Terra, e com tendência a aumentar (Blaser, 2016). Em mais de um terço dos casos de febre infantil são utilizados antibióticos (Elshout et al., 2013). Estão entre a medicação mais prescrita durante a gravidez, sendo utilizados em mais de 40% das mulheres imediatamente após o parto (Martinez de Tejada, 2014).

Apesar desta forte utilização, não tem sido suficientemente investigado o seu impacto no microbioma, no desenvolvimento do sistema imunológico e no impacto futuro em doenças (Amenyogbe et al., 2017). O problema da utilização dos antibióticos assenta em dois grandes pontos: 1) no processo da eliminação do agente infeccioso microbiano são eliminados colateralmente os restantes microorganismos. Só mais recentemente, com a descoberta da relação mutualista entre a espécie humana e as suas comunidades microbianas, se começa a compreender a possível extensão deste problema; e 2) o processo inerente de resistência aos agentes antimicrobianos, agravado pela utilização frequente e universal e que é reconhecido já desde a década de 1930 (Elshout et al., 2013; Fowler et al., 2014).

O problema da eliminação colateral dos restantes microorganismos no corpo humano tem tido um aumento do interesse científico, principalmente após o início do estudo do Microbioma

Humano. A verdadeira extensão deste problema implica uma compreensão aprofundada da constituição da microbiota humana e das funções específicas que lhe estão associadas, no entanto, com base nos resultados já disponíveis, é conceptualmente simples que a devastação das comunidades microbianas para atingir um agente infeccioso certamente terá um impacto imediato na constituição, estabilidade e diversidade das regiões corporais, pois são igualmente eliminadas espécies associadas às funções dos órgãos. De acordo com a Teoria da Biogeografia das Ilhas, a acção de um antibiótico altera a constituição inicial e a ocupação de nichos que estava estabelecida. A disponibilidade da reocupação dos nichos representa a possibilidade da entrada de outras espécies mais agressivas que vão competir e impedir a recolonização e desenvolvimento das espécies benéficas. Desta forma, cada eliminação massiva dita uma futura nova constituição. Consequentemente, de acordo com a Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia (ver subcapítulo 5.2.5.3), é também alterado o equilíbrio necessário à redundância das funções. Estes factores podem, conjuntamente, ditar que o núcleo funcional associado à microbiota saudável seja alterado.

Esta interpretação foi observada em vários resultados reportados (Blaser, 2016; Schulfer & Blaser, 2015): após sete dias de tratamento com clindamicina foi observada uma redução na diversidade de *Bacteroides*, com diferenças mantidas após dois anos da paragem do tratamento; cinco dias de tratamento por ciprofloxacina diminuiu a diversidade e reduziu a abundância em 30% da microbiota intestinal, pelo menos, durante seis meses; o segundo tratamento com este mesmo antibiótico apresentou grande variabilidade de resultados entre os indivíduos (coerente com a reocupação de nichos visto o carácter único de cada microbioma individual) e com uma recuperação da constituição inferior à da primeira exposição; o tratamento combinado por metronidazol, claritromicina e omeprazol para paciente gástricos, durante sete dias, demonstrou um aumento da resistência às substâncias 1000 vezes superior e persistente durante, pelo menos, quatro anos (Schulfer & Blaser, 2015).

O equilíbrio dos ecossistemas e a resposta natural evolutiva das espécies fundamentam o desenvolvimento da resistência associada à utilização de antibióticos e que tem sido reportado como um problema de saúde alarmante, tanto pela perda da sua eficácia como pelas consequências associadas (Elshout et al., 2013; Fowler et al., 2014; Goossens, Ferech, Vander Stichele, & Elseviers, 2005; Martinez de Tejada, 2014). Por exemplo, na década de 1950 a resistência a algumas estirpes de *Staphylococcus aureus* à penicilina tornou-se generalizada e obrigou ao desenvolvimento de penicilina semi-sintética e outros antibióticos. A resistência é um processo contínuo, no entanto, o desenvolvimento de antibióticos foi reduzido e, nalguns casos, parado, desde a década de 1980 (Fowler et al., 2014).

Coerentemente, a relação com as alterações da microbiota humana, doenças imunológicas e futuras doenças tem sido reportada (Amenyogbe et al., 2017), desde logo na utilização de antibióticos na gestação e pós-parto, tendo impacto nos resultados dos factores da primeira colonização (referidos no argumento G) (Martinez de Tejada, 2014; Slykerman et al., 2017). Assim, com base na argumentação até então construída, pode ser considerada a hipótese que

se o uso de antibióticos altera os mecanismos da primeira colonização, então a sua utilização pode ser associada com a etiologia da PHDA.

Aprofundando, o uso de antibióticos na fase inicial de vida está associado com a obesidade, aumento de risco de tratamento por doenças infecciosas, rinite alérgica e alterações do funcionamento neurológico cognitivo (Amenyogbe et al., 2017; Slykerman et al., 2017; Yamamoto-Hanada, Yang, Narita, Saito, & Ohya, 2017). O uso prolongado em bebês prematuros está inclusive associado a sépsis tardia e morte (Amenyogbe et al., 2017). A relação dos antibióticos com obesidade (pela alteração da microbiota intestinal), doenças imunológicas (pela alteração da microbiota local e intestinal, de ligações imunológicas), funcionamento neurológico cognitivo (pela eixo intestino-encefálico e sistema neuro-imunotransmissor dopaminérgico), novas infecções tardias e perda de funções (pelo desequilíbrio do ecossistema da microbiota) apresentam relação com a etiologia da PHDA, sendo coerentes com a argumentação desta tese.

Os modelos animais sujeitos a esta exposição inicial com antibióticos demonstraram a relação com o surgimento tardio de doença, disbiose e alteração ontogénica do sistema imunológico. A sua exposição pré e pós-natal aumentou a susceptibilidade a infecções através das alterações das células T CD8+ (maioritariamente Tc), aumento dos eosinófilos e neutrófilos (células produtoras libertadoras de histamina e com receptores dopaminérgicos e histaminérgicos), aumento da IgE (principal mediador associada à alergia alimentar), redução da frequência de Treg e aumento de um perfil de Th (perfil imunológico produtor de citocinas) (Amenyogbe et al., 2017; Francino, 2015). Assim, este efeito da exposição inicial aos antibióticos é totalmente coerente com a conceptualização de uma ligação às alterações neuroanatómicas da PHDA.

A disbiose específica da microbiota intestinal provocada por antibióticos apresenta consequências a vários níveis:

- no aumento da susceptibilidade a novas infecções, justificada pelas alterações de constituição e reorganização da ocupação dos nichos;
- na alteração do funcionamento imunológico, pela mudança para um perfil de aumento de Th e diminuição de Treg e pela ligação ao sistema imunológico;
- na alteração do metabolismo digestivo, pela alteração da sensibilidade à insulina (relacionado com a obesidade) e do metabolismo dos AGCC;
- e como centro da acumulação da resistência aos antibióticos (Francino, 2015).

Este último ponto apresenta coerência com o último critério de um microbioma saudável relativo à transferência genética horizontal e aos metabolitos que ocorrem entre a microbiota e as células humanas (ver subcapítulo 5.2.5.2). A transferência dos genes resistentes de forma horizontal justifica a grande responsividade genética das comunidades microbianas e resistência que é desenvolvida. Assim, o impacto dos antibióticos no Microbioma Humano, em

especial no intestinal, apresenta coerência com todos os argumentos anteriores e que justificam a sua ligação à etiologia da PHDA.

Apesar do risco reconhecido, é no período perinatal e durante os primeiros dois anos de vida que a utilização *per capita* de antibióticos é mais intensa (Blaser, 2016). Esta incoerência, entre os riscos assinalados e a prática recorrente na saúde, justifica que a primeira evidência desta relação surja relativamente a doenças pediátricas. A PEA representa, mais uma vez, a perturbação do foro mental que está etiologicamente ligada ao uso de antibióticos.

Em 1998, foi reportado que uma percentagem significativa dos casos com PEA apresentava um historial clínico de utilização intensa de antibióticos, com alteração da microbiota intestinal, e cuja explicação poderia estar associada a uma infecção crónica subaguda tetânica do tracto gastrointestinal (Mangiola et al., 2016).

Em 2000, foi reportada a possibilidade de uma alteração da flora intestinal permitir a colonização de bactérias capazes de produzir neurotoxinas, com possível contribuição da sintomatologia da PEA (Mangiola et al., 2016). Foi demonstrado que os níveis de lipopolissacarídeos (principal componente de bactérias gram-negativas) elevados, representativos da alteração de permeabilidade e microbiota intestinal, em indivíduos com PEA estavam correlacionados com a sintomatologia social (Mangiola et al., 2016).

Em 2012, foi criada a hipótese de que a etiologia da PEA, principalmente dos casos *regressivos*, envolve uma alteração do sistema imunológico de causa genética e ambiental, sendo que os antibióticos levam ao crescimento das espécies *Desulfovibrio* associadas aos lipopolissacarídeos e redução do sulfato necessário ao funcionamento fisiológico (Finegold, Downes, & Summanen, 2012). Num estudo de coorte de cerca de 100 000 crianças, foi observado um aumento de cerca de 50% do risco de PEA após o uso de vários antibióticos: sulfonamida e macrólido, durante qualquer fase da gravidez, e penicilina, durante o segundo e terceiro trimestre de gravidez. Uma infecção viral durante o primeiro trimestre, aumentou em duas ou três vezes o risco de PEA e Perturbação do Espectro da Esquizofrenia (duas *doenças dopaminérgicas*). Um episódio febril materno superior a uma semana, antes da trigésima-segunda semana de gestação, aumenta em três vezes o risco de PEA (Atladdottir, Henriksen, Schendel, & Parner, 2012).

Em 2017, foi reportada uma melhoria significativa na sintomatologia associada ao tracto gastrointestinal e à PEA, mantendo-se até pelo menos oito semanas, após um protocolo de transferência de microbiota intestinal com os seguintes passos: 1) 14 dias de toma diária de vancomicina de forma a reduzir a população microbiana; 2) 12 a 24 horas de jejum com limpeza visceral; 3) recolonização com uma dose oral ou rectal de uma composição microbiana representativa da normalidade; e 4) toma diária da mesma dose menos concentrada, durante sete a oito semanas (Kang et al., 2017). Apesar de preliminar e inovador, reporta, acima de

tudo, a associação entre o funcionamento da microbiota intestinal e o funcionamento neurológico.

Apesar desta evidência que relaciona a toma de antibióticos com a PEA, não é claro se são os antibióticos ou o motivo da sua toma que despoleta as alterações verificadas. Por exemplo, os antibióticos sintéticos sulfonamidas são antagonistas de folato (ácido fólico ou vitamina B9), cuja alteração está implicada no aumento do risco de PEA e justifica a suplementação periconceptual de folato (Atladdottir et al., 2012). Esta dualidade de interpretação sobre a relação entre os antibióticos e a PEA é coerente com a argumentação desenvolvida ao longo desta tese, principalmente, pelo facto de ser indissociável.

Caso sejam os antibióticos a *causa* de PEA ou de alterações de neurodesenvolvimento, é coerente com o impacto que a disbiose intestinal apresenta no funcionamento imunológico de consequência neurológica. No entanto, esta relação já foi demonstrada como sendo parcial e não total. Por outro lado, se é o motivo da toma dos antibióticos a *causa*, então será certamente uma causa infecciosa de envolvimento imunológico e que, por si só, tem impacto no neurodesenvolvimento neurológico, sendo igualmente coerente com a argumentação aqui exposta relativamente à PHDA.

Esta forte referência relativa à PEA, como Perturbação do Neurodesenvolvimento, auxilia a justificação de que parece inevitável que a PHDA surja associada igualmente a alterações microbióticas e imunológicas como factor etiológico. Claro que a PEA e a PHDA, apesar de apresentarem algumas sobreposições etiológicas, devem ser abordadas como perturbações independentes. No entanto, dada a complexidade no neurodesenvolvimento, poderá ser facilmente conceptualizado que pequenas alterações possam ter inúmeros desfechos neuronais e de redes neurais.

Por fim, relativamente à utilização de antibióticos durante o primeiro ano de vida, esta foi associada a piores resultados cognitivos, comportamentais e de humor em crianças (Slykerman et al., 2017). Estas alterações estão possivelmente relacionadas com a alteração dos metabolitos, associados à disbiose, e com o impacto no funcionamento de sistemas, como o caso do eixo HPA (Slykerman et al., 2017). A utilização de antibióticos nos primeiros dois anos de vida foi também identificado como um factor de risco de asma, dermatite atópica e rinite alérgica aos cinco anos de vida (Yamamoto-Hanada et al., 2017). Estes três resultados são novamente coerentes com a argumentação até então realizada. A Figura 6-7 representa a possível conceptualização da ligação entre a toma de antibióticos e a contribuição etiológica para a PHDA.

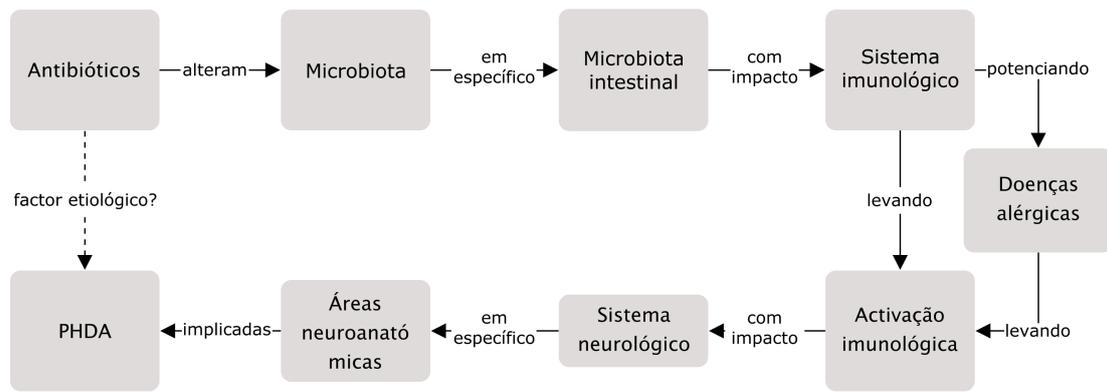


Figura 6-7 Ligação conceptual entre a toma de antibióticos e o risco de Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Figura original ("CmapTools," 2017).

Conclusões-chave do Argumento H

O uso de antibióticos está associado à alteração de todos os conceitos-chave associados a um microbioma saudável expostos no capítulo 5: 1) alteração dos mecanismos da primeira colonização (de acordo com a Teoria da Biogeografia das Ilhas); 2) redução da diversidade; 3) redução da constituição; 3) alteração da estabilidade; e 4) alteração do núcleo funcional (de acordo com a Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia);

O impacto dos antibióticos no Microbioma Humano, em especial no intestinal, apresenta coerência com todos os argumentos anteriores do capítulo 6, que suportam a conceptualização da sua ligação às alterações neuroanatómicas da PHDA;

Na PEA, uma nova intervenção baseada num protocolo de transferência de microbiota intestinal suporta, preliminarmente, a associação entre o funcionamento da microbiota intestinal e o funcionamento neurológico;

A dualidade de interpretação sobre a relação entre os antibióticos e a PEA é coerente com a argumentação desenvolvida ao longo desta tese, principalmente, pelo facto de ser indissociável;

O envolvimento imunológico nas alterações de neurodesenvolvimento da PEA é totalmente coerente com a argumentação exposta neste capítulo 6, relativamente à PHDA;

Sendo que a disbiose intestinal altera o metabolismo digestivo, pela alteração da sensibilidade à insulina (relacionado com a obesidade) e do metabolismo dos AGCC, pode ser considerada a hipótese de ser esta a ligação da comorbilidade da obesidade com a PHDA;

A relação dos antibióticos com a obesidade (pela alteração da microbiota intestinal), doenças imunológicas (pela alteração da microbiota local e intestinal, de ligações imunológicas), funcionamento neurológico cognitivo (pelo eixo intestino-encefálico e sistema neuro-imuno-transmissor dopaminérgico), novas infecções tardias e perda de funções (pelo desequilíbrio do ecossistema da microbiota) apresentam relação com a etiologia da PHDA, sendo coerentes com a argumentação desta tese;

Parece inevitável que surjam associadas à etiologia da PHDA as alterações microbióticas e imunológicas.



6.I Argumento: a privação da exposição ambiental diminui a diversidade

A perda de diversidade Pós-Higiene mudou o perfil imunológico sendo coincidente com a afectação neuronal da PHDA.

Desde a década de 1950 que tem despertado interesse científico o aumento dos casos de Esclerose Múltipla, Doença de Crohn, diabetes e asma, contrariamente à diminuição dos casos de papeira, sarampo, tuberculose e outras doenças imunológicas devido à vacinação, antibióticos e aumento das condições higiénicas (Scudellari, 2017). Na década de 1990 iniciou-se a procura de respostas sobre a suposição de que a redução de infecções poderia estar a causar alterações no sistema imunológico. O início desta suposição surge em 1989, num estudo epidemiológico de 17 414 crianças britânicas seguidas durante 23 anos, motivado pelo aumento continuado da febre dos fenos³⁷ dos 30 anos antecedentes e que coincidia com os casos de asma e eczema atópico. Dos 16 factores estudados, somente foi encontrada relação com o tamanho da família e com a posição de irmão mais novo no agregado familiar. É adiantada a possibilidade de que as doenças alérgicas poderiam ser prevenidas através do contacto *não-higiénico* com os irmãos mais velhos e do contacto da mãe com estes irmãos durante a gestação. A redução do tamanho familiar e as melhorias de higiene pessoais e domiciliarias poderiam reduzir a oportunidade de transmissão cruzada entre os membros da família (Strachan, 1989). Apesar da utilização do termo *higiene* apenas ser usada no título desse estudo, teve como consequência o surgimento posterior da Hipótese da Higiene (do inglês, *hygiene hypothesis*) (Scudellari, 2017; Shunsheng Han, 2016).

³⁷ Nomenclatura tradicional significando o mesmo que rinite alérgica principalmente de impacto sazonal.





6.I.1 Argumento: a Hipótese da Higiene coincide com o aparecimento das doenças alérgicas

A exposição microbiana precoce treina adequadamente o sistema microbiota-imunológico.

O crescimento Pós-Moderno das doenças alérgicas tem sido imputada a esta noção de Higiene, sendo um dos principais aspectos que justifica como as doenças alérgicas afectam, actualmente, 20% a 40% da população mundial industrializada (Allaerts & Chang, 2017). A Hipótese da Higiene tem uma nomeação que pode induzir a erros de interpretação. Não se refere à não utilização de hábitos de higiene, como lavar as mãos. Actualmente, refere-se à importância da exposição precoce a micróbios *amigáveis* não-patogénicos, de forma a treinar o sistema imunológico e com os quais os factores de higienização reduziram o contacto (Tabela 6-5).

Tabela 6-5 Os primeiros factores da Higiene associados às doenças alérgicas

-
- Separação da água a consumir da água de saneamento não tratada;
 - Cloração da água;
 - Mudanças nos métodos de agricultura de cultivo;
 - Separação do saneamento proveniente da agricultura;
 - Restrição à defecação nos campos de cultivo;
 - Aplicação de regulamentos nos matadouros;
 - Industrialização nos países mais desenvolvidos;
 - Controlo alimentar;
 - Utilização de sapatos;
 - Restrição de banhos em águas contaminadas;
 - Tratamentos médicos preventivos regulares, como antibióticos;
 - Diminuição da exposição aos animais domésticos;
 - Diminuição do contacto com familiares e famílias mais pequenas;
 - Diminuição da exposição às bactérias do solo.
-

Tabela traduzida e adaptada (Platts-Mills, 2015).

O mecanismo molecular pelo qual a exposição precoce microbiana é um factor de protecção imunológica assenta na consideração de que as infecções por bactérias e protozoários activam as células Th1, potenciando a libertação de citocinas. Esta exposição incentiva as células dendríticas imaturas, que aprendem a reconhecer estes microorganismos não-patogénicos e estimulam a actividade dos Treg, que através da produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-

10 e TGF- β), permitem a regulação do perfil imunológico (G. A. W. Rook & Lowry, 2008; G. A. W. Rook, Raison, & Lowry, 2014; Scudellari, 2017). A exposição continuada a estes micróbios não-patogénicos aumenta, assim, a circulação de citocinas anti-inflamatórias de forma a continuamente suprimir a resposta, criando um ambiente não-inflamatório e, desta forma, não contribuindo para o aumento progressivo do estado de activação imunológica (G. A. W. Rook et al., 2014). Assim, a redução do contacto a estes agentes, reduz a actividade dos Treg e Th1 que, de forma compensatória, aumentam a acção dos Th2 (associados às doenças alérgicas e produtoras de citocinas pró-inflamatórias) (G. A. W. Rook & Lowry, 2008; Scudellari, 2017). Esta acção moduladora do sistema imunológico foi observada em bactérias provenientes do solo, lama e sedimentos dos rios que apresentavam uma especial aptidão para activar a resposta inata das células dendríticas (Indrelid, Kleiveland, Holst, Jacobsen, & Lea, 2017). A falta de infecções, incluindo as subagudas, durante a infância, diminui a actividade de Th1, aumenta a actividade de Th2 e altera o perfil imunológico para um aumento de Th e redução de Treg, que por sua vez aumenta o risco de doenças alérgicas. Esta exposição é totalmente coerente com esta argumentação que conceptualiza um impacto contributivo etiológico na PHDA. Coincidentemente, esta mesma hipótese foi aplicada à Doença de Alzheimer, considerada uma doença inflamatória sistémica, que demonstra um perfil similar às doenças auto-imunes com aumento de Th1 (Hu et al., 2016).

Algumas fragilidades foram levantadas relativamente a este conceito, como o caso dos parasitas e dos helmintos (Allaerts & Chang, 2017). Desde a ramificação dos vertebrados, há cerca de 300 milhões de anos, que a exposição continuada aos helmintos ocorre. A relação comensal que ocorre poderá ser explicada, por um lado, pelas vantagens nutricionais dos vertebrados aos helmintos e, por outro lado, a coabitação de helmintos nos vertebrados conferiu uma vantagem evolutiva imunológica. O mecanismo exacto ainda não é totalmente compreendido actualmente (Allaerts & Chang, 2017), mas a hipótese aceite assenta no mecanismo de ensinamento imunológico descrito no parágrafo anterior.

A incoerência da explicação apresentada surge porque a infecção por helmintos é comum nos países em desenvolvimento e está associada a um menor risco de alergia, porém, é observado um aumento da actividade de Th2, não de Th1. No entanto, a justificação para esta incoerência assenta no próprio mecanismo do parágrafo anterior. A exposição a longo prazo aos helmintos aumenta a produção de produtos anti-inflamatórios, como a IL-10, que está inversamente relacionada com as alergias (Scudellari, 2017). A forma como esta exposição treina o sistema imunológico parece assentar não no que deve ser atacado, mas no que deve ser tolerado, como o caso da microbiota humana inofensiva (ver capítulo 5 e argumento B) que evolutivamente têm acompanhado a espécie humana (ver argumento J), sendo coerente com a argumentação desta tese.

Outras incoerências ocorrem no sarampo e nas doenças respiratórias, que não são protectivas contra as doenças alérgicas, chegando mesmo a aumentar o risco (Scudellari, 2017). Ou

porque os hábitos de higiene pessoal (lavar as mãos ou banho) estão associados a uma redução dos níveis de endotoxinas e ácido murâmico, cujo nível aumentado está associado ao menor risco de alergias (A. H. Liu, 2015). Apesar de parecer incoerente com a Hipótese da Higiene, é coerente com a importância da primeira exposição e o facto de esta ditar a constituição da microbiota.

A exposição precoce microbiana não-patogénica inicia-se na gestação, no parto vaginal, no contacto com a mãe, com a amamentação, com o contacto com os membros da família e animais, o brincar no exterior, no contacto com a natureza e na partilha de brinquedos (S. Gupta, 2017; Scudellari, 2017). Por exemplo, o contacto com animais de estimação diminui o risco de doenças imunológicas e metabólicas, através da diminuição dos níveis de IgE (marco de reacções alérgicas), do aumento da diversidade da microbiota intestinal (mesmo na exposição pré-natal) e aumento da riqueza de espécies do filo *Firmicutes* (famílias *Clostridiaceae*, *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*), comuns na microbiota intestinal saudável e que reduzem o *stress* oxidativo no intestino (ver subcapítulo 5.2.5.1, relativo à colonização contínua) (S. Gupta, 2017; Tun et al., 2017). Esta exposição precoce tem impacto no microbioma intestinal onde, por exemplo, a presença de irmãos mais velhos provoca um aumento dos géneros de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia* e *Bacteroides* com uma redução de *Clostridia* (A. H. Liu, 2015). Estes resultados são coerentes com o argumento de que existe uma ligação entre o microbioma, o sistema digestivo e as doenças neurológicas (ver argumento B) porque: 1) as bactérias pertencentes a *Clostridia* são produtoras de citocinas pró-inflamatórias; 2) o desequilíbrio nas comunidades intestinais de *Clostridia*, *Desulfovibrio* e *Bifidobacterium* leva a processos inflamatórios locais e de alteração da permeabilidade intestinal; e 3) *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as principais bactérias produtoras de AGCC e induzem a produção de citocinas anti-inflamatórias. Assim, a privação à exposição dos factores ambientais rurais e familiares apresenta coerência com o mecanismo etiológico da PHDA aqui conceptualizado, através da alteração da microbiota intestinal que, pelos argumentos relativos ao eixo intestino-encefálico, afectam as áreas neuroanatômicas da PHDA.

Um dos exemplos possíveis de ser observado actualmente, é relativo à população *Amish*, um grupo cristão anabatista e cujo estilo de vida tradicional se assemelha ao do século XIX. Na comparação entre as crianças *Amish* americanas, crianças suíças do meio rural e crianças suíças do meio não-rural, as crianças *Amish* apresentam uma menor prevalência de doenças alérgicas, seguidas das crianças suíças de meio rural e por fim das crianças de meio não-rural (A. H. Liu, 2015). O facto dos *Amish* apresentarem uma média de seis crianças por família assemelha-se à suposição inicial feita por Strachan (1989) e o estilo de vida à construção da Hipótese da Higiene. No entanto, estas duas observações são feitas em países em que estas populações estão inseridas num meio com acesso a água potável desde há muitos anos, os helmintos não são um problema e somente uma pequena proporção é exposta aos animais domésticos de quinta. No entanto, actualmente continuam a existir várias comunidades com

um estilo de vida pré-Higiene cuja água é contaminada por saneamento não tratado, as infecções por helmintos são frequentes e as crianças brincam descalças e fora de casa. Países como o Quênia, Gana e Equador ou pequenas vilas e cidades europeias, apresentam actualmente este padrão de mudança para a modernização (Platts-Mills, 2015). Em suporte a este argumento, o acompanhamento epidemiológico longitudinal demonstra que em países de menor desenvolvimento os perfis de imunorregulação são eficazes e caracterizados por uma resposta inflamatória intensa durante a infecção que, quando resolvida, retorna o sistema imunológico ao ponto inicial (representado pelos valores de proteína C-reactiva) (G. A. W. Rook et al., 2014).



6.1.2 Argumento: a progressão das doenças imunológicas é coincidente com a da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O efeito cumulativo dos factores ambientais disbióticos alteraram o perfil imunológico com impacto nas neuroalterações da PHDA.

Dado o impacto da espécie humana nos ecossistemas em que se encontra inserida, a análise dos potenciadores ambientais das doenças imunológicas obriga a uma breve retrospectiva histórica desde os primeiros casos reportados. A primeira descrição da febre dos fenos surge em 1828 e as suas primeiras investigações em 1870 relativas ao pólen e, especificamente, à ambrósia. Nesta altura, apenas a febre dos fenos era reconhecida como uma doença alérgica, com o aumento reportado na Alemanha, Reino Unido e Estados Unidos da América. Somente em 1970 são reportados os primeiros casos de asma pediátrica e, em 1990, a *epidemia* das alergias alimentares. A febre dos fenos surge na parte final do século XIX e na primeira metade do século XX. Nesta fase, o pólen e a ambrósia já estavam presentes em grandes níveis, o que não é coincidente com o momento do aumento da reacção alérgica a estas substâncias e, posteriormente, com o grande aumento dos casos de rinite, asma e alergia alimentar (Platts-Mills, 2015). Antes, as mudanças que surgem coincidentemente são relativas no aumento das condições de saneamento, higiene, controlo alimentar e da água, utilização de antibióticos, menores famílias e menor contacto social. Estes factores estão a limitar que ocorra um contacto microbiano que educa o sistema imunológico e que, sem este contacto, se torna naturalmente hiper-reactivo e sem aprendizagem prévia do que deve ou não ser atacado (Scudellari, 2017).



A coerência temporal com a Hipótese da Higiene é muito plausível e suportada por várias ligações. Vários eventos da segunda metade do século XIX podem ter contribuído para o surgimento e aumento da rinite alérgica (Platts-Mills, 2015). Na agricultura, no Reino Unido, foram adoptadas grandes medidas após a reforma das leis do milho em 1847. Esta reforma permitiu a importação de trigo barato, proveniente da Ucrânia, tendo como resultado o aumento dos terrenos de pousio. Entre 1850 e 1880 são introduzidos os gados para lacticínios e com isso a erva italiana *Lolium perenne* com uma polinização mais intensa. Nos Estados Unidos da América o aumento das terras para cultivo terá aumentado as populações de ambrósia. Apesar de nesta fase existir pouca aceitação da Teoria dos Germes (referida no subcapítulo 5.1.1), na higiene pública surgem as primeiras medidas, também no século XIX, como a separação da água de consumo e água de saneamento (Platts-Mills, 2015). A Tabela 6-6 expõe temporalmente as principais medidas utilizadas na cidade de Nova Iorque, a título de exemplo da representação das grandes cidades.

Tabela 6-6 Principais medidas relativas às doenças alérgicas na cidade de Nova Iorque

Data	Medida
1900	Utilização de sapatos é universal; identificadas as fontes de água limpa;
1920	Helmintos e malária erradicados; cloração da água completa;
1924	Último matadouro encerrado; cavalos menos comuns;
1932-1950	Aumento de 10% a 13% das doenças alérgicas;
1946	Ambrósia erradicada;
1982	Asma considerado o principal problema médico, posteriormente substituído pelo vírus da SIDA;
1996	Noticiada a epidemia de asma;
1997	Declarada a guerra aos ratos.

Legenda: SIDA Síndrome da Imunodeficiência Adquirida.

Tabela traduzida e adaptada (Platts-Mills, 2015).

O aumento das doenças alérgicas só começou após a introdução das principais medidas de Higiene (Figura 6-8). Apesar de no caso das doenças alérgicas e da PHDA existirem relatos milenares históricos que reportam a sua existência (Lange, Reichl, Lange, Tucha, & Tucha, 2010; Ring, 2014), assim como, ser observado o mesmo padrão histórico nas perturbações do foro mental, estas doenças não eram prevalentes o suficiente para serem consideradas um problema generalizado (Davison, 2006; Lovell & Susser, 2014; Millon, 2004). O aparecimento e o crescimento abrupto das doenças alérgicas pós-Higiene é coincidente com o aparecimento da PHDA cujas primeiras descrições surgem na transição do século XIX (Lange et al., 2010; Matthews et al., 2013).

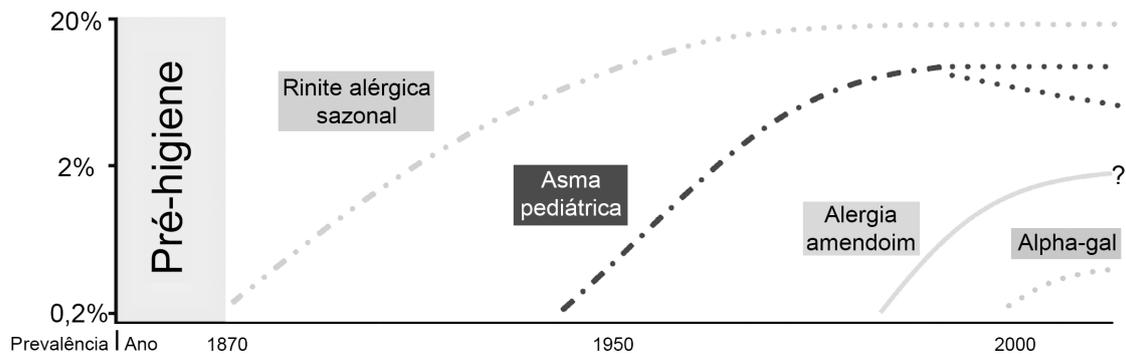


Figura 6-8 Progressão das doenças alérgicas

O oligossacarídeo Galactose-alfa 1,3-galactose (Alpha-gal) representa o surgimento da alergia a carne vermelha de mamífero.

Legenda: Alpha-gal Oligossacarídeo Galactose-alfa 1,3-galactose.

(Kwak, Somerville, & van Nunen, 2018; Platts-Mills, 2015; van Nunen, 2018). Figura traduzida e adaptada (Platts-Mills, 2015).

Desde que as doenças alérgicas foram consideradas um problema sério na sociedade moderna que os esforços da investigação permitiram reduzir, ainda longe de controlar, o crescimento até então observado. Este abrandamento é também coincidente com a estabilização da prevalência da PHDA observada nas últimas três décadas (Platts-Mills, 2015; G. V. Polanczyk et al., 2014).

Coerente com esta relação é o facto de que as doenças alérgicas mais comuns nos países desenvolvidos não são observadas actualmente em países como o Quênia, Etiópia, Equador e Gana (Platts-Mills, 2015). Ou, noutro exemplo, os imigrantes que chegam aos grandes centros urbanos adquirem as doenças *modernas*, que posteriormente se repercutem no indivíduo ou na descendência imediata (G. A. W. Rook et al., 2014). Mesmo num possível cenário de coerência internacional dos comportamentos identificados (ver subcapítulo 2.2), poder-se-ia especular que a PHDA também é inferior nos países em desenvolvimento, dado que existem resultados que se contradizem (Bauermeister et al., 2010; Chinawa et al., 2014; Fayyad et al., 2017). Esta especulação deve ser muito cuidadosa por existirem grandes implicações sociológicas nos comportamentos considerados desadequados, por existirem factores únicos entre os vários países em desenvolvimento e porque os países em desenvolvimento apresentam um risco genético (como consanguinidade), nutricional (como deficiência de vitamina A, iodo e ferro), infeccioso (como rubéola, encefalite, meningite, sífilis e sarampo) e de envenenamento ambiental (como por chumbo) que tem um impacto global nas Perturbações do Neurodesenvolvimento (Yeargin-Allsopp & Boyle, 2002). Assim, não será traçada nenhuma conclusão, por não existir, actualmente, evidência que a suporte. A possibilidade da menor presença de doenças alérgicas nos países em subdesenvolvimento, por si só, já suporta a argumentação desta tese dada o íntimo funcionamento imuno-neurológico.

Como demonstrado, o crescimento das doenças alérgicas não ocorreu antes das primeiras mudanças de Higiene (Tabela 6-6), no entanto, são necessários outros factores para além da

Higiene para justificar o contínuo aumento das doenças alérgicas, o aparecimento da asma e o nível de epidemia que ocorre concomitantemente (Platts-Mills, 2015). O aumento da asma ocorre por volta dos anos de 1960 e torna-se óbvia em todas as sociedades pós-Higiene. De todos os factores envolvidos (Tabela 6-7), este crescimento é coincidente com o aparecimento da televisão e com a mudança das actividades de lazer para o interior de casa (Platts-Mills, 2015). Por exemplo, no Reino Unido, mais de 80% da população vive em meios urbanos e 90% do seu tempo é passado no interior de casa (Karkman, Lehtimaki, & Ruokolainen, 2017). Esta mudança apresenta várias consequências como a restrição à exposição exterior não-patogénica, o aumento da exposição aos alérgenos interiores, a redução do nível de actividade, a obesidade e a perda da capacidade física de implicação pulmonar (Platts-Mills, 2015).

Tabela 6-7 Mudanças que contribuíram para continuar o aumento das doenças alérgicas e para o aparecimento de asma

Aumento do número de medidas de imunização e vacinação:

Pela alteração do perfil imunológico, como o aumento de Th2 em resposta à presença de alúmen (composto químico contido nas vacinas).

Aumento progressivo do uso de antibióticos de largo espectro:

Pelo impacto no Microbioma Humano.

Uso de paracetamol para tratamento de febre infantil:

Introduzido para substituição da aspirina porque podia induzir a Síndrome de Reyes, mas que por sua vez contribuiu para a asma.

Surgimento do entretenimento de interior, principalmente pela televisão e programas infantis:

Diminuição da exposição a bactérias não patogénicas; diminuição da actividade física; obesidade; mudanças de conforto domiciliário como diminuição da ventilação, carpetes, mobiliário e aumento da temperatura.

Obesidade:

Potenciada pela mudança de estilo de vida de interior, com menos actividade, e pela mudança de hábitos alimentares. A menor capacidade física provoca a perda da capacidade respiratória e de distensão dos músculos lisos pulmonares.

Aumento da exposição ao ambiente interior:

Levando a menor exposição exterior, menos actividade física e aumento dos alérgenos de interior.

Aumento da poluição do ar:

Possível contribuição, mas não a causa, uma vez que as populações não-industrializadas apresentam os mesmos níveis de asma.

Aquecimento global:

Possivelmente o aumento de dióxido de carbono e da temperatura potencia a produção de pólen, no entanto, estes dados não afectam os alérgenos interiores que são principalmente implicados na asma.

Legenda: Th2 Tipo 2 de *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar.

Tabela traduzida e adaptada (Platts-Mills, 2015).

O conceito de que os factores iniciais continuaram a contribuir para o aumento das doenças alérgicas, mas que outros factores específicos levaram ao aparecimento da asma é coerente com o funcionamento celular imunológico. Foi recentemente descoberto o envolvimento central das células NKC no desenvolvimento de asma, tendo nos pulmões o local de maior frequência (Barnig & Levy, 2015; Lunding & Wegmann, 2015; Tubby et al., 2017; Umetsu, 2012). O agravamento da resposta inflamatória está associada à produção de várias citocinas pelos Th2 e Th17, em específico a IL do tipo 17A (IL-17A) (Lunding & Wegmann, 2015). Os NKC, como primeira linha de ataque, são também produtores de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ e IL-17A (Tabela 6-2 e 6-3). Mantém-se em dúvida a possibilidade de serem os NKC os responsáveis pelo agravamento inflamatório através da libertação da IL-17A (Lunding & Wegmann, 2015). Assim, possivelmente serão os Th2 e Th17 responsáveis pela produção das citocinas pró-inflamatórias activadoras dos NKC. O mecanismo imunológico da Hipótese da Higiene (de diminuição de Treg e Th1 e aumento de Th2) é complementar a este envolvimento dos NKC, sendo possivelmente o mecanismo antecedente. A activação da acção rápida dos NKC, maioritariamente presentes nos pulmões, é potenciada pelo aumento de Th2 e das suas citocinas inflamatórias devido à falta de infecções, incluindo as subagudas, durante a infância.

Dada a intrínseca ligação entre os NKC e o sistema inato (Barnig & Levy, 2015), a activação prévia imunológica derivada dos primeiros mecanismos de Higiene (Tabela 6-5), já predispõe à resposta dos NKC quando foram ambientalmente adicionados os mecanismos associados à asma (Tabela 6-7). Por exemplo, o caso das infecções víricas que representam um factor de risco para a asma, contribuindo até 60% da exacerbação da asma (Denise Daley, 2014). Claro que uma mudança para um perfil imunológico de diminuição de Treg e aumento de Th2 poderia, por si só, desencadear a acção dos NKC nos pulmões e com isso provocar desde o início o aparecimento de asma. Isto pode de facto ter acontecido, dados os relatos milenares das doenças alérgicas. No entanto, historicamente não terão havido tantos factores conjugados de impacto pulmonar como os que surgem na entrada do período industrializado e de grande desenvolvimento (Tabela 6-7). Estes factores tão específicos adicionados a perfis imunologicamente já predispostos poderão ter resultado no aparecimento generalizado da doença. A continuada exposição, sempre com uma tendência de aumento, terá ditado o crescimento abrupto dos casos de asma. Assim, a conjugação temporal dos factores pós-Higiene apresentam coerência com o crescimento das doenças alérgicas e que, por sua vez, através da íntima relação *microbiota-imuno-neurológica*, podem justificar a similaridade do crescimento da PHDA. Esta suposição da relação entre as doenças alérgicas, as doenças mentais e a saúde pública já foi sinalizada (Lowry et al., 2016), tendo sido especificamente ligada com a PEA (Becker, 2007). Ambas as situações estabelecem a sua ligação pelos mecanismos de inflamação, sendo coerentes com o centro desta conceptualização. Caso esta argumentação se mostre acertada, através do eixo intestino-encefálico, então deverão existir factores específicos alimentares que, juntamente com a predisposição inicial, justifiquem o crescimento das alergias alimentares (de seguida abordado).

Conclusões-chave do Argumento I

Os factores de Higiene estão a limitar que ocorra um contacto microbiano que educa o sistema imunológico e que, sem este contacto, se torna naturalmente hiper-reactivo e sem aprendizagem prévia do que deve ou não ser atacado;

A forma como a exposição treina o sistema imunológico parece assentar não no que deve ser atacado, mas no que deve ser tolerado, como o caso da microbiota humana inofensiva (ver capítulo 5 e argumento B) que evolutivamente têm acompanhado a espécie humana (ver argumento J), sendo coerente com a argumentação desta tese;

A privação à exposição dos factores ambientais rurais e familiares apresenta coerência com o mecanismo etiológico aqui conceptualizado da PHDA, através da alteração da microbiota intestinal que, pelos argumentos relativos ao eixo intestino-encefálico, afectam as áreas neuroanatómicas da PHDA;

A falta de infecções, incluindo as subagudas, durante a infância, diminui a actividade de Th1, aumenta a actividade de Th2 e altera o perfil imunológico para um aumento de Th e redução de Treg que, por sua vez, aumenta o risco de doenças alérgicas. Este mecanismo é totalmente coerente com a argumentação deste capítulo 6, que conceptualiza um impacto contributivo etiológico na PHDA;

A conjugação temporal dos factores pós-Higiene apresentam coerência com o crescimento das doenças alérgicas e que, por sua vez, através da íntima relação *microbiota-imuno-neurológica*, podem justificar a similaridade do crescimento da PHDA;

O aparecimento e o crescimento abrupto das doenças alérgicas pós-Higiene são coincidentes com o aparecimento da PHDA, cujas primeiras descrições surgem na transição do século XIX;

A possibilidade da menor presença de doenças alérgicas nos países em subdesenvolvimento, por si só, já suporta a argumentação desta tese, dado o íntimo funcionamento imuno-neurológico;

Desde que as doenças alérgicas foram consideradas um problema sério na sociedade moderna, os esforços de investigação permitiram reduzir, ainda longe de controlar, o crescimento até então observado. Este abrandamento é também coincidente com a estabilização da prevalência da PHDA observada nas últimas três décadas;

O mecanismo imunológico da Hipótese da Higiene, de diminuição de Treg e Th1 e aumento de Th2, pode ser o mecanismo antecedente e que complementa o envolvimento dos NKC na asma.



6.J Argumento: os processos naturais evolutivos sofreram uma rápida mudança

Os recentes factores ambientais são disbióticos, inflamatórios e alteram os mecanismos biológicos basilares humanos.

Analogamente ao exemplo da asma, o aparecimento e o forte crescimento das alergias alimentares poderão ser representativos da predisposição imunológica pelo início da Higiene e, posteriormente, pelo aparecimento de novos factores ambientais. À semelhança do argumento I, esta consideração deve ser iniciada de forma ampla abrangendo o nível paleobiológico (antes da cultura), arqueológico (cultura não-escrita) e de material histórico relevante. Esta abordagem ampla procura contrariar um dos pontos fracos reportados da análise epidemiológica de que as doenças são isoladamente analisadas num espaço de tempo restrito (Zuckerman, Harper, Barrett, & Armelagos, 2014).



6.J.1 Argumento: o ritmo do processo evolutivo é aumentado após a agricultura

As mudanças evolutivas após o recente surgimento da agricultura são imensamente mais rápidas.

À semelhança do processo evolutivo de qualquer espécie, a história humana é centrada nos recursos necessários à sobrevivência. A linhagem humana divergiu dos chimpanzés há seis milhões de anos (J. Diamond, 2002), representando a terceira transição dos primatas (Last, 2014). A pressão selectiva de genes associados a cérebros maiores (Sousa, Meyer, Santpere, Gulden, & Sestan, 2017) permitiu que na espécie humana, diferente geneticamente em 99,8% dos outros primatas, fosse atingido o controlo do fogo há 790 000 anos pelo *Homo erectus*, o que representou umas das principais etapas de controlo do ambiente. Permitiu a possibilidade de cozinhar os alimentos, alterou a sua exposição ao ambiente microbiano e, ultimamente, teve um impacto no seu sistema imunológico (Allaerts & Chang, 2017). Esta utilização do fogo



foi difundida pelo *Homo sapiens*, há 125 000 anos, sendo igualmente adoptada pela subespécie *Homo sapiens neanderthalensis*, adaptada ao clima frio do continente Eurásia³⁸.

Esta transferência cultural entre o *Homo sapiens* e o *Homo sapiens neanderthalensis* assenta na hipótese da sua coabitação com inter-reprodução em várias regiões da Eurásia e que termina com o genocídio da subespécie Neandertal há cerca de 40 000 anos (Allaerts & Chang, 2017). A coincidência desta extinção com a expansão do *Homo sapiens* proveniente de África e do médio oriente (J. Diamond, 2002; Shelley-Tremblay & Rosen, 1996), após alguns milhares de anos de coexistência (Hockings et al., 2015), poderá ser justificada pela conjugação de vários factores: o aumento da competição por espaço, recursos e comida (Hockings et al., 2015), possivelmente derivada da crescente necessidade de recursos associada a encéfalos progressivamente maiores (Sousa et al., 2017); uma taxa de reprodução superior por parte do *Homo sapiens* (Shelley-Tremblay & Rosen, 1996); pelo estilo de vida de caçador-recolector representar uma grande dependência do ambiente e flexibilidade de deslocação migratória; e pelas mudanças climáticas imprevisíveis do final do Pleitoceno (J. Diamond, 2002).

Dois eventos genéticos são coincidentes com esta altura e relevantes para esta conceptualização. Um é relativo à transferência genética do alelo Antigénico Leucocitário Humano classe 1 (HLA-class 1, do inglês, *Human Leukocyte Antigen class 1*) dos hominídeos de Neandertal e de Denisova para os europeus humanos (posteriormente introduzido em África) e que está associado a fortes ligantes das NKC (implicadas na asma), dando suporte à hipótese da inter-reprodução (Allaerts & Chang, 2017). O hominídeo de Denisova, separado da linhagem do *Homo sapiens neanderthalensis* há, pelo menos, 190 000 anos, também coabitou a região da Sibéria antes da sua extinção, deixando um legado de traços no *Homo sapiens* actual (Slon et al., 2017; Zanolli, Hourset, Esclassan, & Mollereau, 2017).

O outro evento genético é relativo ao gene codificador de DRD4 (principal gene implicado na PHDA. Ver subcapítulo 2.3.1.2). Este gene apresenta uma idade calculada superior a 300 000 anos, representando um dos alelos progenitores humanos (Ding et al., 2002; Thagaard, Faraone, Sonuga-Barke, & Ostergaard, 2016). Pelo contrário, a mutação do gene DRD4-7R apresenta uma idade compreendida entre os 40 000 e os 50 000 anos, tendo sido sujeito a uma forte pressão evolutiva (Thagaard et al., 2016; E. Wang et al., 2004). As alterações nestes genes codificadores estão associados à possível alteração de sensibilidade à dopamina. Assim, esta alteração de sensibilidade é conceptualizada como se traduzindo num aumento de comportamentos de risco, procura de novidade e de resposta rápida e um aumento da capacidade de vigilância e atenção múltipla. Estes traços terão sido precursores da vantagem evolutiva, com selecção sexual positiva, durante a necessidade de expansão e êxodo de África (E. Wang et al., 2004). Por outro lado, a violência associada ao genocídio induzido pelo *Homo sapiens*, poderá ter sido outro factor de selectividade genética, neste caso, dos traços de

³⁸ Massa terrestre conjugada do continente Europeu e Asiático.

agressividade (Shelley-Tremblay & Rosen, 1996). A possibilidade de estas serem as origens genéticas da PHDA corresponde à suposição central da Teoria do caçador-agricultor (ver subcapítulo 2.3.5).

A argumentação aqui exposta estende este fundamento ao gene codificador de DRD4, através da relação entre o sistema imunológico e o neurológico e através do neuro-imuno-transmissor de dopamina. Sendo a dopamina um neuro-imuno-transmissor e estando as NKC envolvidas no processo alérgico, estas poderão ser as origens da predisposição genética que foi observada com a entrada no período da Higiene. Igualmente, reforça a Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica na PHDA (Figura 6-6) de que um genótipo de alteração dopaminérgica aumenta a susceptibilidade para a PHDA, quando exposto a factores ambientais inflamatórios e disbióticos, pelos mecanismos de alteração do perfil imunológico.

Com a entrada no Holoceno e com os milénios seguintes, o estilo de vida de caçador-recolector dominou, sendo observado um aumento da densidade de população. Ocorreram modificações ambientais graduais resultantes do processo selectivo de recolha e caça de determinadas espécies de plantas e animais, com o aparecimento de novas ferramentas e invenções que reduziram o contacto com organismos infecciosos, como sapatos e roupa (Allaerts & Chang, 2017; J. Diamond, 2002).

Uma nova transição ocorreu por volta de 8500 a.C., com o aparecimento da agricultura e a domesticação de animais. No curto espaço de 6000 anos, até 2500 a.C., este novo estilo de vida surge de forma independente em nove grandes áreas distribuídas por quatro continentes. Esta mudança não terá ocorrido de forma leviana, uma vez que não existia nenhum modelo de agricultura e de domesticação, nem uma noção de quais as consequências. Os registos arqueológicos e etnográficos demonstram que esta transição resultou inicialmente em mais trabalho, diminuição da estatura, pior condição nutricional e aumento de doenças (J. Diamond, 2002).

Estas origens independentes, praticamente simultâneas, são o resultado de uma conjugação de factores que pressionaram o abandono da vida de caçador-recolector, que se mantinha desde há milhões de anos: 1) a conquista do ambiente pelo *Homo sapiens*, com a sua capacidade encefálica superior, permitiu uma ampla distribuição e um aumento da densidade populacional, o que aumentou a necessidade de recursos; 2) a melhoria das suas capacidades de caça levou a uma redução e extinção das presas maiores; 3) foi-se desenvolvendo a tecnologia de recolha e processamento de alimentos selvagens, fundamental no processo provocado de semeio; e 4) talvez o mais importante de todos os factores, é o facto da fase final do Pleistoceno, até cerca de 12 000 anos atrás, ser caracterizada por mudanças climáticas imprevisíveis de temperatura e chuva (J. Diamond, 2002).

Esta transição de caçadores-recolectores para produtores de comida local traduziu-se em mudanças profundas nas sociedades humanas. Permitiu a fixação numa região em vez de

migrações constantes e mudanças sazonais do abastecimento de comida. Este estilo de vida sedentário permitiu intervalos inferiores de nascimentos, pois no estilo nómada só é possível uma criança de colo, e permitiu um crescimento de alimento a um ritmo superior. Estes dois factores provocaram uma explosão demográfica humana que se mantém até aos dias de hoje. Por outro lado, o sedentarismo juntamente com o aumento de produção de comida permitiu a explosão tecnológica, pois permitiu a acumulação de tecnologia pesada como as forjas ou as prensas de impressão, que uma vida nómada não permitia. O excesso de comida levou à estratificação social, à política e aos exércitos. Terão sido as vantagens destes povos utilizadores de agricultura que levaram à substituição dos povos caçadores-recolectores e que justificam que 88% dos idiomas actuais pertençam apenas a sete famílias linguísticas (J. Diamond, 2002).

Após esta transição, os principais predadores de humanos tornaram-se as doenças infecciosas e epidémicas. Estas doenças não podiam existir antes das origens da agricultura onde a densidade das populações era muito inferior. São por isso denominadas doenças de multidão (do inglês, *crowd diseases*) (J. Diamond, 2002; Zuckerman et al., 2014). As origens de muitas destas doenças evoluíram do processo de domesticação e da agricultura, há cerca de 10 000 anos. A agricultura permitiu a produção de alimento mais calórico, no entanto, a custo da diversidade alimentar, o que se traduziu num compromisso nutricional, predispondo à infecção. Juntamente com a domesticação, permitiu a criação de populações humanas mais densas, com uma transmissão mais frequente entre humanos e animais, do que acontecia com os animais de caça ou pequenas comunidades, como o sarampo e a tuberculose que vieram das doenças do gado e a influenza dos porcos e patos (J. Diamond, 2002; Zuckerman et al., 2014). A estruturação da hierarquia social conferiu diferenças de condições, o que criou nas populações mais pobres reservatórios de infecções novas e recorrentes. Esta nova vulnerabilidade aos agentes infecciosos exerceu uma pressão evolutiva significativa na espécie humana, conferindo imunidade adquirida aos indivíduos expostos, o que desenvolveu uma resistência genética. A evolução destas doenças concentrou-se na região da Eurásia onde ocorria uma convivência com animais, uma vez que 13 dos 14 mamíferos domesticados eram espécies desta região. O impacto na evolução humana na região da Eurásia foi tão significativo que, cerca de 10 000 anos depois, estas doenças se tornaram uma das principais causas de morte dos povos nativos da América, Austrália, ilhas do Pacífico e sul de África aquando da chegada dos colonizadores europeus e asiáticos (J. Diamond, 2002).

A IgE, já referenciada nesta tese, é uma classe de anticorpos do sistema adaptativo produzido pelas células plasmáticas (ou células B efectoras) e associada aos processos inflamatórios e alérgicos. O seu processo evolutivo é muito anterior ao da espécie humana, com o seu início provavelmente na separação entre as aves e mamíferos, entre 300 e 350 milhões de anos atrás. Desta forma, a IgE não está presente nas aves, apesar destas apresentarem outras classes de anticorpos e componentes do sistema imunológico inato dos mamíferos como, por exemplo, os receptores das células T, citocinas e o complexo principal de histocompatibilidade

(MHC, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*). Desde há 150 milhões de anos atrás que a IgE está presente em todos os mamíferos, representando a sua importância no processo evolutivo conjunto com os microorganismos (Allaerts & Chang, 2017). A ligação ancestral da IgE à evolução humana acresce importância na sua análise actual. De facto, actualmente, a IgE é um marco sinalizador importante dos processos alérgicos.

Esta importância evolutiva é observada, por exemplo, na Teoria Polivagal, em que o desenvolvimento filogenético do nervo vago e dos ramos do SNA ainda hoje têm impacto na interpretação comportamental humana. Desta forma, a interpretação da IgE pode ter relevância para a análise imunológica actual da espécie humana. Três pontos observados relativamente à IgE são fundamentais para esta tese:

- a hipersensibilidade alérgica representa um processo de adaptação disfuncional;
- não são conhecidas alergias nos mamíferos selvagens, incluindo os chimpanzés, geneticamente similares ao ser humano;
- e os únicos animais com alergia são os humanos e animais domésticos expostos ao estilo de vida moderno actual (cães e gatos) (Allaerts & Chang, 2017).

Desta forma, dois cenários podem ser colocados: ou o ser humano está a perder a sua capacidade de adaptação ou o ambiente não está a permitir que esta adaptação ocorra. À semelhança da aceitação científica, a conceptualização aqui exposta suporta a segunda opção (Allaerts & Chang, 2017; Chang, 2014; Platts-Mills, 2015; G. A. Rook, 2013; Zuckerman et al., 2014).

A Tabela 6-8 expõe a diferença de exposição em cinco padrões: Primitivo, Pré-Moderno, Início-Moderno, Moderno e Ultra-Moderno.

O ritmo do desenvolvimento e da mudança ambiental variou consideravelmente entre as várias regiões mundiais. Actualmente, em locais isolados de países subdesenvolvidos ainda poderá existir um padrão de exposição aos antigénicos aproximado ao do padrão Primitivo. De uma forma geral, os países subdesenvolvidos e as regiões pobres dos países desenvolvidos apresentam uma exposição Pré-Moderna. Os países em desenvolvimento apresentam um padrão de início da Era Moderna, enquanto os países desenvolvidos apresentam um padrão Moderno. Nos países desenvolvidos, já é observado um padrão de exposição considerado Ultra-Moderno (Chang, 2014). Esta diferença de padrões traduz-se numa variação no padrão de exposição aos antigénicos.

Numa perspectiva evolutiva, a revolução da agricultura e da domesticação trouxe uma perda da variedade alimentar, um aumento da dependência dos alimentos produzidos, uma redução da exposição aos helmintos e uma exposição intensa a um reduzido número de alérgicos (Chang, 2014; J. Diamond, 2002). Por exemplo, das 148 espécies de mamíferos herbívoros e omnívoros disponíveis mundialmente somente 14 foram domesticadas. Por volta de 4000 a.C., os principais cinco animais, carneiro, cabra, vaca, porco e cavalo, tinham sido repetidamente

domesticados. O período desde a universalização da agricultura, incluindo o pastoreio animal, de 2500 a.C. até à entrada do século XIX, foi marcado pelo sucesso deste processo de produção alimentar, o que levou ao ciclo repetido do aumento da população humana que, por sua vez, aumentou a necessidade de mais recursos (J. Diamond, 2002). A explosão de condições e de população nos últimos 4000 anos, introduziu um factor até então inexistente relativo à rapidez nas mudanças de exposição ambiental e de mudança do ecossistema terrestre.

Tabela 6-8 Padrões de exposição aos antigénicos durante as etapas de modernização

Características de exposição	Primitivo	Pré-Moderno	Início-Moderno	Moderno	Ultra-Moderno
Infecção por helmintos.	+++++	++++	-	-	-
Contacto com o solo e água.	+++++	++++	+++	+	-
Água estéril tratada quimicamente.	-	-	-	++++	+++++
Alimentos fermentados.	+++++	++++	+++	++	+
Alimentos cozinhados.	+	++++	+++++	+++++	+++++
Corpo coberto e calçado.	+	++	++++	+++++	+++++
Lavagem das mãos.	-	+	+++	++++	+++++
Sabonete, detergente, desinfetantes.	-	+	+++	++++	+++++
Melhoria do tratamento de água e saneamento.	-	+	++	++++	+++++
Antibióticos e vacinas.	-	+	+++	+++++	+++++
Permanência em abrigos fechados.	-	+	++	++++	+++++
Exposição aos antigénicos aéreos.	+++++	++++	+++	++	+
Contacto das mucosas com os antigénicos.	+++++	++++	+++	++	+
Pouca variedade de antigénicos em grande quantidade.	-	-	+	+++	+++++
Probabilidade de desenvolver alergias.	-	+	++	++++	+++++
Severidade das doenças alérgicas.	-	+	++	++++	+++++

Tabela traduzida e adaptada (Chang, 2014).



6.J.2 Argumento: a nova exposição química Pós-Industrial não está estudada

As alterações da exposição química Pós-Industrial têm impacto sistémico bio-geo-químico no ecossistema terrestre e um possível impacto no neurodesenvolvimento.

O marco temporal da entrada no século XIX assinala uma nova transição correspondente à entrada na Era Industrial com a Revolução Industrial (1780-1830) (Uglietti, Gabrielli, Cooke, Vallelonga, & Thompson, 2015). Os duzentos anos que se seguiram foram caracterizados por um crescimento e uma modificação do ecossistema terrestre historicamente sem precedentes e provavelmente comparável às mudanças provocadas por eventos cataclísmicos de escala mundial. A intensidade da exploração de recursos, a transformação do terreno terrestre, a desflorestação, a extinção em massa de espécies, o aumento das emissões de dióxido de carbono, o aumento da temperatura, a subida da água do mar, a produção de novos elementos químicos e a dispersão de material radioactivo são alguns exemplos da intensidade das mudanças terrestres provocadas pela actividade humana e que levam à consideração científica da entrada numa nova época, o Antropoceno (do grego *ánthropos*, homem) (Carrington, 2016; Chang, 2014; Hockings et al., 2015; Steffen, 2006; “Welcome to the Anthropocene,” 2003). Claro que os últimos dois milénios são caracterizados por grandes marcos históricos e de impacto mundial. No entanto, tendo como exemplo a água, recurso essencial, são conhecidos mecanismos de irrigação com 4000 anos e de saneamento com 2000 anos. No entanto, nos grandes centros humanos, hoje em dia representados pelas metrópoles, por onde as grandes mudanças se iniciam, a disponibilidade massificada de água potável canalizada e para saneamento somente ocorreu nos últimos séculos (Allaerts & Chang, 2017).

A restrição à exposição ambiental e microbiana, pelas alterações da Era Industrial, foi aqui já discutida. Este argumento J é relativo à exposição a novos elementos ambientais e alimentares, como consequência da entrada na Era Industrial. Apesar de estes temas serem caracterizados por uma falta de disponibilidade de informação e evidência, por si só, apresentam questões em aberto que merecem a atenção da comunidade científica e a construção empírica de raiz relativa ao impacto no corpo humano, principalmente a longo prazo. Provavelmente por esta razão, este conteúdo é caracterizado por forte fricção política e governamental com instituições não-governamentais de carácter ecologista e ambiental.

Com base na complexidade do conhecimento científico relativo aos elementos químicos, no dinamismo industrial, na criação de um extenso número de novos elementos químicos e, por fim, na falta de informação pública associada, não será criada informação especulativa (Barnett, 1999; Connett, 2017; Francl, 2013; W. M. J. Simpson & Brock, 2003) mas apenas apresentados factos documentados relevantes para a linha conceptual desta tese.



A Tabela Periódica representa a organização dos elementos de acordo com o seu número atómico (Figura 6-9). Um *elemento* é uma substância química pura que não pode ser decomposta em substâncias mais simples e contém apenas um tipo de átomo. A Tabela Periódica moderna agrupa mais de cem elementos em grupos, nas colunas, e períodos, nas linhas. Os grupos representam elementos com propriedade similares e os períodos representam os valores do número quântico n (Elsair, 2012).

Apesar de várias divisões ocorrerem, por exemplo metais, metalóides e não-metais ou orgânicos e não-orgânicos, importa aqui a divisão destes elementos em dois grandes grupos: elementos naturais e elementos sintéticos derivados da produção humana.

Os elementos naturais são elementos químicos não-processados que ocorrem na natureza e incluem os elementos de número atómico entre 1 e 98. A Tabela Periódica inclui todos os elementos químicos conhecidos, uma vez que são o material de construção universal. Estes elementos naturais podem ocorrer:

- na sua forma pura (ou nativa), sem necessidade de processamento. Existem vários exemplos: os metais como o cobre, prata e ouro; os metais reactivos como o ferro e zinco; os não-metais como enxofre e carbono; e os gases como nitrogénio, oxigénio e hidrogénio;

- na forma de compostos com outros elementos, como o caso dos metais alcalinos e do aço. Historicamente foram os primeiros elementos utilizados para o desenvolvimento da civilização humana, antes do desenvolvimento da fundição;

- e quando extraídos por meios manuais, mecanizados, gravitacionais, de flutuação, temperatura e dissolução ou remoção em água (European Nuclear Society, 2017; “Industrial Chemicals (Notification and Assessment) Act 1989,” 2016; Porterfield, 1993; P. A. Williams, 2005).

Os elementos sintéticos são elementos previamente inexistentes na terra, mas produzidos por acção humana. Incluem elementos *novos* que eram inexistentes, elementos derivados dos naturais ou elementos que na sua forma natural têm uma durabilidade curta, sendo por isso sinteticamente produzidos. De uma forma geral, são de número atómico superior a 95 e produzidos por reacção nuclear. O primeiro exemplo histórico é referente ao plutónio e a sua utilização nas bombas nucleares (European Nuclear Society, 2017; “GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung,” 2017; “Industrial Chemicals (Notification and Assessment) Act 1989,” 2016; “Joint Institute for Nuclear Research,” 2017; “Oak Ridge National Laboratory,” 2017; “Riken Nishina Center,” 2017; Topliss et al., 2002).

De todas as características do controlo ambiental humano Pós-Industrial, o controlo químico tornou-se um dos grandes motores do crescimento civilizacional (Figura 6-10). Mundialmente, a produção de químicos facturou 3,534 biliões de euros no ano de 2015, com um crescimento continuado desde há décadas (The European Chemical Industry Council, 2016) e previsto de continuar (The European Chemical Industry Council, 2017). Por exemplo, na União Europeia, a indústria de produtos químicos cresceu 60% em 20 anos, superando repetidamente as

restantes indústrias e criando 1,2 milhões de postos de trabalho. Este envolvimento é representado mundialmente, com as economias emergentes a apresentarem um crescimento superior como o caso da China, Coreia do Sul, Rússia e Índia (The European Chemical Industry Council, 2016) (estes dados apresentados excluem a indústria farmacêutica).

Tabela periódica

3	Li	— número atómico
—	—	— símbolo químico
[6,938 - 6,997]	—	— nome
—	—	— peso atómico (ou número de massa do isótopo mais estável)

1	2											13	14	15	16	17	18						
1 H hidrogénio 1,008												5 B boro 10,81	6 C carbono 12,011	7 N nitrogénio 14,007	8 O oxigénio 15,999	9 F flúor 18,998	10 Ne neónio 20,180						
3 Li lítio 6,94	4 Be berílio 9,012											11 Na sódio 22,99	12 Mg magnésio 24,305					13 Al alumínio 26,982	14 Si silício 28,085	15 P fósforo 30,974	16 S enxofre 32,06	17 Cl cloro 35,45	18 Ar argónio 39,948
19 K potássio 39,098	20 Ca cálcio 40,078(4)	21 Sc escândio 44,956	22 Ti titânio 47,887	23 V vanádio 50,942	24 Cr cromo 51,996	25 Mn manganés 54,938	26 Fe ferro 55,845(2)	27 Co cobalto 58,933	28 Ni níquel 58,693	29 Cu cobre 63,546(3)	30 Zn zinco 65,38(2)	31 Ga gálio 69,723	32 Ge germânio 72,630(8)	33 As arsénio 74,922	34 Se selénio 78,971(8)	35 Br bromo 79,904	36 Kr criptónio 83,798(2)						
37 Rb rubídio 85,468	38 Sr estrôncio 87,62	39 Y ítrio 88,906	40 Zr zircónio 91,224(2)	41 Nb nióbio 92,906	42 Mo molibdénio 95,95	43 Tc tecnécio [98]	44 Ru rutenio 101,07(2)	45 Rh ródio 102,91	46 Pd paládio 106,42	47 Ag prata 107,87	48 Cd cádmio 112,41	49 In índio 114,82	50 Sn estanho 118,71	51 Sb antímónio 121,76	52 Te telúrio 127,60(3)	53 I iodo 126,90	54 Xe xenónio 131,29						
55 Cs césio 132,91	56 Ba bário 137,33	57 a 71	72 Hf háfnio 178,49(3)	73 Ta tântalo 180,95	74 W tungsténio 183,84	75 Re rénio 186,21	76 Os ósio 193,22(3)	77 Ir íridio 192,22	78 Pt platina 195,08	79 Au ouro 196,97	80 Hg mercúrio 200,59	81 Tl talio 204,38	82 Pb chumbo 207,2	83 Bi bismuto 208,98	84 Po polónio [209]	85 At astato [210]	86 Rn radónio [222]						
87 Fr frâncio [223]	88 Ra rádio [226]	89 a 103	104 Rf rutherfordio [261]	105 Db dubnio [268]	106 Sg seabórgio [266]	107 Bh bohrio [270]	108 Hs hássio [285]	109 Mt meitnério [278]	110 Ds darmstádio [281]	111 Rg roentgénio [281]	112 Cn copernício [285]	113 Nh nihónio [286]	114 Fl fleróvio [289]	115 Mc moscóvio [288]	116 Lv livermório [293]	117 Ts tenessio [294]	118 Og oganesónio [294]						
57 La lantânio 138,91	58 Ce cério 140,12	59 Pr praseodímio 140,91	60 Nd neodímio 144,24	61 Pm promécio [145]	62 Sm samário 150,36(2)	63 Eu eúrópio 151,96	64 Gd gadolínio 157,25(3)	65 Tb térbio 158,93	66 Dy disprósio 162,50	67 Ho hólmio 164,93	68 Er érbio 167,26	69 Tm tulio 168,93	70 Yb itrbio 173,05	71 Lu lutécio 174,97									
89 Ac actínio [227]	90 Th tório 232,04	91 Pa protactínio 231,04	92 U urânio 238,03	93 Np netúnio [237]	94 Pu plutónio [244]	95 Am américio [243]	96 Cm cúrio [247]	97 Bk berquílio [247]	98 Cf califórnio [251]	99 Es einsténio [252]	100 Fm fermio [257]	101 Md mendelévio [258]	102 No nobélio [259]	103 Lr laurencio [262]									

Figura 6-9 Tabela periódica sinalizando os elementos naturais essenciais e sintéticos

Legenda: os elementos circundados com círculo de linha cheia são relativos aos principais elementos necessários à vida terrestre; os elementos circundados com retângulos de linha intermitente são relativos aos elementos sintéticos; os elementos com o símbolo de estrela estão associados às metaloproteínas.

Tabela periódica acedida online (Holzle, 2017), com base na publicação (Meija et al., 2016). Conteúdo adicionado com base na bibliografia (Hagedoorn, 2015; Jeyasingh, Cothran, & Tobler, 2014; Kamel Boulos & Le Blond, 2016; R. J. P. Williams, 2007; Yannone, Hartung, Menon, Adams, & Tainer, 2012).

Na União Europeia cerca de dois terços dos químicos produzidos são fornecidos ao sector industrial (The European Chemical Industry Council, 2016) (Figura 6-11). A produção de materiais químicos, naturais, extraídos dos naturais ou sintéticos, tem progressivamente adicionado novos elementos à Tabela Periódica, com a última adição em 2016 (International Union of Pure and Applied Chemistry, 2016) e com mais novos elementos previstos para os próximos anos (Joint Institute for Nuclear Research, 2016). Actualmente, nos Estados Unidos da América existem mais de 80 000 produtos químicos registados para utilização, por exemplo, em alimentos, produtos de autocuidados, fármacos e produtos de limpeza, com estimativas de um aumento de 2000 novos a cada ano (U.S. Department of Health and Human Services, 2017). Mais de 700 000 químicos estão em utilização (United States Environmental Protection Agency, 2017a) e mais de 140 000 registados na base de dados europeia (European Chemicals Agency, 2017).

Valor total de vendas de produtos químicos a nível mundial: 3,534 biliões de euros

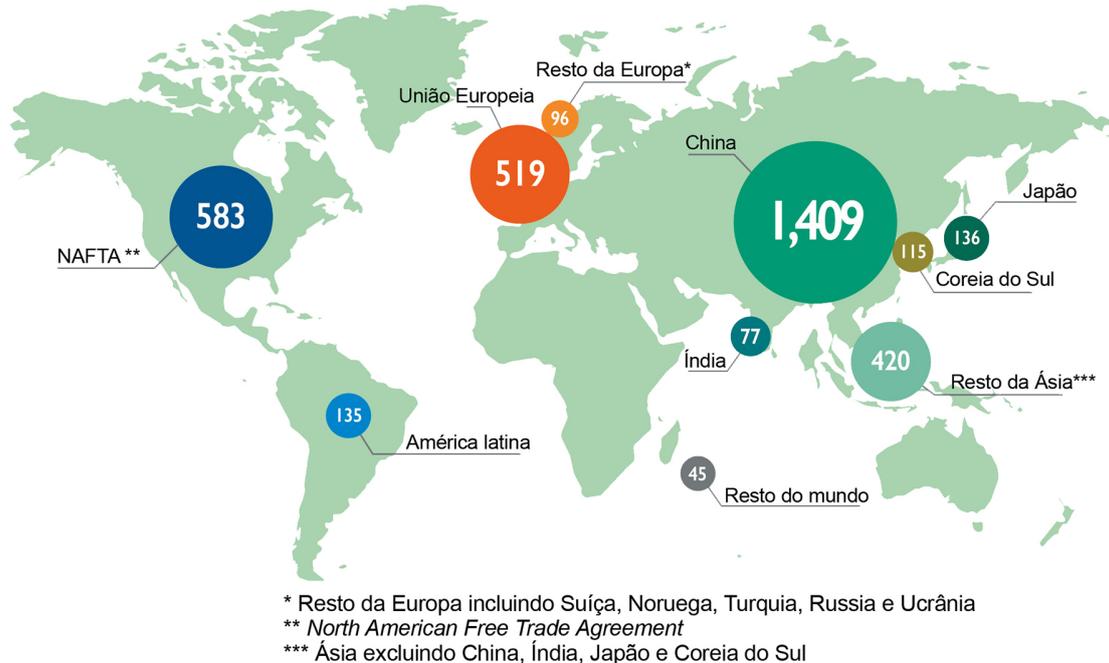


Figura 6-10 Principais regiões mundiais produtoras de químicos

Dados não incluem a indústria farmacêutica.

Figura traduzida e adaptada (The European Chemical Industry Council, 2016).

Esta indústria química é parte integrante da actualidade, desde a economia mundial, à estruturação social, aos produtos alimentares, agricultura, materiais de construção, electrodomésticos, tecnologia, vacinas, instrumentos médicos, roupa, produtos de higiene e em todos os detalhes que fazem a vida Moderna. Por isso se torna tão complicado abordar esta temática dadas as fortes implicações sociais, ambientais, económicas e políticas que acarretam (Institute of Medicine of the National Academies, 2014). A principal pressão que é colocada nesta indústria deriva de somente uma fracção muito reduzida dos produtos químicos produzidos estarem testados no seu impacto no ecossistema terrestre e no ser humano (Environmental Working Group, 2017; Natural Resources Defense Council, 2017), com cerca de 60 000 produtos com comercialização permitida, mas sem testes de segurança realizados (Public Broadcasting Service, 2016). Tendo como exemplo os Estados Unidos da América, a resposta a esta pressão resultou na alteração das leis associadas à produção e análise dos produtos químicos (American Chemistry Council, 2017; Lautenberg Chemical Safety Act, 2017; U.S. Federal Legislative Information, 2016), que se traduziram na obrigação da Agência de Protecção Ambiental testar as dezenas de milhares de químicos não regulados no mercado, num mínimo de vinte elementos de cada vez e num prazo máximo de sete anos. Apesar da medida, com estes números demorará séculos investigar todos eles, mesmo recorrendo à dedução computadorizada (United States Environmental Protection Agency, 2017b).

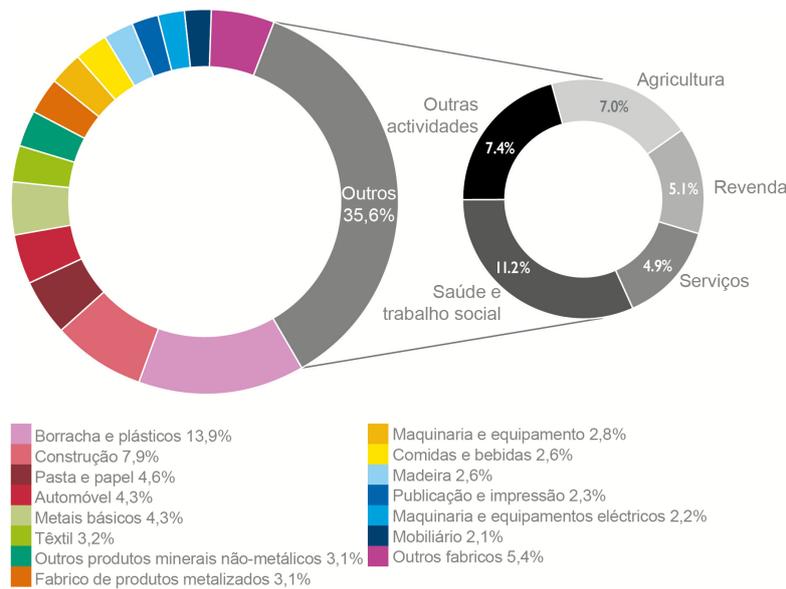


Figura 6-11 Cerca de dois terços dos produtos químicos da União Europeia são fornecidos ao sector industrial. Dados não incluem a indústria farmacêutica.

Figura traduzida e adaptada (The European Chemical Industry Council, 2016).

Uma substância química é um material composto por um ou vários elementos químicos. Este é um conceito que por vezes é publicamente associado somente a substâncias tóxicas ou perigosas. Este facto, tem levado a várias acções informativas de desmistificação dos conceitos de produtos naturais e produtos químicos ou produtos orgânicos e não-químicos. Os elementos químicos são a matéria de construção universal (com excepção dos sintéticos). A característica de toxicidade, durabilidade ou instabilidade é transversal entre os elementos naturais e sintéticos. Ser um elemento natural ou sintético não confere, desde logo, uma tendência para nenhuma destas características (Topliss et al., 2002).

O principal argumento relevante para este capítulo, centra-se no facto de a acção humana, no espaço de duzentos anos, ter alterado significativamente a sua exposição ambiental e a do ecossistema terrestre com os vários elementos químicos. Esta mudança inclui os elementos químicos sintéticos, sem existência prévia, assim como os elementos naturais que são sujeitos a processos de extracção, representando também uma novidade ambiental. Conceptualmente do ponto de vista do equilíbrio atómico do sistema terrestre, esta tese considera a hipótese de o impacto destes elementos se iniciar: 1) no momento e processo da criação dos elementos sintéticos; 2) no período de existência dos elementos criados e a sua interacção com os elementos terrestres. Inclui os elementos que ocorrem naturalmente, mas não de forma tão concentrada ou deslocada do local de origem; e 3) após a sua degradação, com os produtos resultantes dessa mesma degradação. Por exemplo, um dos novos elementos sintéticos, o oganesson, apresenta um tempo de meia-vida³⁹ de 0,9 milisegundos enquanto o plutónio

³⁹ Corresponde ao tempo em que a massa decai para metade. Também denominado de período de semidesintegração de um elemento.

apresenta um tempo de meia-vida de 87,7 milhões de anos (Royal Society of Chemistry, 2017a, 2017b). Não considerar o seu possível impacto nos três níveis descritos, implica ignorar e questionar a estruturação da essência do conhecimento científico da área da Física e da Química.

O que é relevante para esta conceptualização é que perante as leis físicas e químicas a questão não se coloca na existência, ou não, dos mecanismos de impacto no ecossistema terrestre, dada a sua certeza, mas sim se estas alterações têm impacto nocivo no tempo de vida humano individual ou intergeracional. Com o nível de conhecimento actual é inconcebível a repercussão que estas alterações tão profundas atómicas e elementares podem ter celularmente no ecossistema microbiano, no Microbioma Humano, nas funções fisiológicas humanas e, por fim, no neurodesenvolvimento. Seja qual for a direcção deste conhecimento, somente através de uma análise básica temporal evolutiva é conceptualmente admissível que haja um impacto atómico e microbiano no ecossistema terrestre de repercussões actualmente incalculáveis.

São expostos de seguida mais alguns argumentos científicos relevantes para esta suposição:

- foi identificada a necessidade de integrar sistemicamente o conhecimento da Química e da Biologia (a Física é inerentemente sistémica), tendo já sido iniciadas conceptualizações nesse sentido e que marcam o início da era da Biologia sintética (de la Escosura, Briones, & Ruiz-Mirazo, 2015). Isto significa que o reduzido cruzamento, até então, destas áreas especializadas do conhecimento humano poderá ter sido caracterizado por uma falta de compreensão sobre extensão real dos impactos ambientais;

- foi conceptualizado que os micróbios tiveram um papel fundamental na criação das superfícies e microcontinentes terrestres, através da bioalteração hidrotermal da crosta oceânica. Foi representada a importância do microbioma terrestre no seu funcionamento (Grosch & Hazen, 2015), em que as alterações bio-geo-químicas alteram o equilíbrio do ecossistema e o funcionamento das espécies incluídas (Asner & Vitousek, 2005). Apesar da enorme diversidade genética na natureza, existe um núcleo estável de genes codificadores das principais reacções associadas à vida e aos ciclos bio-geo-químicos. Seis principais elementos, hidrogénio, carbono, nitrogénio, oxigénio, enxofre e fósforo, constituem principais elementos construtores de todas as macromoléculas biológicas. Este fluxo biológico é conduzido, principalmente, por reacções mediadas por micróbios que evolutivamente se mantiveram por transferência genética horizontal (Falkowski, Fenchel, & Delong, 2008). Isto representa a existência de um núcleo com um equilíbrio elementar e microbiano na regência do ecossistema terrestre, incluindo o ser humano;

- várias décadas de estudos dos metais e metaloproteínas demonstraram que metais como o urânio, arsénico, cobre e chumbo estão presentes nos processos celulares biológicos. Apesar da fase preliminar de conhecimento, foi claramente reconhecida a omnipresença dos metais nos processos biológicos. Foi igualmente reconhecida a necessidade de convergir estes resultados com os sistemas microbianos e dos organismos complexos, de forma a

permitir a compreensão dos ecossistemas bio-geo-químicos (Rosato, Valasatava, & Andreini, 2016; Yannone et al., 2012). Isto representa a aproximação do conhecimento científico aos conceitos-chave físicos e químicos de que toda a matéria universal está indissociavelmente conectada desde o nível atómico ao nível sistémico;

- o impacto ambiental da actividade química humana está reflectido em todo o hemisfério terrestre. As alterações dos núcleos de gelo dos Alpes Europeus e dos Himalaias são, respectivamente, relativas às emissões de aerossóis do final do século XIX e século XX (Uglietti et al., 2015). A calota de gelo de Quelccaya (a maior dos trópicos) dos Andes do Peru e os núcleos sedimentares dos lagos do Peru e Bolívia apresentam alterações resultantes das emissões das actividades metalúrgicas nestas regiões, com acumulações de elementos até quinze vezes superior ao normal. A exploração começou em 1800 a.C., com a fundição de metais não ferrosos, e estendeu-se até à era colonial, por volta de 1540 d.C., com a produção espanhola de prata e mercúrio (Uglietti et al., 2015). Isto representa que a simples extracção de elementos naturais pela actividade humana, tem um impacto temporal no ecossistema terrestre;

- o impacto ambiental da actividade química humana reflecte-se em termos mundiais e inter-hemisférios. Já foi previamente estabelecido que, por exemplo, os compostos orgânicos semivoláteis clorados estão presentes globalmente na atmosfera, oceanos e solo sendo encontrados na biota terrestre e marinha (Ballschmitte, Hackenberg, Jarman, & Looser, 2002). O aumento das concentrações de chumbo na Gronelândia, identificados na Era Pré-Industrial, são referentes à actividade de metalurgia e fundição da região mediterrânica, durante os período grego, romano e medieval (Uglietti et al., 2015). Isto representa que a produção química humana tem impacto geográfico no ecossistema terrestre;

- e o impacto ambiental da actividade química humana é reflectida entre as várias épocas e não apenas no presente (Givelet, Roos-Barraclough, & Shotyk, 2003). São observados aumentos da concentração de chumbo e cobre nos núcleos de gelo na Gronelândia e de antimónio, arsénio e bismuto nos núcleos de gelo do Canadá. Estes aumentos são resultantes das actividades humanas em 500 a.C. (Uglietti et al., 2015). Actualmente, todos os glaciares terrestres apresentam deposição atmosférica resultante da actividade humana (Uglietti et al., 2015). No lago Erhai, da República Popular da China, foi observado um aumento de cobre resultante da sua utilização em 1500 a.C. assim como de metais pesados, como o chumbo, prata, zinco e cádmio, resultante das emissões atmosféricas da fundição de prata entre os anos 1100 d.C. e 1300 d.C., e com impacto actual na qualidade dos sedimentos (Hillman, Abbott, Yu, Bain, & Chiou-Peng, 2015). Isto significa que a produção química humana já tem impacto sistémico no ecossistema terrestre.

Estes argumentos remetem novamente para o estudo da exposição química relativamente à PHDA (ver subcapítulo 2.3.3.7), em que os principais elementos industrialmente utilizados têm sido implicados nas alterações de neurodesenvolvimento e que justificaram as modificações de segurança impostas pelas autoridades competentes.

A título de exemplo expositivo, considere-se a evolução do conhecimento relativo ao chumbo, por ser um dos principais elementos reportado nas consequências para o ser humano. Apesar do chumbo ser um elemento natural, o aumento da sua exposição aumentou no século XIX e XX. Este aumento deveu-se ao crescimento urbano e às exigências de canalização do fornecimento de água. Em 1813, iniciou-se a produção de enlatados utilizando uma solda de chumbo. Nesse século, o chumbo foi adicionado ao queijo, confecção alimentar, vinho, cerveja, mostarda, medicação e tinta. Na década de 1920 foi adicionado ao combustível automóvel. Somente em 1950 foi reconhecido o seu risco de exposição no neurodesenvolvimento e foram adoptadas as medidas de proibição do seu uso (Healy, 2014). Os níveis máximos de chumbo na corrente sanguínea foram variando ao longo do tempo: 30 microgramas por decilitro em 1975, 25 microgramas por decilitro em 1985, 10 microgramas por decilitro em 1991, 5 microgramas por decilitro em 2012 e surgiu recentemente a possibilidade de apenas a exposição ser suficiente para provocar alterações nocivas (Goodlad et al., 2013). O facto de que elementos naturais, como o caso do chumbo, poderem ser tóxicos na exposição, mas serem também essenciais ao funcionamento biológico (metaloproteínas), representa a linha ténue do equilíbrio necessário à vida. Neste exemplo simples do chumbo, este equilíbrio ténue foi quebrado com a rápida mudança ambiental Pós-Industrial.

A evidência dos efeitos negativos de elementos naturais *apenas* extraídos e alterados na sua concentração, alimentam as especulações do que os elementos sintéticos podem representar para a saúde ecológica e humana (ver subcapítulo 2.3.3.7). A variabilidade dos tempos de meia-vida destas substâncias, que podem atingir milhões de anos, juntamente com a interacção atómica sistémica, pode representar uma escala de tempo infindável do efeito que estes elementos podem representar e com a possibilidade de um efeito cumulativo transgeracional.

Existe um enorme desfasamento temporal entre o início da exposição aos novos elementos, o reconhecimento de um potencial impacto na saúde e as medidas a serem tomadas. Como foi observado no exemplo *passado* do chumbo ou no exemplo *actual* do tempo previsto para a Agência de Protecção Ambiental testar todos os produtos não regulados no mercado. O resultado final desta característica poderá ser a presença constante de efeitos individuais e cumulativos transgeracionais, com consequências nas doenças humanas actuais.

Considere-se mais um exemplo expositivo. Em 1896 a cientista Marie Curie apresenta a sua tese de doutoramento relativa ao urânio. Com a sua investigação vence dois prémios Nobel, de Física e Química, na representação do seu conhecimento especializado sem precedentes. No entanto, aos 66 anos falece de anemia aplástica derivada de 30 anos de exposição à radioactividade na sua área de estudo, até então desconhecida (Poole & Tan, 2013). A relevância deste exemplo é relativa à fragilidade do conhecimento científico, principalmente em domínios ainda emergentes. Analogamente, podem ser incalculáveis as repercussões das descobertas da microbiota terrestre e da sua íntima ligação com o funcionamento do corpo

humano, com os ecossistemas terrestres e com o controlo da programação genética da matéria planetária.

Claro que a questão relevante para esta conceptualização não é sobre *quais* as substâncias que estão associadas à *vida ou morte*. Mas na existência de um impacto no ecossistema terrestre, atómico, molecular e celular que advém, pelo menos, desde o início da actividade metalúrgica química humana e que não é surpreendente dado que a terra terá cerca de 4,5 biliões de anos (Falkowski et al., 2008) e que a vida se desenvolveu com a presença constante dos elementos naturais. A questão relevante não é sobre a forma como um sistema terrestre de biliões de anos lidará com estas alterações atómicas e de entropia, mas sim como estas alterações *invisíveis* se fazem sentir microbiológica e celularmente no corpo humano, principalmente em fases tão críticas como o desenvolvimento embrionário e neurodesenvolvimento.

Os resultados em duas áreas de estudo podem suportar esta argumentação. Um é relativo ao estudo das metaloproteínas, que representa a importância dos metais nos processos celulares biológicos. Embora sem relação com a PHDA, esta área de estudo é emergente na etiologia da Doença de Alzheimer (Hare, Rembach, & Roberts, 2016) e na neurodegeneração cerebral, devido a acumulação anormal de ferro no encéfalo, principalmente nos núcleos da base (região etiológica da PHDA) (Salomao et al., 2016).

A segunda área de estudo é relativa à poluição atmosférica e o possível impacto no neurodesenvolvimento, nas funções cognitivas e no risco aumentado de PHDA. Fluegge (2016) demonstrou a ligação entre o óxido nitroso, N_2O , e as alterações de neurodesenvolvimento, como a PHDA e a PEA. O óxido nitroso, para além de um analgésico de uso médico, é um poluente atmosférico que resulta dos processos bacterianos de nitrificação e desnitrificação nos solos agrícolas e tem um potencial de efeito de estufa trezentas vezes superior ao dióxido de carbono. O aumento do nível de óxido nitroso atmosférico deve-se, principalmente, ao grande uso do nitrogénio como fertilizante, desde 1940. A sua exposição resulta em alterações de atenção, de memória e motoras. Molecularmente, danifica a modulação dos receptores dopaminérgicos, em específico o DRD4 (implicado na PHDA e na mutação genética evolutiva referida), e inibe o receptor de acetilcolina e nicotina $\alpha 7$ que resulta no aumento da activação da micróglia e das respostas de Th17, via a citocina inflamatória IL-17 (Fluegge, 2016). Estes resultados, em total coerência com esta conceptualização, concretizam o exemplo de um mecanismo específico através do qual a exposição química resulta em alterações de neurodesenvolvimento e PHDA.



6.J.3 Argumento: a nova Era Industrial alterou os padrões de exposição alimentar

A exposição química e o processamento alimentar têm impacto na cadeia alimentar, com impacto disbiótico e inflamatório, podendo contribuir para a doença e, em última instância, PHDA.

O aparecimento da agricultura e domesticação ditou o aumento da disponibilidade alimentar, mas também da restrição da dieta. Com a entrada na Era Industrial, a utilização química alimentar, de forma a melhorar a qualidade da sua produção, alterou a exposição ambiental gastrointestinal, com implicações na microbiota. Por exemplo, através da utilização de antibióticos para tratamento animal, fertilizantes para protecção das colheitas, herbicidas para gestão territorial e da integração directa nos alimentos. Vários elementos destas mudanças têm sido implicados nas alterações de neurodesenvolvimento e PHDA.



6.J.3.1 São usados massivamente antibióticos na agricultura e produção animal

A cadeia alimentar animal tem repercussões no Microbioma Humano.

O uso de antibióticos na agricultura e na produção animal tem sido escrutinado nas últimas décadas como factor que contribui para o crescimento mundial da resistência bacteriana (argumento H) (Kuenzli, 2016; Watkins & Bonomo, 2016). Mais de 13 000 toneladas de antibióticos são utilizados anualmente na produção animal dos Estados Unidos da América (Watkins & Bonomo, 2016). Foi estimado que cada quilograma de carne de vaca, galinha e porco leva ao consumo, respectivamente, de 45, 148 e 172 miligramas de agentes antimicrobianos (Z. Yu, Gunn, Wall, & Fanning, 2017). O objectivo da sua utilização não é para tratamento de doenças dos animais mas para promoção do crescimento e prevenção de doenças com o uso de doses subterapêuticas (Kuenzli, 2016). Os antibióticos potenciam o ritmo do aumento de peso, diminuem a quantidade de alimento necessário por cada quilograma de ganho de peso e previnem doenças. O mecanismo de acção passa pela alteração da microbiota intestinal que compete pelos nutrientes. A sua inibição promove que o animal aumente de peso mais rapidamente (Kramer, 2017).

Três mecanismos são sugeridos para justificar o impacto que o uso de antibióticos na produção animal tem na saúde humana: 1) a infecção de patogénicos resistentes através do contacto com os animais e ingestão de água e comida contaminada; 2) passagem dos patogénicos entre os humanos; e 3) os genes resistentes da produção animal são disseminados por transferência genética horizontal entre os animais e humanos (Watkins & Bonomo, 2016). Finalmente, os patogénicos multirresistentes são transferidos para o produto final, como carne, leite, marisco, alface, vegetais e água (Kuenzli, 2016).

A União Europeia banuiu o uso de antibióticos com objectivo não terapêutico em 2006 e a FDA emitiu uma directriz de redução voluntária do uso de antibióticos. No entanto, como uma das consequências é o aumento do preço final para o consumidor (Watkins & Bonomo, 2016), a competitividade do mercado global pode pressionar para a sua utilização. Por exemplo, apesar da proibição de promotores de crescimento antimicrobianos na Suíça em 1999, o uso de antibióticos administrados na comida ou água como medidas profiláticas é permitido por prescrição veterinária e continua a resultar na frequente exposição a antibióticos por grupos completos de animais (Thanner, Drissner, & Walsh, 2016). Apesar destas medidas, está previsto um aumento de 67% do uso de antibióticos na produção de alimentos de origem animal (Kuenzli, 2016), em parte, como resultado da substituição de fazendas de pasto por unidades de produção intensiva, que resultam no aumento da densidade de animais e a necessidade de mais medidas de controlo higiénico (Z. Yu et al., 2017).

Este cenário é extensível à actividade da aquicultura que apresenta um crescimento anual de 8,5%, desde a década de 1970. Alguns países atingem as 400 000 toneladas de peixe e marisco derivado deste método de cultivo. A China gera um terço da produção de comida aquática, sendo que dois terços são derivados de aquicultura. Por exemplo, no Chile, a utilização de antibióticos aumentou de 400 quilogramas em 2000, para 233 toneladas em 2009. Este crescimento representa o aumento da disseminação destes produtos também pelo ecossistema marítimo, provavelmente, e de acordo com esta conceptualização, com impacto microbiano e nas macroespécies. Coincidentemente, tem sido crescente a evidência de que o ambiente aquático, derivado destas alterações, é uma fonte de novos patogénicos humanos (Cabello, Godfrey, Buschmann, & Dolz, 2016).

Os impactos viciosos no solo, na vegetação, no saneamento, nas reservas de água subterrâneas e no ecossistema marítimo, pelos mecanismos de transferência genética horizontal, aplicam-se também aos metais pesados que apresentam características antimicrobianas. Os metais pesados estão presentes naturalmente, mas ocorrem em maior concentração nalguns ambientes como, por exemplo, nas superfícies metálicas revestidas de cobre nas unidades de produção animal, como forma de reduzir as infecções. As contaminações mais frequentes por metais pesados, por ordem de abundância, são de chumbo, crómio, arsénico, zinco, cádmio, cobre e mercúrio (Z. Yu et al., 2017). A Figura 6-12 representa graficamente o impacto humano.

Dada a descoberta recente do Microbioma Humano, não existe evidência relativa ao impacto provocado pelos antibióticos que estão presentes na cadeia alimentar. No entanto, com base na construção teórica desta tese, pode ser facilmente especulado que terá impacto na microbiota intestinal. À semelhança do impacto da dieta, a exposição continuada aos antibióticos presentes em toda a cadeia alimentar poderá ter um impacto na constituição, na perda de diversidade, nas alterações de estabilidade, na proliferação de micróbios patogénicos resistentes e, conseqüentemente, em disbiose. Pelos argumentos A ao C, os mecanismos de disbiose resultam num impacto no SNC em regiões coerentes com a PHDA. Caso surja a

evidência de que estes elementos alteram a permeabilidade da mucosa intestinal e induzem uma resposta imunológica entérica, todos os argumentos desta tese suportam o seu impacto no neurodesenvolvimento e na PHDA.

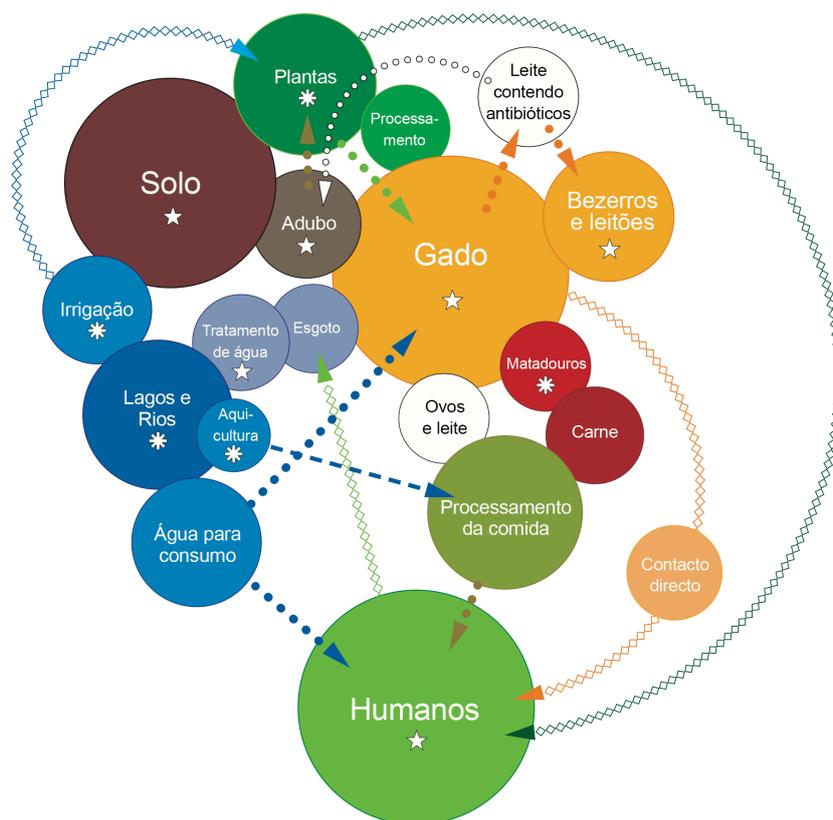


Figura 6-12 Vias de disseminação dos antibióticos e genes patogénicos através da agricultura, ambiente e indústria de processamento de alimentos

As vias de transmissão dos agentes antimicrobianos e genes resistentes patogénicos são indicados, respectivamente, pela sobreposição de círculos e setas. Diferentes cores representam diferentes tipos de reservatórios. As estrelas indicam os principais locais dos genes resistentes com grande densidade bacteriana, disponibilidade nutricional, pressão selectiva no tracto digestivo dos animais e humanos, instalações de adubo e estrume, estações de tratamento de água e rizosfera (região do solo de contacto com as raízes). Os asteriscos representam os principais locais dos genes resistentes na água, sedimentos e biofilmes (aglomerados microbianos) na aquicultura, rios, lagos, sistemas de irrigação e matadouros.

Figura traduzida e adaptada (Thanner et al., 2016).



6.J.3.2 Existe uma ligação epidemiológica a pesticidas, herbicidas e fertilizantes

A acção dos químicos disruptores endócrinos são coerentes com os mecanismos etiológicos da PHDA.

A exposição a pesticidas e herbicidas, utilizados para aumento de produtividade agrícola, tem também estado epidemiologicamente ligada ao crescimento das alterações mentais. A descoberta inicial de como a 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP, do inglês, *1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine*) lesiona os neurónios dopaminérgicos na Doença de Parkinson foi reforçada por estudos em que outras substâncias como rotenona, paraquat,

maneb e dieldrina provocavam a perda de neurónios dopaminérgicos nos modelos animais. Algumas das toxinas foram inclusivamente detectadas no encéfalo em pessoas com Doença de Parkinson (Carvey, Punati, & Newman, 2006). A activação da micróglia e o *stress* oxidativo representam o mecanismo inflamatório do processo neurodegenerativo da Doença de Parkinson (R. L. Miller, James-Kracke, Sun, & Sun, 2009). Estes mesmos mecanismos de implicação na Doença de Parkinson, suportam a relação com os processos neurodegenerativos na demência, em especial na Doença de Alzheimer (Zaganas et al., 2013).

Destas substâncias, destacam-se as nitrosaminas que estão entre os carcinogénicos mais potentes e epidemiologicamente ligados à Doença de Alzheimer. As nitrosaminas são formadas por reacção química entre os nitritos e as aminas ou proteínas. O nitrito de sódio é propositadamente adicionado à carne e ao peixe como prevenção da toxina que é produzida por *Clostridium botulinum* e para preservar, colorir ou aumentar o sabor da carne. O aquecimento, acidificação ou oxidação do nitrito forma ácido nitroso que gera as nitrosaminas. Uma vez que a carne de vaca, carnes curadas e *bacon* apresentam abundância de aminas, devido ao seu conteúdo proteico natural, e níveis significativos de nitratos e nitritos, as nitrosaminas são quase sempre detectadas nestes produtos. São também formadas em ambientes de acidez forte como no estômago ou em carnes processadas pelo uso da grande temperatura. A exposição humana aos nitratos deriva, principalmente, pelo impacto no ecossistema da rizosfera⁴⁰ devido ao uso abundante de fertilizantes contendo nitrato e que resultam em valores elevados de nitratos na água de consumo, água de irrigação, processamento alimentar, colheitas e vegetais de raiz, como batatas e beterraba. O mecanismo do seu efeito tóxico e mutagénico passa pelo facto de ser muito reactiva com os ácidos nucleicos, alterando a expressão genética e causando danos no DNA. Adicionalmente, as nitrosaminas activadas geram espécies de oxigénio reactivo, causando o aumento do *stress* oxidativo que, juntamente com os danos no DNA, levam à activação de citocinas pró-inflamatórias (de la Monte, Neusner, Chu, & Lawton, 2009; J.-E. Park, Seo, Lee, & Kwon, 2015). As nitrosaminas representam um exemplo coerente com a argumentação desta tese, desde a ligação fisiopatológica mental, imunológica, ambiental e de alteração genética.

Em 2008, a Sociedade Endócrina (*Endocrine Society*) começou a rever os efeitos dos químicos *disruptores* endócrinos. Estes são químicos ou misturas de químicos exógenos que interferem com o funcionamento hormonal por actuarem nos seus receptores. Em 2009, foram publicadas centenas de substâncias envolvidas nos mecanismos fisiológicos da obesidade e diabetes, do sistema reprodutor, cancro, próstata, tiróide e neurodesenvolvimento (através do eixo HPA) (Gore et al., 2015b, 2015a). Em 2012, em resposta a este crescente interesse, a Organização Mundial de Saúde, juntamente com o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP, do inglês, *United Nations Environment Programme*), publicaram vários documentos

⁴⁰ Região do solo de contacto com as raízes.

em que actualizaram o Estado da Arte e reportaram mais de 800 químicos capazes de interferir com o sistema endócrino e com um impacto no ser humano superior ao previamente considerado (World Health Organization; United Nations Environment Programme, 2013; World Health Organization, 2017a). A ligação dos químicos disruptores endócrinos com o neurodesenvolvimento, através da alteração do funcionamento do eixo HPA, é coerente com a argumentação desta tese e os mecanismos etiológicos da PHDA.

Actualmente, esta exposição química alimentar não tem evidência directa com a PHDA. No entanto, o impacto no neurodesenvolvimento já foi equacionado. Nas doenças neurológicas foi observada uma tendência epidemiológica similar à da PHDA, com o aumento da massificação da utilização de produtos químicos. Esta relação foi uma das justificações para as medidas adoptadas pelas entidades competentes, relativamente à catalogação e estudo do efeito das substâncias químicas (ver argumento J.2). Pode assim considerar-se a hipótese de que a estabilização da prevalência da PHDA pode estar associada à adopção de medidas preventivas de exposição química, pelas entidades competentes.

Relativamente ao neurodesenvolvimento, a evidência actual aponta para a alteração dos mecanismos hormonais (de acção similar aos neurotransmissores) e do eixo HPA, para a perda dopaminérgica, para a activação imunológica, libertação de citocinas e *stress* oxidativo (Nadal, Quesada, Tuduri, Nogueiras, & Alonso-Magdalena, 2017). Estes mecanismos de acção que foram equacionados são coerentes com a hipótese da ligação imuno-neurológica aqui exposta.

Adicionalmente, o modelo animal do efeito dos químicos *disruptores* endócrinos demonstrou que alteram o metabolismo energético, tendo como alvo as células intestinais envolvidas no transporte de nutrientes e secreção de péptidos, a microbiota intestinal e os neurónios do hipotálamo. Alguns destes químicos alteram a microbiota intestinal e provocam inflamação intestinal, diminuição da produção de AGCC, lipogénese hepática, glicogenólise e gluconeogénese. Outros químicos *disruptores*, como bifenilpoliclorado⁴¹, arsénico, cádmio e insecticidas organofosfatos alteram a composição da microbiota intestinal e os seus metabolitos (Nadal et al., 2017). Caso sejam também observadas estas alterações de disbiose, no modelo humano, então representam mecanismos que implicam a microbiota humana, especificamente a intestinal. Assim, a exposição química continuada através da cadeia alimentar pode induzir alterações de neurodesenvolvimento similares às da PHDA, coerentemente com a argumentação desta tese.

⁴¹ Usado em circuitos de refrigeração e fluidos hidráulicos.



6.J.3.3 Os alimentos pós-industriais apresentam características inflamatórias e disbióticas

O padrão da produção alimentar e da dieta actual contribui para as doenças neurológicas.

Neste argumento importa compreender se a restrição alimentar Pós-Agricultura e a incorporação química alimentar Pós-Industrial, contribuem para os mecanismos da alteração da permeabilidade intestinal e activação imunológica. O padrão alimentar derivado destas alterações é actualmente representado pela dieta moderna ocidental. A definição da *dieta ocidental* apresenta variações na bibliografia. Como a dieta ocidental é caracterizada por um grande consumo de produtos processados em fábrica, o termo *dieta industrial* também é utilizado. Nesta tese, a *dieta ocidental* representa o padrão de consumo alimentar adoptado tipicamente na América do Norte e Europa Ocidental, caracterizado por uma ingestão elevada de carne e cereais processados e refinados, açúcares, lacticínios, gordura saturada e ómega-6 com redução de ómega-3, ingestão de sal, bebidas açucaradas, álcool (Myles, 2014; Poppitt, 2015; PubMed, 2017b), com incontáveis produtos químicos adicionados (Sakita, Gasparotto, Garcia, Uyemura, & Kannen, 2017), e baixo aporte vitamínico (Nazni, 2014) e de fibra (Kramer, 2017).

Na agricultura, as mudanças do último século foram relativas ao aumento significativo de produção, em parte pela introdução de substâncias químicas, como o caso de fertilizantes sintéticos e antibióticos, alguns descontinuados e outros ainda em utilização. Na parte final do século XX, ocorreu a separação entre os produtores de cereais e os produtores animais, para aumento da competitividade. A maioria dos produtores de animais especializou-se em fases específicas da produção, em vez do acompanhamento total do animal. Os animais são incorporados em unidades de produção intensiva e em simultâneo a alimentação tornou-se especializada por cereais processados e com suplementos. Este aumento de capacidade de produção traduziu-se numa descida abrupta do preço dos alimentos. Em meados do século XX, as famílias despendiam 40% dos seus rendimentos em comida, sendo que actualmente gastam apenas 20%. Esta diminuição de preço e aumento da disponibilidade alimentar criou o espaço económico para incentivos a maior consumo (Kramer, 2017).

Um dos principais problemas associados à dieta ocidental é a redução de fibra resultante do processamento e refinação alimentar. Juntamente com o aumento da ingestão de gorduras saturadas e açúcares, estas características provocaram a perda de diversidade da microbiota intestinal, pela perda de espécies incapazes de sobreviver num ambiente pobre em fibra e pelo aumento da competitividade com outras bactérias (Karkman et al., 2017). Para além das características disbióticas, esta relação, está associada a processos inflamatórios, uma vez que uma das espécies afectadas inclui as bactérias pertencentes a *Bifidobacterium*, que se alimentam da fibra indigesta e inibem o crescimento de patogénicos gram-negativos. Pelo contrário, numa dieta rica em fibra, com alimentos não processados ou refinados, ou seja,



integrais, esta inibição de patogénicos leva à redução dos níveis de endotoxinas e produtos metabólicos das bactérias produtoras de urease. Por sua vez, esta enzima, que catalisa a hidrólise da ureia em dióxido de carbono e amónia, afecta negativamente a permeabilidade intestinal pelo aumento da expressão das proteínas da junção celular das células epiteliais intestinais (Kramer, 2017; Volynets et al., 2017).

Por outro lado, a alteração do equilíbrio dinâmico entre os ómeegas 3 e 6 tem implicações no sistema imunológico. Por exemplo, um nível superior de ómega-6 relativamente ao ómega-3 aumenta a produção de citocinas pró-inflamatórias (Lachance et al., 2016). Neste caso, a relação do ómega-3 com o sistema dopaminérgico (ele próprio em equilíbrio com o sistema noradrenérgico), o conseqüente impacto no córtex pré-frontal e o facto de ser acumulado na matéria cinzenta do cérebro são sinal desta complexidade causal (Grassmann et al., 2013).

Adicionalmente, foi considerado um eixo entre o intestino e o fígado. As funções do fígado relativas às vias metabólicas de lipogénese e gluconeogénese estão focadas na captação de nutrientes e extracção de energia dos substractos da dieta, sendo fortemente mediadas pela microbiota intestinal (Ojeda, Bobe, Dolan, Leone, & Martinez, 2016).

A Tabela 6-9 expõe os principais elementos característicos da dieta ocidental e as hipóteses dos seus mecanismos de acção imunológicos. No modelo animal foi demonstrado que este padrão alimentar em poucas gerações altera irreversivelmente a microbiota intestinal (Karkman et al., 2017), o que representa um impacto transgeracional com um efeito cumulativo dos factores ambientais. Assim, o padrão alimentar ocidental apresenta características disbióticas e de alteração da permeabilidade intestinal que, pela argumentação exposta, tem repercussões no funcionamento neurológico.

A dieta ocidental surge associada a várias doenças actuais com um mecanismo imunológico comum, à semelhança das perturbações mentais:

- Doença de Crohn, caracterizada pela alteração da ligação entre as bactérias do tracto gastrointestinal e o epitélio intestinal, com alteração de permeabilidade da mucosa intestinal. As bactérias intestinais são centrais no seu mecanismo, estando intrinsecamente ligado o conceito de disbiose com redução da diversidade. Estas alterações envolvem o sistema imunológico pelo envolvimento primário de Th1 e Th17 com aumento de produção de TNF- α (inflamatória), IF- γ (inflamatória), IL-12 (inflamatória) e IL-23 (inflamatória) (Pfeffer-Gik & Levine, 2014);

- Síndrome metabólico, com aumento do risco cardiovascular e da diabetes (Rodriguez-Monforte, Sanchez, Barrio, Costa, & Flores-Mateo, 2017);

- doenças renais, associadas ao aumento do consumo de sal e proteína (Kramer, 2017);

- aterosclerose e acidente vascular encefálico. A aterosclerose foi associada a mudanças da microbiota intestinal derivadas da dieta, envolvendo mecanismos inflamatórios mediados por Th e citocinas pró-inflamatórias. Um estado inflamatório sistémico e de *stress*

oxidativo subclínico provoca disfunção endotelial, que resulta em aterosclerose e obstruções arteriais trombóticas, contribuindo para os casos de acidente vascular encefálico (Nicoll, Howard, & Henein, 2015; Peshkova, Schaefer, & Koltsova, 2016). Por outro lado, o padrão de maiores quantidades de massa, arroz, batatas e ovos surge associado a um maior risco de acidente vascular encefálico (Kontogianni & Panagiotakos, 2014). Uma vez que o consumo de alimentos integrais apresenta maior aporte de fibra, a qual está associada ao funcionamento da microbiota intestinal e ao menor risco de doenças cardiovasculares (Maćkowiak et al., 2016), poderá ser considerada a hipótese de que a versão refinada (não-integral) destes alimentos possa contribuir para este risco associado;

- diabetes, associada ao consumo de carne processada e, possivelmente, carne vermelha (Kouvri, Notara, Kalogeropoulos, & Panagiotakos, 2016);

- obesidade. Tanto no modelo animal como humano a mudança alimentar para um padrão ocidental altera a microbiota para um padrão associado à obesidade, em especial a grande quantidade de gordura, excesso calórico e adoçantes artificiais (Bell, 2015);

- diminuição da densidade óssea, pela indução de acidose metabólica e hipercalcúria que têm impacto ósseo (Hunter, Plaisance, & Fisher, 2014);

- fertilidade, pela possível implicação na qualidade dos mecanismos reprodutores e hormonais devido à alteração da exposição ao calor, aos químicos, metais pesados e padrões alimentares (Nazni, 2014), o que apresenta coerência adicional com a argumentação relativa à exposição ambiental;

- cancro (Schwedhelm, Boeing, Hoffmann, Aleksandrova, & Schwingshackl, 2016). A exposição combinada a baixas concentrações de vários químicos mutagénicos superam os mecanismos de tolerância de defesa e danificam o DNA contribuindo para o aparecimento de cancro do cólon (Sakita et al., 2017), cancro da próstata (Fabiani, Minelli, Bertarelli, & Bacci, 2016) e cancro pancreático (Lu, Shu, Shen, Chen, & Zhang, 2017). Por exemplo, relativamente ao cancro pancreático, entre os vários factores mutagénicos iniciais, foram destacados a inalação do fumo de tabaco, a exposição a nitrosaminas, compostos clorados (como pesticidas), metais pesados (em especial o cádmio), radiações ionizantes e asbestos (mineral) (Barone, Corrado, Gemignani, & Landi, 2016). A implicação do padrão de ingestão de hidratos de carbono foi principalmente associado a maiores quantidades de pão, pasta e arroz (Fabiani et al., 2016). O consumo de carne processada e vermelha foi classificado pela Agência Internacional de Pesquisa para o Cancro (do inglês, *International Agency for Research on Cancer*), respectivamente, como sendo carcinogénico e provavelmente carcinogénico. Esta classificação pode ser mediada pela presença de componentes mutagénicos que são formados pela cozedura a grandes temperaturas (Fabiani et al., 2016), sendo coerente com a informação anterior relativa a pesticidas, herbicidas e fertilizantes;

- artrite reumatóide, associada ao aumento do consumo de carne (W. B. Grant, 2016);

- asma, apresentando relação com o agravamento da sintomatologia (Brigham et al., 2015), sendo coerente com o mecanismo de acção imunológico do argumento C;

- e intolerância alimentar, pelo pobre padrão nutricional da dieta ocidental que foi associado à perda de integridade da parede epitelial intestinal, ao aumento da resposta mediada por IgE e, conseqüentemente, a piores resultados da presença de alergias. Coincidentemente, a prevalência da alergia alimentar segue a tendência do aumento da dieta ocidental, tem um percurso epidemiológico similar ao da PHDA (Skypala & Vlieg-Boerstra, 2014) e é coerente com a hipótese de que a PHDA pode ser uma hipersensibilidade alimentar não-alérgica (Pelsser et al., 2009). Adiciona coerência a esta argumentação, o reconhecimento da importância da microbiota intestinal, que leva à recomendação da amamentação exclusiva até aos seis meses (Skypala & Vlieg-Boerstra, 2014).

Especificamente em relação às perturbações do foro mental também foi observada relação da dieta ocidental com as alterações do funcionamento neurológico:

- depressão, em que no modelo animal uma dieta rica em gorduras saturadas, típicas de uma dieta ocidental, contribuem para comportamentos depressivos, tendo como possível mediador as alterações da microbiota intestinal (Pyndt Jorgensen et al., 2014). Coerente com os argumentos C ao F;

- memória e cognição, em que no modelo animal a dieta ocidental altera o funcionamento no hipocampo tendo impacto na aprendizagem (Hargrave, Davidson, Lee, & Kinzig, 2015). Coerente com os argumentos A e B;

- demência, relacionada com um declínio mais rápido da capacidade cognitiva (M. C. Morris, 2016), através dos alimentos ricos em calorias, ácidos gordos saturados, gorduras transinsaturadas, açúcar e álcool (excepto, vinho tinto). Adicionalmente, os alimentos processados contêm elevados níveis de produtos finais resultantes de glicação⁴², que estão associados ao aumento da citotoxicidade e agregação de β -amilóide. Os modelos animais demonstraram que ocorre um aumento de circulação de β -amilóide plasmático que provoca a degradação da barreira hemato-encefálica e a disfunção hipocampal, com ligação à Doença de Alzheimer (Shakersain et al., 2016). Coerente com o argumento B e C;

- e Doença de Alzheimer, associada a um maior consumo de carne, ovos e gordura de laticínios. O mecanismo anterior associado à demência, engloba também a Doença de Alzheimer. A perda de integridade da barreira hemato-encefálica ocorre por alteração da expressão genética das proteínas ligadoras, o que deixa a formação hipocampal vulnerável à lesão provocada pela acumulação excessiva de β -amilóide e outras toxinas, como metais pesados e marcadores de inflamação. O primeiro estudo relativo ao risco da dieta e a Doença de Alzheimer, reportou a diminuição no cérebro de cálcio, magnésio e potássio e o aumento da concentração de minerais como alumínio, cobre, ferro e mercúrio. Especificamente, o cobre é um factor de risco desta doença. A sua origem está associada aos alimentos animais não-lactícínios, pois a gordura saturada aumenta a absorção de cobre e porque aumentam a produção de Factor de Crescimento similar à insulina, associados ao risco de demência e

⁴² Ligação de um hidrato de carbono a uma proteína ou gordura por acção não-enzimática.

Doença de Alzheimer. O aumento da sua concentração na água, derivada da canalização de cobre, pode também justificar este aumento (W. B. Grant, 2016). Estas justificações são coerentes com este argumento J relativo à exposição ambiental.

Tabela 6-9 Principais macronutrientes da dieta ocidental e impacto no sistema imunológico

Macronutriente	Impacto imunológico	In vitro	Modelos animais	Evidência humana
Açúcares simples	- Diminuição da fagocitose; - Aumento da produção de citocinas inflamatórias; - Disbiose.	+	-	+
Açúcares complexos	- Diminuição da produção de citocinas inflamatórias; - Como parte integrante da substância alimentar, pode reduzir o risco de algumas doenças; - Redução da disbiose.	+	+	+
Adoçantes artificiais	- Impacto ainda desconhecido; - Possivelmente contribui para a doença inflamatória intestinal; - Esteviosídeo pode aumentar a fagocitose e respostas dos linfócitos T e B.	+	+	+
Sal	- Pode aumentar a IL-17 e piorar doenças auto-imunes. - Alteração nas vias da prostaglandina e mecanismos antioxidantes;	-	+	-
Gordura saturada	- Activação de TLR2, TLR14 e alterações em células que exibem o receptor molecular CD14; - Aumento da inflamação intestinal e redução das funções da barreira epitelial; - Piores resultados em casos de sépsis, aumento do risco de imunidade, alergias e neoplasmos; - Disbiose.	+	+	+
Gordura <i>trans</i>	- Maioritariamente desconhecido; - Aumento dos níveis de IL-6 (inflamatória) e de proteína reactiva.	-	-	-
Ácidos gordos ómega-6	- Aumento da inflamação pela activação TLR4; - Disbiose.	+	+	+
Ácidos gordos ómega-3	- Redução das citocinas inflamatórias e factores de transcrição; - Aumento de IL-10 (anti-inflamatória).	+	+	+
Glúten	- Possível activação de TLR4; - Indução de sintomas de doença celíaca.	+	+	+
Carne vermelha	- Principalmente desconhecido; - Aumento da inflamação endotelial; - Activação dos macrófagos-	-	+	+
Modificação genética	- Principalmente desconhecido;	+	+	+

- Redução de vitamina A ou deficiência calórica dependendo da modificação e localização;
- Sem impacto aparente na doença alérgica;
- Aumento da exposição a pesticidas;
- Potencial de transmissão de genes funcionais para as bactérias do intestino delgado.

Legenda: "+" Com evidência; "-" Sem evidência; CD14 Receptor molecular *Cluster of Differentiation 14*; IL-6 Tipo 6 de Interleucina; IL-10 Tipo 10 de Interleucina; IL-17 Tipo 17 de Interleucina; TLR2 Tipo 2 de *Toll-Like Receptors/Receptores do Tipo Toll*; TLR14 Tipo 14 de *Toll-Like Receptors/Receptores do Tipo Toll*.

Tabela traduzida e adaptada (Kadhum & Shamma, 2017; Myles, 2014).

O mecanismo associado a estas alterações pode já ter sido identificado no modelo animal. Na simulação dos efeitos do consumo prolongado da dieta ocidental foi observado um elevado aumento do número de astrócitos (astrocitose) e da activação da micróglia e monócitos, em resposta aos ateromas (placas) no hipocampo (Graham et al., 2016). Este mecanismo é coerente com a argumentação aqui exposta pelo envolvimento imunológico da neuróglia.

Actualmente, o nível de compreensão dos efeitos da dieta ainda não é extensamente investigado em humanos. A complexidade dos mecanismos envolvidos dificulta a compreensão dos estudos, uma vez que a análise isolada de componentes alimentares não traduz a interacção entre os vários macronutrientes e micronutrientes presentes na dieta. A representação da dieta ocidental é respeitada na bibliografia, no entanto, é observada heterogeneidade nas análises realizadas. A dieta ocidental é parte integrante de um conjunto de dietas disponíveis, por exemplo, a dieta mediterrânica, cetogénica, vegetariana e paleolítica. Dada a maior representação da dieta mediterrânica nos povos europeus, alguns resultados da dieta ocidental são-lhe comparados. Nesta comparação, de uma forma geral, tem sido observado que a dieta mediterrânica apresenta melhores resultados e uma menor implicação na doença. A dieta mediterrânica é caracterizada por uma maior ingestão de frutas e vegetais, cereais integrais, frutos secos, leguminosas, peixe, vinho tinto e menor consumo de carne vermelha e lacticínios. Uma maior ingestão de fruta, vegetais e peixe foi associado ao menor *stress* oxidativo e maior plasticidade e fluidez sináptica atrasando o declínio cognitivo (Shakersain et al., 2016) e tendo um menor risco cardiovascular (Kontogianni & Panagiotakos, 2014) e de Doença de Alzheimer (W. B. Grant, 2016).

Na interpretação destes resultados, tendo como base a argumentação exposta, podem ser consideradas as seguintes hipóteses. A diferença dos resultados entre as dietas ocidental e mediterrânica pode não ser relativa aos alimentos em si, mas às substâncias químicas mais associadas aos alimentos processados e carne vermelha. Por outro lado, o factor protector associado ao consumo do peixe poder ser principalmente representativo do seu não-processamento, uma vez que são capturados no mar.

A conceito tradicional de dieta aborda as proteínas, gorduras, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. No entanto, a dieta ocidental resulta numa exposição a um conjunto massivo de novas substâncias químicas (naturais extraídas ou sintéticas), que possivelmente amplificam

o aumento das alterações no epitélio intestinal (Pfeffer-Gik & Levine, 2014). A Tabela 6-10 apresenta as principais categorias de substâncias adicionadas aos vários alimentos, representando a massificação da utilização de ingredientes nos alimentos pós-industriais. Actualmente, mais de 387 aditivos alimentares estão registados na base de dados europeia (European Commission, 2017). São representados pelo código "E-número", simbolizando os aditivos aprovados para utilização na indústria alimentar (European Commission, 2017; Food Additives and Ingredients Association, 2017; Food Standards Agency, 2016) e com informação pública disponível (European Food Safety Authority, 2017).

Tabela 6-10 Tipos de substâncias adicionadas aos alimentos

Tipos de ingredientes	Objectivo de utilização	Exemplos	Nomes e classificações conhecidas
Conservantes	Prevenir a deterioração do alimento por acção bacteriana, fungo ou levedura (antimicrobianos); atrasar mudanças de cor, sabor, textura e frescura (antioxidantes).	Molhos e geleias de fruta, bebidas, alimentos de padaria, carnes curadas, óleos e margarinas, cereais, temperos, snacks, frutas e vegetais.	Ácido ascórbico e cítrico, benzoato de sódio, propionato de cálcio, eritorbato de sódio, nitrito de sódio, sorbato de cálcio, sorbato de potássio, hidroxianisol butilado (BHA, do inglês, <i>Butylated Hydroxyanisole</i>), hidroxitolueno butilado (BHT, do inglês, <i>Butylated Hydroxytoluene</i>), ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) e tocoferol (vitamina E).
Adoçantes	Adoçar sem aumento do aporte calórico.	Bebidas, alimentos de padaria, confeitaria, adoçante e maioria dos alimentos processados.	Sacarose, glucose, frutose, sorbitol, manitol, xarope de milho, sacarina, aspartame, sucralose, acesulfame, sucrose (açúcar), glucose, frutose, sorbitol, manitol, xaropes, xaropes de frutose, sacarina, aspartame, sucralose, neotame e acesulfame-K.
Aditivos de cor ou colorantes	Compensar a perda de cor pela luz, ar, temperatura, humidade e condições de armazenamento; corrigir variações naturais de cor; aumentar as cores naturais; adicionar cor a alimentos sem cor e guloseimas.	Maioria dos alimentos processados, doces, snacks, margarina, queijo, bebidas, geleias, comportas, gelatina, pudins e recheios de tartes.	Colorantes diversos (nomenclatura de registo: FD&C Blue Nos. 1, FD&C Blue Nos. 2; FD&C Green No. 3; FD&C Red Nos. 3; FD&C Red Nos. 40; FD&C Yellow Nos. 5 e 6, Orange B, Citrus Red No. 2); extractos de colorau, açafão, paprika, β -caroteno, pele de uva, carmina, <i>Dactylopius coccus</i> (insecto).
Aditivos de sabor e condimentos	Adicionar sabores específicos, naturais ou sintéticos.	Recheios de pudim e tartes, gelatinas, bolos, saladas, temperos, doces, bebidas, gelados e molhos.	Aromas naturais, aromas artificiais e especiarias.

Intensificadores de sabores	Aumentar os sabores já presentes nos alimentos.	Maioria dos alimentos processados.	Glutamato monossódico, proteína de soja hidrolisada, extracto de levedura autolisada, guanilato ou ionisato dissódio.
Substitutos de gordura	Adicionar textura e cremosidade aos alimentos a que foram retiradas as gorduras.	Alimentos de padaria, temperos, sobremesas geladas, confeitaria e lacticínios.	Olestra, gel de celulose, polidextrose, amido modificado, proteína de ovo microparticulada e do soro de leite, goma de guar e de xantana.
Nutrientes	Substituir as vitaminas e minerais perdidos durante o processamento alimentar ou adicionar vitaminas em falta.	Farinha, pão, cereais, arroz, massa, margarina, sal, leite, bebidas de fruta e barras energéticas.	Hidroclorido de tiamina, riboflavina (vitamina B2), niacina, niaciamida, folato, β -caroteno, iodeto de potássio, sulfato de ferro, tocoferol, ácido ascórbico, vitamina D e aminoácidos (triptofano, lisina, leucina, metionina).
Emulsionantes	Permitir a mistura de ingredientes; prevenir a separação; tornar os produtos estáveis; reduzir textura pegajosa; controlar cristalização; facilitar a dissolução de produtos.	Temperos de saladas, manteiga de amendoim, chocolate, margarina e sobremesas congeladas.	Lecitina de soja; mono e diglicerídeos; gema de ovos; polissorbatos e monoestearato de sorbitano.
Estabilizadores, engrossadores, agregadores e texturizadores	Produzir texturas uniformes.	Sobremesas congeladas, lacticínios, misturas de pudins e gelatinas, temperos, compotas, geleias e molhos.	Gelatina, pectina, goma de guar e xantam, soro de leite e carragenina.
Agentes controladores de pH e acidulantes	Controlar a acidez e alcalinidade; prevenir a deterioração dos alimentos.	Bebidas, sobremesas congeladas, chocolate, comidas enlatadas e fermento.	Ácido láctico e cítrico, hidróxido de amónia e carbonato de sódio.
Agentes fermentadores	Provocar o crescimento dos alimentos cozinhados.	Pão e outros alimentos de padaria.	Bicarbonato de sódio, fosfato monocálcio e carbonato de cálcio.
Agentes anticazedura	Impedir agregação de alimentos pulverizados; prevenir a absorção de humidade.	Sal, levedura química e açúcar para confecção.	Silicato de cálcio, citrato de amónio férrico e dióxido de silício.
Humectante	Reter humidade.	Coco ralado, gomas e confeitaria.	Glicerina e sorbitol.
Nutrientes de levedura	Promover o crescimento das leveduras.	Pão e outros alimentos de padaria.	Sulfato de cálcio e fosfato de amónio.

Condicionadores e fortalecedores de massas	Produzir massas mais estáveis.	Pão e outros alimentos de padaria.	Sulfato de amónio, azodicarbonamida e cisteína.
Estabilizadores	Manter os alimentos duros e estaladiços	Vegetais e frutas processadas.	Clorido de cálcio e lactato de cálcio.
Preparados enzimáticos	Modifica proteínas, polissacarídeos e gorduras.	Queijo, lacticínios e carne.	Enzimas, lactase, papaína, coalho e quimosina.
Gases	Servir como propulsor, ventilar ou criar carbonação.	Sprays alimentares, chantili e bebidas gaseificadas.	Dióxido de carbono e óxido nítrico.

Legenda: BHA *Butylated Hydroxyanisole*, Hidroxianisol Butilado; BHT *Butylated Hydroxytoluene*, Hidroxitolueno Butilado; EDTA Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético; pH Potência de hidrogénio.

Tabela traduzida e adaptada (U.S. Food & Drug Administration, 2010).

A representação de uma dieta saudável é amplamente variável, principalmente na comparação dos efeitos entre os diferentes tipos de dieta. Muitas especulações têm sido criadas, ainda sem suporte empírico. Os resultados mais coerentes, assentes no mais alto nível de evidência, foram descritos anteriormente. Nestes resultados foi observada uma tendência clara do envolvimento imunológico e da microbiota na mediação do impacto de várias patologias. Por exemplo, no caso neurológico da Doença de Alzheimer, cujo mecanismo apresenta coerência com esta conceptualização, foi observado no Japão um aumento dos casos de 1% em 1985 para 7% em 2008 (W. B. Grant, 2016). Nos recentes estudos ecológicos, este aumento está associado à transição de uma dieta tradicional, associada a maior longevidade (Yamamoto et al., 2016), para uma dieta ocidental (W. B. Grant, 2016). Para esta tese, importa compreender que existe ligação entre a dieta como factor de risco de várias doenças e por mecanismos coerentes com esta conceptualização. Seria importante perceber se os *causadores* são os alimentos apontados ou as substâncias adicionadas na sua produção. Dois factores apontam para o segundo cenário: 1) o consumo dos produtos referenciados (carne, ovos, lacticínios, cereais) já ocorre há milhares de anos, mesmo considerando o período Pós-Agricultura, o que significa que a exposição a estes alimentos já poderia ter desencadeado as patologias referidas; e 2) o crescimento epidemiológico das doenças é coerente com o período pós-industrialização da agricultura e adição química, o que representa a utilização dos mesmos alimentos, mas processados, refinados ou com novas substâncias adicionadas. Assim, esta tese considera a hipótese de que o envolvimento repetido do sistema imunológico na etiologia das principais doenças *ocidentais* pode representar uma tentativa de defesa deste sistema às novas substâncias e não aos alimentos. Por outro lado, a tendência generalizada do aumento das doenças referidas, com novos casos em idades progressivamente inferiores, poderá ser relativa ao facto da exposição continuada a estas substâncias ser também progressivamente mais cedo.

A exploração dos possíveis mecanismos etiológicos alimentares na PHDA, neste argumento J.3, revelou resultados mais amplos e de possível implicação nas várias doenças *modernas*.

Há evidência de que poderá existir uma tendência entre o padrão de produção alimentar, a alteração da constituição da microbiota, a alteração do funcionamento intestinal, o envolvimento imunológico e, por fim, o impacto neurológico. O facto desta tendência ser tão abrangente, será possivelmente explicada pela complexidade da relação *microbiota-intestino-imuno-neurológica*. Relevante para esta conceptualização é a coerência dos mecanismos repetidamente descritos, dando suporte teórico à suposição de que estes factores ambientais alimentares resultam, em última instância, em alterações neuroanatómicas e de neurofuncionamento coerentes com a PHDA.



6.J.4 Argumento: existem outros factores pós-industriais de carácter inflamatório

Os padrões e estilos de vida também apresentam características disbióticas e inflamatórias

A entrada na Era Industrial criou alterações sociais que se repercutem nos padrões básicos de vida como o tipo de trabalho, mais de *interior*, ritmo de trabalho, com uma exposição continuada a níveis de *stress*, e alterações nos padrões de sono. Este factores apresentam igualmente características inflamatórias que podem repercutir-se neurologicamente.



6.J.4.1 A diminuição de vitamina D é devida às alterações sociais e alimentares

A vitamina D, como factor ambiental e social, tem um mecanismo de impacto através da relação microbiota-imuno-neurológico.

A vitamina D representa um exemplo de como a dieta se complementa com outros factores ambientais, neste caso, com o estilo de vida. A vitamina D está associada à Doença de Alzheimer pela redução do risco desta doença através da redução de inflamação. A baixa concentração de vitamina D aumenta a de proteína reactiva C (um marcador de inflamação sistémica e associada ao maior risco de Doença de Alzheimer). Por outro lado, ajuda a manter as ligações das junções celulares e, através do seu metabolito hormonal, estimula a remoção de β -amilóide pelos macrófagos. No modelo animal foi observado que a vitamina D protege os neurónios pela prevenção da citotoxicidade, apoptose e regulação dos seus receptores, que por sua vez estão ligados aos cromossomas, alterando a expressão genética (W. B. Grant, 2016). Assim, tendo em conta que vitamina D pode ser formada na pele por acção dos raios solares ultravioleta, a mudança para um estilo de vida de interior pode representar um factor ambiental de carácter inflamatório precursor das doenças referidas. Assim, este exemplo representa a ligação entre os factores ambientais, neste caso da dieta e exposição ambiental,

no impacto imunológico e neurológico, seguindo a linha de argumentação desta tese. Esta suposição é multiplamente suportada nos seguintes pontos:

- é directamente coerente com a suposição de que a redução da exposição solar e a redução da ingestão de peixe (fonte de vitamina D), característico da Era Pós-Industrial, alteram o equilíbrio corporal de vitamina D (Derrien & Veiga, 2017);

- o impacto do baixo nível de vitamina D no sistema imunológico, descrito no parágrafo anterior, complementa o resultado de Derrien e Veiga (2017) o que, por sua vez, é coerente com a ligação entre a exposição solar e a regulação do sistema imunológico através da produção de vitamina D e óxido nítrico (G. A. Rook, 2013);

- foi reportado um estado pró-inflamatório, com aumento da proteína C-reativa e diminuição de albumina, em crianças e adolescentes com comportamentos de desregulação (Holtmann et al., 2013);

- o agravamento do défice de vitamina D, por diminuição da exposição solar e redução da ingestão de peixe, é também coincidente com o aparecimento da asma. A coincidência desta relação pode ser explicada de várias formas: 1) a vitamina D tem efeito no desenvolvimento dos pulmões; 2) os genes de desenvolvimento da vitamina D são regulados pelos mesmos genes relacionados com a asma; 3) a vitamina D tem efeito nas células e nos processos imunológicos; e 4) é um factor importante no funcionamento da microbiota intestinal (S. T. Weiss & Litonjua, 2015). Este envolvimento da microbiota intestinal na justificação desta relação é coerente com esta conceptualização, na relação microbiota-imunológica;

- e foi reportada uma diminuição significativa de vitamina D, B12 e ferritina em casos de PEA e PHDA, sem que estes casos apresentem anemia ou outras diferenças hematológicas (Garipardic et al., 2017).

Assim, o exemplo da vitamina D é coerente com toda a linha de argumentação desta tese, relativamente à sequência da alteração da exposição ambiental social e alimentar, ao impacto na microbiota humana, sistema imunológico e neurológico, ao padrão sistémico inflamatório, a alterações de neurodesenvolvimento e à PHDA.



6.J.4.2 O *stress* pré e pós-natal apresenta características inflamatórias

A Era Pós-Industrial alterou rapidamente a exposição ao stress para um padrão contínuo.

O *stress* pode ser definido como uma resposta corporal neuroendócrina não-específica a eventos. Este é um termo genérico que inclui vários tipos de exposição, desde a exposição aguda à exposição crónica e desde factores mais intensos, como a morte de familiares, catástrofes e acidentes, a factores mais continuados, como o *stress* diário (V. Glover, 2014; Stavrou et al., 2017).

A evidência dos estudos prospectivos demonstrou que a presença de *stress* materno durante a gravidez está associada ao menor peso à nascença, ao menor tempo de gestação e ao

maior risco de alterações de neurodesenvolvimento, incluindo PHDA. Em termos comportamentais foram observadas alterações no temperamento, problemas de sono e alterações cognitivas (V. Glover, 2014).

O sistema relacionado com o neurofuncionamento do *stress* consiste na comunicação entre o eixo HPA, o cerúleo (nível de alerta), sistemas autonómicos noradrenérgicos e os vários locais de interacção. Estes locais de interacção incluem o sistema de recompensa dopaminérgico meso-cortical e meso-límbico, o núcleo central da amígdala e o hipocampo. A actividade deste sistema é influenciado pela serotonina, acetilcolina, GABA, neuropéptido Y, leptina e substância P (Stavrou et al., 2017). O envolvimento do eixo HPA na regulação de comportamento e do hipocampo na memória e sistema de recompensa apresenta coerência com o neurofuncionamento da PHDA.

São considerados vários mecanismos através dos quais o *stress* materno, pré-natal, e individual da criança pós-natal têm impacto no funcionamento corporal da própria criança:

- o maior *stress* materno pré-natal pode estar relacionado com a diminuição do fluxo sanguíneo para o feto, no entanto, estes resultados não foram ainda replicados (V. Glover, 2014);

- podem ocorrer alterações na placenta, o principal mediador da exposição do bebé, que alteram o funcionamento da enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase tipo 2 (11 β -HSD2, do inglês, *11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2*) que converte o cortisol para cortisona inactivada. No modelo animal foi observado que uma redução desta enzima pode traduzir-se numa exposição fetal aumentada aos níveis de cortisol materno. (V. Glover, 2014);

- a exposição pré-natal ao *stress* pode estar associada ao aumento da exposição de cortisol pelo feto, no entanto, apesar da placenta humana produzir a Hormona Libertadora de Corticotrofina (o que aumenta os níveis de cortisol materno), o eixo HPA materno torna-se gradualmente menos responsivo com o avançar da gravidez (V. Glover, 2014). Por outro lado, a exposição individual pós-natal traduz-se numa redução da expressão dos receptores de glucocorticóides⁴³ no hipocampo, alterando a resposta adaptativa ao *stress* (Stavrou et al., 2017);

- pelas alterações de serotonina, uma vez que durante a gestação esta actua como um factor trófico regulador da divisão celular, diferenciação e sinaptogénese. No modelo animal foram observadas alterações em vários processos neuronais (V. Glover, 2014);

- pelas mudanças epigenéticas (abordadas no argumento K) de alterações reversíveis na estrutura do DNA. No modelo animal o *stress* pré-natal provocou alterações no DNA que codifica o receptor que se liga à hormona cortisol (V. Glover, 2014). Estes mecanismos de responsividade genética são também considerados na exposição ao *stress* pós-natal (Bakusic, Schaufeli, Claes, & Godderis, 2017; Bondar & Merkulova, 2016);

⁴³ Produto final do eixo HPA e responsável por regular funções como crescimento, comportamento, cognição e metabolismo.

- e por fim, através das citocinas, por mecanismos ainda não totalmente compreendidos. Por um lado, o *stress* materno está associado ao aumento de IL-6 (V. Glover, 2014). Por outro lado, a exposição ao *stress* individual, como um momento intenso ou o *stress* crónico, pode modificar o equilíbrio dinâmico energético da interacção entre os neurónios e a micróglia e alterar sinápticamente os neurotransmissores. Tanto os neurónios como a micróglia são sensíveis ao *stress* psicossocial o que aumenta a susceptibilidade de doenças mentais (Thibaut, 2017).

Actualmente não é conclusivo qual o principal mecanismo envolvido. De acordo com esta conceptualização, pode ser especulado que o mecanismo imunológico através das citocinas inflamatórias, pelo seu impacto neurológico central no eixo HPA, pode ser justificativo das alterações de neurodesenvolvimento na PHDA. Suporta esta suposição, a recente demonstração de que uma situação de *stress*, neste caso pelo processo de treinamento militar, resultou no aumento da permeabilidade intestinal com alteração do metabolismo e composição da microbiota intestinal (Karl et al., 2017). Assim o *stress*, como factor ambiental, provoca alterações no indivíduo através da exposição pré e pós-natal, possivelmente pelos argumentos *microbiota-imuno-neurológicos* expostos nesta tese.

Dado o flagelo social associado ao *stress* permanente, principalmente nos países desenvolvidos, este pode representar mais um factor ambiental que surgiu rapidamente com o aumento da densidade populacional Pós-Agricultura e que se intensificou na Era Pós-Industrial. Pode representar mais uma desadaptação do sistema biológico humano *ainda* evolutivamente preparado para ser vantajoso nos papéis de *caçador*, com maior intensidade de *stress* durante curtos momentos, e de *presa*, com necessidade de maior responsividade dos comportamentos de fuga. Não deixa de ser biologicamente coerente que o *stress* materno durante a gestação provoque que a criança apresente características de maior reactividade e intensidade, de forma a estar adaptada às exigências do ambiente em que a mãe se encontra. A entrada na Era Pós-Agricultura provocou a desadaptação deste sistema biológico pela rápida mudança ambiental de momentos pontuais para uma exposição continuada ao *stress*, em linha com o argumento J.2.



6.J.4.3 A exposição à luz artificial alterou os padrões de sono e os níveis de melatonina

A mudança dos padrões biológicos do sono desregula a microbiota e tem impacto imunológico, inflamatório e neurológico.

A melatonina é secretada na glândula pineal durante a noite tendo níveis praticamente indetectáveis durante o dia. A duração da sua secreção actua como um mecanismo de conversão do fotoperíodo em mudanças sazonais comportamentais e reprodutivas. A regulação da sua secreção está sobre o controlo circadiano do núcleo supraquiasmático, no entanto, pode ser directamente suprimida pela acção da exposição à luz na retina. Esta

variação, observada nos dias mais curtos e longos, assume um papel tão importante que é um dos fundamentos fisiológicos da Perturbação Depressiva sazonal (Lam et al., 2004).

A melatonina apresenta um papel imunorregulador directo, afectando os leucócitos com os seus receptores, e indirecto, regulando outras hormonas, opióides e citocinas. Actua como um *amortecedor* imunológico, funcionando como inibidor e activador nos casos de resposta exagerada, *stress* crónico e alterações derivadas do envelhecimento (Manka & Majewska, 2016). O eixo imuno-pineal é responsivo aos mediadores inflamatórios. O aumento nocturno de melatonina activa os macrófagos e os linfócitos-T. Aumenta a resposta dos linfócitos Th1, correspondendo ao aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, e diminui a resposta dos linfócitos Th2, correspondendo à diminuição de citocinas anti-inflamatórias. As citocinas pró-inflamatórias dos macrófagos e linfócitos Th1 alteram os níveis dos neurotransmissores serotonina, noradrenalina e dopamina (Lam et al., 2004). Assim, o impacto da melatonina no sistema e perfil imunológico é coerente com esta conceptualização.

Tem adicional coerência com esta ligação imuno-neurológica o facto das alterações endógenas, provocadas pela melatonina, estarem associadas às perturbações do foro mental (Antúñez et al., 2014), como a Perturbação Depressiva sazonal (Lam et al., 2004), Perturbação Bipolar (Alloy, Ng, Titone, & Boland, 2017) e Doença de Alzheimer (Saeed & Abbott, 2017). Relativamente à PHDA, a associação ocorre por mecanismos ainda por compreender, no entanto com potencial de ser uma área de intervenção (Coogan & McGowan, 2017). Com base na argumentação desta tese, pode supor-se que as alterações do padrão do sono, e consequente redução da exposição solar, contribuem para uma redução dos níveis de melatonina, o que reduz a sua acção imunorreguladora e aumenta o perfil imunológico inflamatório que, pelos mecanismos descritos nesta tese, têm impacto no neurodesenvolvimento da PHDA. Desta forma, este pode ser o mecanismo que poderá ajudar a compreender a dicotómica causa e efeito entre a PHDA e as alterações de sono (ver subcapítulo 2.3.3.5). Claro que outros factores ambientais, como os alimentos ou as doenças alérgicas, para além de serem coerentes com as alterações imunológicas, têm impacto nos níveis de melatonina. No entanto, para este argumento, importa expor que de forma isolada é conceptualmente possível este impacto, representando mais um factor ambiental de mecanismo coerente.

Dado o estado recente do estudo do Microbioma Humano, somente em 2016 foi compreendido que a microbiota é responsiva à melatonina presente no lúmen do tracto gastrointestinal e ao ritmo endógeno circadiano. Apesar da melatonina ser percebida como um neuromodulador pineal e retinal, como descrito anteriormente, está presente em todo o sistema gastrointestinal. Em parte, esta presença deve-se à secreção pineal, no entanto, as enzimas sintetizadoras de melatonina encontram-se na mucosa intestinal, nas células enterocromafim e nas células epiteliais do ducto biliar. Apesar de ainda não serem compreendidos os mecanismos do impacto na microbiota, foi demonstrado que a sua constituição se sincroniza de forma comensal de acordo com o impacto endócrino da melatonina, representando mais um

mecanismo através do qual os factores ambientais moldam a microbiota humana (Paulose, Wright, Patel, & Cassone, 2016). Esta evidência representa a ligação da microbiota ao impacto imuno-neurológico descrito anterior. Assim, de acordo com a argumentação desta tese, pode supor-se que a ligação *microbiota-imuno-neurológica* ocorre através da microbiota intestinal e que, em última instância, representa o mecanismo de impacto no funcionamento neurológico coincidente com a PHDA.

Adicionalmente, numa perspectiva antropológica, a exposição à luz artificial aumentou significativamente após a Era Industrial e com o desenvolvimento tecnológico. Esta mudança é representada pelo aumento progressivo da luminosidade e tamanho das lâmpadas, monitores de computador, televisores, *tablets* e telemóveis. Esta luminosidade é suficiente para atrasar o aumento do ritmo circadiano de melatonina. Igualmente, a normalidade dos padrões de sono com a hora de adormecer entre as 22 horas e a uma da manhã corresponde a um largo período após o pôr-do-sol, o que se traduz no atraso do relógio biológico (Dijk, 2013). Com base na argumentação exposta esta modificação tecnológica pode representar mais uma alteração repentina no funcionamento biológico de consequências inflamatórias e de impacto *microbiota-imuno-neurológico*.

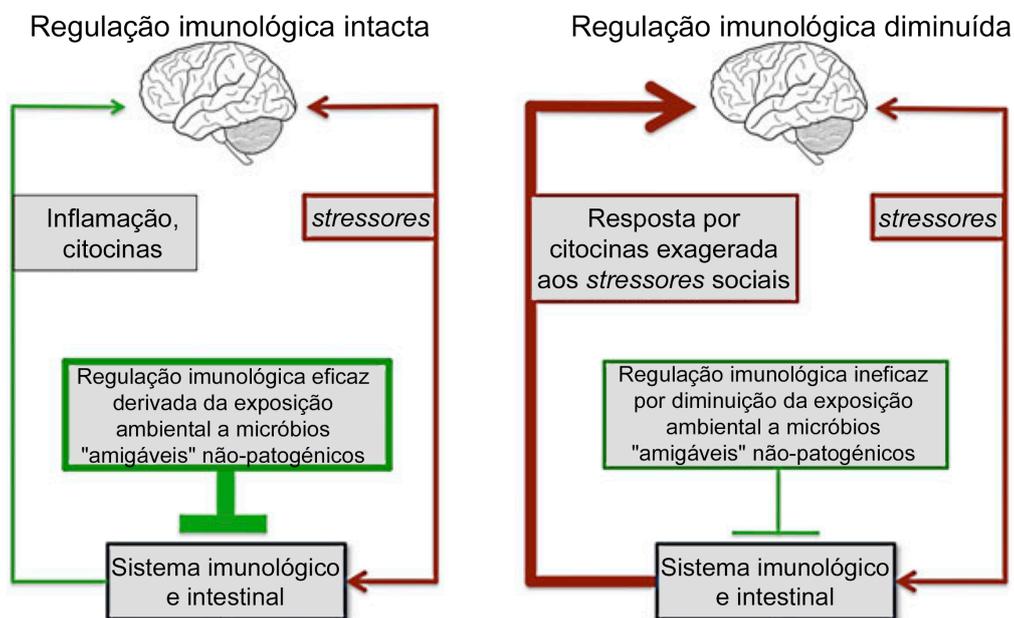


Figura 6-13 Regulação imunológica da exposição ambiental

A redução da exposição ambiental a micróbios "amigáveis" não-patogénicos, como os helmintos, juntamente com as alterações microbiota-intestino-imunológicas aumenta a susceptibilidade da libertação excessiva de citocinas em resposta aos factores de *stress* ambientais.

Figura traduzida e adaptada (G. A. W. Rook et al., 2014).

Perante este impacto ambiental, cumulativamente disbiótico e inflamatório, a carga genética do alelo DRD4-7R (ver argumento J.1) representa a susceptibilidade imunológica que, pela ligação *microbiota-imuno-neurológica*, potencia as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA. Esta consideração é coerente com a Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica na etiologia da PHDA, através do eixo intestino-encefálico (ver argumento 4.D.3, Figura 6-6).

A Era Pós-Agricultura e, principalmente, a Era Pós-Industrial são caracterizadas por mudanças repentinas nos padrões basilares do funcionamento biológico com recorrente carácter inflamatório, disbiótico e de *disrupção* endócrina. Isoladamente, cada factor ambiental apresenta sustentação do seu impacto na microbiota humana e na alteração do funcionamento imunológico e neurológico.

Se cada factor ambiental isoladamente tem mecanismos e consequências convergentes com esta conceptualização, então a coerência dos mecanismos imunológicos e neurológicos pode representar a sua viabilidade.

Conclusões-chave do Argumento J

Têm ocorrido mudanças da exposição ambiental e do ecossistema terrestre, caracterizadas por um aumento de velocidade exponencial e sem precedentes nos últimos 10 000 anos com o aparecimento da agricultura (8500 a.C.), a universalização da agricultura (de 2500 a.C. até ao século XIX), e a Era Industrial (até ao presente);

As alterações pós-industriais têm um impacto sistémico e temporal em todo o ecossistema terrestre, que apresenta um núcleo reduzido com um equilíbrio elementar e microbiano, à semelhança do Microbioma Humano;

A exposição ao aumento do nível de óxido nítrico pode representar um dos mecanismos através do qual a exposição química resulta em alterações de neurodesenvolvimento e na PHDA. Esta exposição danifica a modulação dos receptores dopaminérgicos, em específico o DRD4, o que resulta no aumento da activação da micróglia através da citocina inflamatória IL-17;

O facto de que os elementos naturais, como o caso do chumbo, poderem ser tóxicos na exposição, no entanto, sendo essenciais ao funcionamento biológico (metaloproteínas), representa a linha ténue do equilíbrio necessário à vida;

Existe uma falta de informação e evidência relativamente ao impacto das alterações atómicas e elementares químicas pós-industriais, sendo inconcebível a repercussão que podem ter celularmente no ecossistema microbiano, Microbioma Terrestre e Humano, funções fisiológicas humanas e, por fim, neurodesenvolvimento;

A mutação do gene DRD4-7R é recente e resultado de uma forte pressão evolutiva. Pode representar o genótipo da susceptibilidade dopaminérgica, mencionada na Hipótese alternativa da implicação dopaminérgica, na etiologia da PHDA, através do eixo intestino-encefálico;

A interpretação da IgE, ancestralmente ligada à evolução humana e um marco actual das doenças alérgicas, suporta que a hipersensibilidade alérgica é um processo de adaptação disfuncional somente observado no ser humano;

Estão identificados químicos *disruptores* endócrinos implicados no neurodesenvolvimento, através da alteração dos mecanismos hormonais (por acção similar aos neurotransmissores) e do eixo HPA, da perda dopaminérgica, da activação imunológica, da libertação de citocinas e do *stress* oxidativo. Estes representam mecanismos de acção coerentes com a hipótese da ligação imuno-neurológica aqui exposta;

Os padrões alimentares apresentam características disbióticas que resultam no aumento da permeabilidade intestinal e activação imunológica, sendo um mecanismo similar às perturbações do foro mental;

As nitrosaminas representam um exemplo específico de como um padrão alimentar pode estar ligado à fisiopatologia mental, imunológica, ambiental e genética;

A prevalência da alergia alimentar segue a tendência do aumento da dieta ocidental, tendo um percurso epidemiológico similar ao da PHDA;

No modelo animal, no consumo prolongado de uma dieta ocidental foi observado um elevado aumento do número de astrócitos (astrocitose) e da activação da micróglia e monócitos em resposta aos ateromas (placas) no hipocampo. Este mecanismo é coerente com a argumentação aqui exposta pelo envolvimento imunológico da neuróglia. Foi também observado que o padrão alimentar ocidental em poucas gerações altera irreversivelmente a microbiota intestinal, o que representa um impacto transgeracional que, pelos mecanismos epigenéticos (descritos de seguido no argumento K), representam um efeito cumulativo dos factores ambientais;

Os exemplos da vitamina D, do *stress*, da melatonina e do sono representam mecanismos específicos, convergentes com esta argumentação, de como as alterações sociais têm impacto na microbiota humana, no

sistema imunológico, no padrão sistémico inflamatório, no impacto no sistema neurológico, nas alterações de neurodesenvolvimento e no funcionamento neurológico observado na PHDA;

Caso surja evidência que relacione os sistemas bio-geo-químico e microbianos, a argumentação desta tese suporta a fácil conceptualização nas alterações de neurodesenvolvimento humano;

Pode ser considerada a hipótese de que o envolvimento repetido do sistema imunológico na etiologia das principais doenças *ocidentais*, pode representar uma tentativa de defesa das novas substâncias alimentares e não dos alimentos;

A tendência generalizada do aparecimento cada vez mais precoce de várias doenças pode ser justificada pela exposição ambiental continuada e progressivamente mais cedo;

Pode-se considerar a hipótese de que a estabilização da prevalência da PHDA pode estar associada à adopção de medidas preventivas de exposição química pelas entidades competentes;

Existe uma coerência repetida em todos os mecanismos descritos nesta argumentação, dando suporte teórico à suposição de que estes factores ambientais alimentares resultam, em última instância, em alterações neuroanatómicas e de neurofuncionamento coerentes com a PHDA.



6.K Argumento: a epigenética enaltece os factores ambientais

Os factores ambientais alteram o património genético da microbiota intestinal (por transferência genética horizontal), do indivíduo (por responsividade genética) e da descendência (por herança transgeracional).

O fenómeno da epigenética já tem sido referenciado nesta tese como *responsividade* ou *expressão* genética. No entanto, a criação de um argumento específico prende-se pela importância das suas implicações transversais. Apesar dos seus vários significados históricos e científicos, a epigenética representa o facto de que o mesmo património genético individual, o genótipo, por acção dos factores ambientais apresenta porções genéticas activadas enquanto outras porções se mantêm inactivadas. Isto significa que o mesmo património genético pode ter vários resultados finais possíveis, o fenótipo, sendo os factores ambientais que ditam quais as características finais individuais (Gayon, 2016; Stotz & Griffiths, 2016).



6.K.1 Argumento: o genótipo individual é responsivo

Os mecanismos epigenéticos alteram a codificação genética mediante os factores ambientais.

Os processos epigenéticos foram inicialmente observados no cancro, em que os supressores de tumor são silenciados, e nas síndromes de X-Frágil e de Rett. Molecularmente, a responsividade genética aos factores ambientais resulta de mudanças que alteram a expressão do genótipo, mas sem alterar a sequência de DNA (Elia, Sackett, et al., 2012). Os principais processos são a metilação dos nucleótidos do DNA, por exemplo a fixação de um radical metilo num nucleótido, e a mudança da configuração de histonas, proteínas associadas ao DNA nos cromossomas dos eucarióticos e que desempenham um papel fundamental na sua compactação (Gayon, 2016). Outros processos secundários também ocorrem como os factores de transcrição, paramutação, em que um alelo altera a expressão do seu homólogo, e marcação, em que o fenótipo de uma linha de células é mantida de forma que uma célula específica continua a dividir-se no mesmo tipo de célula (Elia, Laracy, Allen, Nissley-Tsiopinis,



& Borgmann-Winter, 2012). Estes fundamentos da epigenética suportam a importância dada na argumentação desta tese aos factores ambientais.

Actualmente, os mecanismos epigenéticos são reconhecidos na sua associação com várias doenças. Por exemplo, com relevância para esta tese, em perturbações do foro mental como a PHDA e a Perturbação do Espectro da Esquizofrenia (Cariaga-Martinez & Alelu-Paz, 2017; Elia, Sackett, et al., 2012), doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer e os processos cognitivos (Hwang, Aromolaran, & Zukin, 2017) e doenças alérgicas como a asma (I. V Yang, Lozupone, & Schwartz, 2017). Por outro lado, os factores envolvidos nestes mecanismos epigenéticos incluem os teratogénicos e os químicos *disruptores* endócrinos (Elia, Laracy, et al., 2012). Assim, tanto as doenças como os factores envolvidos na epigenética são coerentes com esta conceptualização.

A epigenética agitou, e agita, os paradigmas estabelecidos relativamente à evolução e à hereditariedade. Adiciona complexidade e altera a perspectiva da importância que os factores ambientais desempenham no resultado final individual. O conceito de que o património genético dita o resultado inevitável das características, capacidades e doenças encontra-se ultrapassado. É nesta mudança que assenta a elevada resistência que a epigenética encontra já desde a década de 1940. Numa tentativa de desvendar a organização dos organismos, a biologia molecular revelou a interdependência entre o organismo e o ambiente. Os factores ambientais *exteriores* aos genes activam, seleccionam e criam diferencialmente a informação biológica (Stotz & Griffiths, 2016).

Actualmente, foi reconhecido que nos eucarióticos, onde se inclui a espécie humana, as regiões codificadoras genéticas são envolvidas por um grande número de sequências não-codificadoras que regulam a expressão genética. A discrepância entre o número de sequências codificadoras e o número elevado de produtos genéticos levou à perspectiva de que a especificidade da informação das regiões codificadoras do DNA é amplificada por outras biomoléculas, de forma a ser possível especificar a variedade destes produtos. O número de proteínas encontradas nas células humanas, o proteoma humano, supera o número de genes codificadores proteicos no genoma humano em, pelo menos, uma ordem de grandeza. Isto sugere que para os produtos genéticos observados as sequências codificadoras contribuem numa parte muito inferior. Ou seja, os processos de transcrição amplificam o potencial codificador das próprias regiões codificadoras o que, por sua vez, representa que estes factores amplificadores ditam quais os produtos que o genoma deve codificar. Esta regulação da expressão dos genes ocorre através da activação do gene, da selecção da porção parcial entre a sequência total codificadora e da edição do RNA por troca de nucleótidos (Stotz & Griffiths, 2016).



6.K.2 Argumento: os mecanismos de expressão genética são observados na Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

O sistema serotoninérgico também está relacionado com as alterações imunológicas através de mecanismos e regiões neuroanatómicas coerentes com esta conceptualização e com a PHDA.

A importância da epigenética para a PHDA inicia-se pelo reconhecimento de que o património genético é insuficiente para justificar todas as alterações observadas (Tobias Banaschewski, 2009; Burt, 2009; Samuele Cortese, 2012; Nikolas & Burt, 2010; Wood, Buitelaar, Rijdsdijk, Asherson, & Kuntsi, 2010). A epigenética assume relevância por justificar as variações observadas, através dos seus mecanismos genéticos não-definitivos, e por explicar os resultados dos estudos em gémeos em que ocorrem influências ambientais partilhadas e não-partilhadas. A sintomatologia da PHDA persiste ao longo da vida, com variações ao longo do desenvolvimento observando-se a hiperactividade mais estável no início e meio da infância e a desatenção mais estável na fase final da infância e adolescência. Assim, a diminuição da hiperactividade ao longo da idade pode ser justificada pela diminuição do impacto dos factores ambientais na expressão epigenética dos genes envolvidos nos níveis de actividade. A intervenção farmacológica utilizada na PHDA é reconhecida por alterar o funcionamento dos neurotransmissores, no entanto, o modelo animal aponta igualmente para efeitos epigenéticos. Com o tratamento de metilfenidato, mais de 700 genes envolvidos na formação, maturação e estabilidade das conexões neurais foram observados elevados no estriado (Elia, Laracy, et al., 2012).

Adicionalmente, no modelo animal, vários factores dos mecanismos epigenéticos são coerentes com esta conceptualização (Elia, Laracy, et al., 2012):

- má nutrição, *stress* materno, infecção e compostos químicos tóxicos (como chumbo e bisfenol) alteram o desenvolvimento cerebral em vias associadas à PHDA;
- foram reportadas deficiências de dopamina e serotonina após exposição pré-natal aos lipopolissacarídeos bacterianos;
- a exposição pré-natal a baixos níveis de bisfenol resultou em alteração da plasticidade sináptica no estriado dorsal;
- a privação proteica pré-natal aumentou a resposta dos agonistas de dopamina;
- foi observada hiperactividade com alteração do sistema dopaminérgico, no mesencéfalo, na descendência do modelo materno de exposição ao *stress*;
- e a redução de serotonina na gravidez aumenta o padrão de actividade motora (Elia, Laracy, et al., 2012).



É igualmente importante, que a exposição pré-natal a glucocorticóides sintéticos (usados na gestão dos partos pré-termo e associados ao maior risco da PHDA) provoca alterações epigenéticas no eixo HPA, ficando a população dopaminérgica no mesencéfalo permanentemente alterada. Apesar destas medicações serem efectivas na melhoria da maturação pulmonar, a exposição repetida está associada à PHDA e resultam em alterações epigenéticas neuroanatômicas ou funcionais dos neurónios ou células da glia. A maior expressão de genes dopaminérgicos, incluindo o Inibidor de Quinase Dependente de Ciclina 1C (Cdkn1c, do inglês, *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 1C*), fundamental no desenvolvimento neuronal dopaminérgico, foi observada na descendência do modelo animal após uma dieta insuficiente em proteínas, ao longo da gravidez e lactação. A metilação da região de Cdkn1c a expressão do seu mRNA estão aumentadas encefalicamente nos casos de hiperactividade e alteração do sistema de recompensa. Por outro lado, esta maior expressão de Cdkn1c traduz-se num crescimento embrionário diminuído e baixo peso à nascença (Elia, Laracy, et al., 2012).

O estudo da epigenética nos genes envolvidos na etiologia da PHDA tem sido alargado. Foi demonstrado que os factores ambientais associados à exposição tóxica, nutrição e *stress* levam a alterações da metilação e níveis de histonas (Hamza et al., 2017; Lange, 2017), com especial destaque ao gene DRD4 (Hamza et al., 2017) ou à metilação do gene IGF2 pela alimentação (Cecil, Walton, & Barker, 2016). Desta forma, os mecanismos epigenéticos observados suportam o seu envolvimento na etiologia neuroanatômica e neurofuncional da PHDA. Adicionalmente, a expressão genética pode estar associada ao efeito do tratamento farmacológico na PHDA. Por exemplo, no SNC, os inibidores de noradrenalina inibem a produção de factores inflamatórios. O tratamento por atomoxetina pode limitar a actividade inflamatória no SNC, através do aumento da disponibilidade de noradrenalina que suprime a expressão das citocinas inflamatórias (Elia, Laracy, et al., 2012). Este facto representa a ligação dos factores imunológicos aos mecanismos epigenéticos específicos da PHDA, sendo coerente com os mecanismos argumentados nesta tese sobre as alterações neuroanatômicas e neurofuncionais.

Por outro lado, este envolvimento dos processos inflamatórios foi também observado em relação ao circuito serotoninérgico. No modelo animal, o *stress* e a presença de citocinas pró-inflamatórias activam o circuito entre os núcleos da rafe e o córtex pré-frontal medial. É aumentada a expressão genética associada aos neurónios serotoninérgicos na parte interfasciculada do núcleo dorsal da rafe, no tronco cerebral. A citocina IL-1 (inflamatória) induz um aumento prolongado da concentração extracelular de serotonina no córtex pré-frontal medial e hipocampo (associado à sintomatologia depressiva). Evolutivamente, este pode representar um mecanismo adaptativo de forma a lidar com a presença de elementos de *stress* ambientais. De facto, a exposição continuada ao *stress* ou processos inflamatórios pode levar à dessensibilização do circuito entre os núcleos da rafe e o córtex pré-frontal medial, retirando

a capacidade da resposta inicial. Curiosamente, este é um dos mecanismos neurológicos associados ao aparecimento de sintomatologia depressiva (G. A. W. Rook & Lowry, 2008).

Neste sentido, pode ser considerada a hipótese de que a exposição continuada ao *stress* e à resposta inflamatória pode ser a justificação para os casos da PHDA com alteração do sistema serotoninérgico. Neste caso, esta alteração do sistema serotoninérgico seria devida à perda de sensibilidade do circuito entre os núcleos da rafe e o córtex pré-frontal medial, com envolvimento do hipocampo, o que representa coerência, respectivamente, com as alterações nas regiões neuroanatómicas identificadas na PHDA e a estrutura fundamental da memória. Pode também ser representativo de disbiose intestinal, tendo em conta o seu papel como produtora e gestora de serotonina (no intestino encontra-se armazenada 95% da serotonina corporal).

Por outro lado, pode ser considerada a hipótese de que estes mecanismos podem justificar os casos de comorbilidade com a Perturbação Depressiva. Dada a enorme complexidade da relação *microbiota-imuno-neurológica*, o resultado final a esta exposição ambiental inflamatória pode apresentar vários desfechos e, dessa forma, justificar a elevada comorbilidade entre as várias perturbações do foro mental, incluindo o caso da PHDA, como descrito no subcapítulo 2.3.4. O que surge, mais uma vez, envolvido nestes factores etiológicos das alterações mentais são os processos inflamatórios, que de acordo com argumentação desta tese exercem impacto no neurodesenvolvimento e funcionamento neurológico.

O sistema dopaminérgico está também associado aos factores imunológicos (ver argumento D). Importa especificar o gene relativo ao transportador de dopamina DAT1/SLC6A3. No subcapítulo 2.3.1.2 foi demonstrada a sua pouca certeza relativamente ao risco da PHDA, apesar dessa evidência ser observada nos genes codificadores dos receptores e conceptualmente ser observado o seu papel no funcionamento do sistema dopaminérgico. Esta pouca certeza pode estar associada aos factores envolvidos na sua expressão que também contribuem para a variabilidade fenotípica. Este gene é caracterizado pela sua sensibilidade aos factores epigenéticos devido a vários factores como, por exemplo, o seu elevado número de Repetições Tandem de Número Variável (VNTR, do inglês, *Variable Number of Tandem Repeats*), que indicam a tendência da estrutura cromatina estar altamente acessível aos modificadores. Foi observado que a expressão do mRNA ao DAT diminui com a idade, em resposta à medicação, a factores ambientais e patogénicos (Elia, Laracy, et al., 2012). Tendo em conta este exemplo, os factores epigenéticos podem justificar a variabilidade do percurso individual dos casos com PHDA devido ao diferente impacto dos factores ambientais.

Assim, pode ser considerada a hipótese de que a sensibilidade epigenética do DAT pode significar que o sistema dopaminérgico (codificado pelos genes dopaminérgicos) será um sistema mais responsivo ao impacto dos factores ambientais e justificar a sua íntima relação

com um grande leque de doenças, desde o foro mental ao imunológico. Pode ser também considerada a hipótese de que a sensibilidade epigenética dos genes dopaminérgicos pode representar a sua maior susceptibilidade e a justificação da coincidência entre o aumento das diferenças ambientais e o aumento da prevalência das doenças mentais e alérgicas, nas Eras Pós-Agricultura e Pós-Industrial.



6.K.3 Argumento: a responsividade genética individual continua para a descendência

Existe estabilidade nas alterações epigenéticas representando a herança transgeracional dos factores ambientais.

Os argumentos K1 e K2 descrevem o impacto dos factores ambientais no património genético do indivíduo. No entanto, os mecanismos epigenéticos têm um envolvimento mais profundo, tendo também implicações na posterior descendência. A característica associada a este impacto entre várias gerações reside na estabilidade dos seus mecanismos. Ou seja, algumas das modificações derivadas da responsividade selectiva do património genético são transmissíveis e, dessa forma, comportam-se como alelos (Gayon, 2016; Stotz & Griffiths, 2016). Assim, a epigenética reacende a discussão na essência das perspectivas de Darwin e Lamarck sobre a evolução. Numa revisão realizada por Jablonka e Raz (2009) sobre esta herança epigenética transgeracional foi concluído que é omnipresente e demonstra uma estabilidade na transmissão genética até três gerações humanas e acima de oito gerações noutros animais (Jablonka & Raz, 2009; Stotz & Griffiths, 2016).

O controlo do desenvolvimento deste processo transgeracional é atribuído dos genes para o ambiente e vice-versa. Três mecanismos foram identificados: 1) a assimilação genética, em que o fenótipo que necessitava de um activador ambiental deixa de o necessitar; 2) a acomodação genética, que representa o processo através do qual o fenótipo pode se tornar mais responsivo às condições ambientais; e 3) acomodação fenotípica, que representa uma resposta adaptativa a um activador ambiental, sem ter alteração do genótipo. Este terceiro mecanismo pode ser visto como o primeiro passo da resposta à alteração ambiental, sem ainda estar geneticamente estabilizada, o que representa a fonte através da qual ocorre a inovação evolutiva (Stotz & Griffiths, 2016).

Um exemplo bem estudado de como o mecanismo epigenético medeia a herança transgeracional é relativo à influência do comportamento materno na cria, no modelo rato. O comportamento materno de afecto, neste caso de lamber e catar, estabelece padrões estáveis

de metilação nos genes localizados no hipocampo da cria. Estes genes alteram a sua expressão e o desenvolvimento cerebral tendo impacto na descendência seguinte. O comportamento de afecto similar na segunda geração estabelece o mesmo padrão de metilação na terceira geração, não sendo resultado da transmissão por linha germinal, ou herança genética não epigénica. O comportamento da nova mãe é, de alguma forma, maleável às mudanças ambientais, no entanto, a herança epigenética já a predispõe para esse comportamento. A responsividade genética funciona como ligação entre o ambiente dinâmico e o genoma fixo. Desta forma, a herança epigenética difere da herança genética nuclear sendo menos estável e mais facilmente reversível (Stotz & Griffiths, 2016). É assim evolutivamente compreensível que, por exemplo, o *stress* materno provoque uma descendência mais responsiva e mais activa de forma a corresponder ao ambiente em que será inserido (neste caso através das alterações epigenéticas no eixo HPA e sistema dopaminérgico).

Evolutivamente esta menor estabilidade epigenética confere uma vantagem perante o sistema hereditário. Está mais relacionado com a sensibilidade ao ambiente, afectando o desenvolvimento e as gerações imediatas o que confere mais capacidade adaptativa que a variação genética. Esta perspectiva *Lamarckista* colmata uma das fragilidades do *Darwinismo* relacionada com a manutenção de uma novidade genética (mutação) que surgiu. Para que esta nova mutação se mantenha necessita de apresentar uma vantagem evolutiva perante a pressão ambiental para que, por selecção natural, seja transmitida para a geração seguinte. No entanto, foi esta mesma pressão selectiva ambiental que conferiu vantagem ao genótipo pré-mutação. Ou seja, a conceptualização *Darwinista* não é tão robusta nas pequenas transições.

A epigenética explica a plasticidade do fenótipo e a capacidade de o genótipo produzir mais de que um fenótipo quando exposto a diferentes ambientes. Este fenótipo é adequado ao ambiente, denominado plasticidade ou acomodação fenotípica, estabelecendo pequenos estágios de evolução adaptativa. Assim, é possível que as rápidas alterações ambientais Pós-Agricultura e, principalmente, pós-industriais, exerçam dois grandes efeitos: 1) que tenham um efeito imediato epigenético no património genético nuclear, ou seja, no genótipo maioritariamente estável desde há 790 000 anos e adaptado ao ambiente *lento* até há 10 000 anos atrás; e 2) que tenham um efeito cumulativo entre as gerações, ditando pequenas transições através da activação selectiva da expressão genética. Caso este cenário se confirme empiricamente, apesar do processo epigenético ser reversível, as alterações Pós-Agricultura estarão já irreversivelmente impressas na expressão genética humana actual, sendo que, cumulativamente se lhe adicionaram as rápidas alterações pós-industriais e, coincidentemente, iniciou-se o maior aparecimento e crescimento das doenças mentais e imunológicas (especulado, no argumento anterior, que possa dever-se à alta acessibilidade aos modificadores do gene dopaminérgico).

Uma das principais diferenças das alterações pós-industriais, comparativamente às alterações Pós-Agricultura, reside na sua irreversibilidade. Claro que o processo de agricultura

condicionou o desenvolvimento de várias espécies e alterou o terreno para se adaptar às necessidades de cultivo e pastoreio. No entanto, estas mudanças tornam-se quase insignificantes se comparadas com as alterações pós-industriais de extracção massiva de materiais naturais, criação de materiais sintéticos, resíduos químicos de efeitos desconhecidos, consumo de recursos acima da capacidade de produção terrestre, aceleração de processos naturais, crescimento populacional e alteração de *habitat* com impacto mundial e transversal no tempo em vários milhões de anos. A Era Pós-Industrial trouxe alterações que, cumulativamente pelos mecanismos epigenéticos transgeracionais, apresentam um impacto que ultrapassa a nossa compreensão actual.

Esta suposição pode ser actualmente observada em relação à Doença de Crohn e asma. A Doença de Crohn evoluiu de sinais inflamatórios restritos à parte final do intestino delgado, na região distal do íleo, para um grupo de doenças heterogéneas e que são progressivamente reconhecidas como multigénicas, crónicas e enteropatias ambientais influenciadas pela susceptibilidade genética e resposta imunológica à disbiose da microbiota intestinal. Adicionalmente, a incidência tem sido progressivamente mais precoce, ocorrendo já em casos pediátricos. Estas variações têm sido associadas aos factores relativos à epigenética, microbiota e imunogenética. Coincidentemente, a Doença de Crohn tem evoluído nas últimas décadas à semelhança da PHDA e das doenças alérgicas, sendo igualmente reconhecido que os factores ambientais, através das alterações epigenéticas e microbióticas, estão a contribuir para este aumento (Alizadeh, Mortaz, Adcock, & Moin, 2017; DeFilippis, Longman, Harbus, Dannenberg, & Scherl, 2016).

Dentro destes factores ambientais, no caso da Doença de Crohn, destacam-se a dieta, a Hipótese da Higiene, o uso de antibióticos e a mudança climática (DeFilippis et al., 2016). No caso da asma, destacam-se a presença de alérgenos, exposição ao tabaco, dieta, *stress*, alteração da exposição microbiana, poluição atmosférica e metais pesados e pesticidas com impacto epigenético na IgE, células T e produção de citocinas (Alizadeh et al., 2017).

No modelo animal de asma foi observado que a progressão do fenótipo asmático está associada à regulação epigenética dos genes relativos à inflamação e à modelação estrutural. Isto reflecte a relação com a Hipótese da Higiene. As respostas inflamatórias da mucosa intestinal, numa fase precoce, são um factor de protecção do desenvolvimento da doença, o que representa que as propriedades das células imunológicas neonatais e a sua maturação podem ser reguladas por mecanismos epigenéticos. Aliás, a metilação do DNA é um processo essencial no desenvolvimento das células imunológicas, sendo que as alterações de metilação estão associadas a várias doenças auto-imunes (Denise Daley, 2014). Por outro lado, na Doença de Crohn, a elevada frequência e sobreposição com genes associados à resposta a infecções sugere que esta doença representa uma adaptação evolutiva aos micróbios ambientais (DeFilippis et al., 2016). De uma forma geral, estes resultados são coerentes com esta argumentação sobre o impacto das mudanças ambientais como factor etiológico, através dos mecanismos epigenéticos com estabilidade cumulativa transgeracional.



6.K.4 Argumento: o Microbioma Humano está envolvido nos processos epigenéticos

Os mecanismos epigenéticos alteram o patrimônio genético do Microbioma Humano sendo potenciados pela transferência genética horizontal.

Actualmente, a relação entre a epigenética e o Microbioma Humano está apenas reportada na Doença de Crohn (DeFilippis et al., 2016) e obesidade, como potenciais biomarcadores microbióticos e epigenéticos (Lafortuna et al., 2017). Foi observado que o microbioma exerce influência na expressão genética do hospedeiro humano, em que diferentes constituições da microbiota intestinal estão associadas a diferentes níveis de metilomas de DNA sanguíneo. Os enterócitos expostos a probióticos e a bactérias patogénicas demonstram, *in vitro*, mais de duzentas regiões de metilação de DNA. Curiosamente, as células epiteliais fetais são mais sensíveis que as do adulto (I. V Yang et al., 2017). Este factor pode representar uma maior susceptibilidade de alterações de neurodesenvolvimento às alterações epigenéticas da exposição ambiental. Assim, poderá ser considerada a hipótese de que a sensibilidade do feto, juntamente com a sensibilidade epigenética dopaminérgica, representam a justificação para o aumento das doenças mentais *dopaminérgicas* e imunológicas.

A forma através da qual a microbiota está envolvida nos mecanismos epigenéticos não é actualmente compreendida, mas algumas conclusões são observadas através da actividade metabólica, à semelhança de outros processos já descritos nesta tese, e da transferência horizontal genética. Por exemplo, o AGCC butirato (produto microbiano da fermentação da fibra alimentar no intestino e que induz a diferenciação de Treg) está associado ao aumento de acetilação de histona nas sequências de Foxp3 (ver argumento C.2). Isto significa que a microbiota pode exercer a sua influência na alteração da disponibilidade dos doadores químicos para as modificações de DNA ou histona. Por outro lado, os mecanismos epigenéticos podem também alterar a constituição da microbiota. Por exemplo, no modelo animal as alterações epigenéticas induzidas pelo tratamento com dexametasona (corticosteroide) durante a gravidez foram associadas a alterações da constituição da microbiota intestinal na descendência. Especificamente em relação à asma, também no modelo animal, foram observadas alterações epigenéticas com a exposição microbiana precoce, sendo coerente com a importância da primeira colonização. A acumulação de NKC (centrais na asma) na Lâmina Própria e pulmões foi relacionada ao aumento da expressão de mRNA do gene *ligando* do receptor de quimiocina nas próprias NKC, mas somente no cólon e pulmões (I. V Yang et al., 2017). Assim, a evidência preliminar demonstra a associação entre os factores epigenéticos e os critérios-chave disbióticos, da constituição e primeira exposição,



que por esta conceptualização pode contribuir para as alterações neuroanatômicas e funcionais associadas à PHDA.

De uma forma geral, os mecanismos epigenéticos apresentam coerência em critérios-chave da argumentação desta tese: a supremacia etiológica dos factores ambientais comparativamente ao genótipo; as rápidas mudanças ambientais Pós-Agricultura e pós-industriais são o veículo da susceptibilidade genética; os mecanismos disbióticos e inflamatórios traduzem-se no crescimento de várias doenças mentais e imunológicas; e o envolvimento imunológico e da microbiota resultam em alterações de neurofuncionamento. No âmbito desta tese, os argumentos expostos demonstram o impacto, em última instância, nas alterações neuroanatômicas e neurodesenvolvimento da PHDA.

Conclusões-chave do Argumento K

Os mecanismos epigenéticos demonstram responsividade aos factores ambientais;

Existe estabilidade transgeracional nas alterações epigenéticas representando a herança dos factores ambientais;

Os mecanismos epigenéticos são reconhecidos na sua associação com várias perturbações do foro mental, como a PHDA, através de mecanismos epigenéticos que incluem os teratogénicos e os químicos *disruptores* endócrinos;

Os mecanismos epigenéticos observados suportam o seu envolvimento na etiologia genética da PHDA, através de factores ambientais associados à exposição tóxica, nutrição e *stress*;

No tratamento farmacológico foi observada uma ligação dos factores imunológicos aos mecanismos epigenéticos específicos da PHDA;

Pode ser considerada a hipótese de que as rápidas alterações ambientais Pós-Agricultura e, principalmente, pós-industriais exercem um efeito imediato epigenético no património genético nuclear e um efeito cumulativo entre as gerações;

Pode ser considerada a hipótese de que a exposição continuada ao *stress* e a resposta inflamatória podem contribuir para os casos com PHDA, pela alteração do sistema serotoninérgico. A perda de sensibilidade do circuito entre os núcleos da rafe e o córtex pré-frontal medial, com envolvimento do hipocampo, demonstram coerência com as alterações nas regiões neuroanatómicas identificadas na PHDA no capítulo 4;

Pode ser considerada a hipótese de que a sensibilidade epigenética do DAT pode significar que o sistema dopaminérgico (codificado pelos genes dopaminérgicos) será um sistema mais responsivo ao impacto dos factores ambientais e justificar a sua íntima relação com um grande leque de doenças, desde o foro mental ao imunológico;

Pode ser considerada a hipótese de que a sensibilidade epigenética dos genes dopaminérgicos pode representar a justificação da coincidência observada no aumento das alterações ambientais e da prevalência das doenças mentais e alérgicas, nas Eras Pós-Agricultura e Pós-Industrial;

Pode ser considerada a hipótese de que o *stress* materno, através das alterações epigenéticas no eixo HPA e sistema dopaminérgico, provoca uma descendência mais responsiva e mais activa de forma a corresponder ao ambiente em que será inserido;

Pode ser considerada a hipótese de que a sensibilidade epigenética do feto e do sistema dopaminérgico pode representar a justificação para o aumento das doenças mentais *dopaminérgicas* e imunológicas;

A evidência preliminar da epigenética demonstra a sua associação com os critérios-chave disbióticos da constituição e da primeira exposição, que pela argumentação desta tese pode contribuir para as alterações neuroanatómicas e funcionais associadas à PHDA.



Parte D - Conclusão, Resumo Conceptual, Implicações e Considerações

7 Conclusão

Até microbiologicamente é observada a maior importância dos factores ambientais, comportamentais e educativos na etiologia da PHDA.

Esta tese teve como objectivo realizar uma conceptualização teórica sobre a etiologia da PHDA. A consideração de que a exaustiva produção científica poderá encontrar-se num cenário de *crise*, que surge, provavelmente, associado à exploração exaustiva de paradigmas passados ou de paradigmas que não assentam nos grandes avanços tecnológicos da última década, assinalou a necessidade de regressar a uma fase de construção teórica.

Para dar resposta a esta necessidade, a metodologia adoptada foi assente nos princípios do Pragmatismo, centrada no problema e numa abordagem flexível de Métodos Mistos que permitiu a recolha dos conceitos-chave necessários a esta conceptualização.

A primeira pergunta de investigação centrou-se na identificação das principais alterações neuroanatómicas, etiologicamente relevantes para a PHDA. Através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas foi identificado um envolvimento encefálico globalizado, com tendência para uma hipoactivação frontal e cingulada e alterações estruturais no corpo caloso, cerebelo e núcleos da base. Estes resultados deram suporte à hipótese de que o desequilíbrio funcional entre as várias redes neurais pode estar etiologicamente ligado à PHDA e apontaram que as conceptualizações teóricas assentes na neuroanatomia devem contemplar um possível envolvimento neurológico de nível sistémico.

A segunda pergunta de investigação centrou-se em identificar os conceitos-chave associados à área científica emergente do Microbioma Humano e que pudessem ser etiologicamente viáveis na sua ligação à PHDA. Os resultados mostraram que o Microbioma Humano tem

ampliado significativamente o conhecimento da complexa simbiose universal microbiana e eucariótica, o que sugere uma redefinição do conceito de *organismal*. Na compreensão dos factores provocadores de disbiose devem ser aplicados os conceitos associados à primeira colonização (de acordo com a Teoria da Biogeografia das Ilhas), à responsividade a factores externos (por transferência genética horizontal), à diversidade e estabilidade da sua constituição para a redundância de funções (de acordo com a Teoria da Neutralidade da Biodiversidade e Biogeografia) e ao dinamismo e resiliência (de acordo com o Modelo da Resiliência e Estabilidade dos Sistemas Ecológicos). Os resultados preliminares expostos nesta revisão apontam para a necessidade de uma redefinição relativamente ao conceito de *saúde* e suportam que o Microbioma Humano, especialmente o microbioma intestinal, deve ser contemplado na etiologia das perturbações de foro mental, de neurodesenvolvimento e, por fim, da PHDA.

As respostas a estas duas questões de investigação permitiram que fosse possível interligá-las conceptualmente numa construção teórica que, ao longo de 11 argumentos, foi progressivamente construindo uma coerência transversal que demonstrou que as alterações do Microbioma Humano podem estar etiológicamente relacionadas com a PHDA.



7.1 Resumo conceptual desta Teoria

Neste subcapítulo foi pretendido sintetizar e criar uma visão agregadora dos conceitos utilizados ao longo desta Teoria e da sua coerência com o Estado da Arte da PHDA. Neste sentido serão utilizados a Figura 7-1 e as tabelas 7-1 e 7-2.

A Figura 7-1 foi dividida em três partes e representa o resumo conceptual da argumentação realizada no capítulo 6, referindo os principais conceitos utilizados. Dentro da complexidade dos processos envolvidos, somente foram utilizados os conceitos associados aos mecanismos relevantes para a etiologia da PHDA. Por uma questão de organização do resumo alguns conceitos pormenorizados são ocultados como, por exemplo, o nome de algumas espécies microbianas, do subtipo de células imunológicas ou de citocinas.

A parte superior representa uma visão global do capítulo 6 sobre como os factores ambientais podem contribuir para a etiologia da PHDA:

- as rápidas mudanças evolutivas da exposição ambiental iniciadas no período Pós-Agricultura, intensificadas no período pós-Higiene e exponenciadas no período Pós-Industrial resultaram num impacto microbiológico, no Microbioma Humano. Dentro destes factores ambientais, são destacadas as mudanças de exposição ambiental, com aumento da exposição química e alimentar, assim como as mudanças associadas aos primeiros anos de vida (de acordo com os argumentos G ao J);

- estes factores ambientais apresentam características disbióticas pela alteração que provocam no Microbioma Humano, em termos da importância da primeira colonização, constituição, diversidade, estabilidade e alteração do núcleo funcional (de acordo com os conceitos-chave do capítulo 5). Este impacto tem especial relevância na microbiota intestinal que, através do eixo intestino-encefálico, influencia o funcionamento do sistema neurológico, pelo envolvimento das regiões neuroanatómicas, neurotransmissores e percurso nervoso vagal (de acordo com os argumentos A e B e as alterações neuroanatómicas reportadas no capítulo 4);

- as alterações neurológicas provocadas por esta exposição ambiental, pelos mecanismos epigenéticos, alteram o património genético da microbiota intestinal (por transferência genética horizontal), do indivíduo (por responsividade genética) e da descendência (por herança transgeracional) que aumentam, progressivamente, a susceptibilidade genética para o aparecimento da PHDA.

A parte central representa os mecanismos específicos através dos quais, pelo eixo intestino-encefálico, os factores ambientais podem contribuir para a etiologia da PHDA:

- os factores ambientais provocam uma alteração da microbiota intestinal e dos seus produtos metabólicos, que contribuem para a alteração da permeabilidade da mucosa intestinal e que, conjuntamente, permitem a passagem indevida dos produtos derivados da microbiota e da digestão do lúmen para a corrente sanguínea, resultando numa activação imunológica (de acordo com os argumentos A ao C);

- esta activação desencadeia o início de uma reacção imunológica periférica, com a diferenciação e proliferação das células imunológicas, mediada pelo mesentério. Nesta activação destacam-se as células dendríticas, presentes na mucosa intestinal que, pelos mecanismos de tolerância oral, contribuem para activação imunológica e dos leucócitos, resultando num perfil de menor controlo por parte dos Treg e potenciando a libertação de citocinas inflamatórias (de acordo com o argumento C);

- as citocinas estão envolvidas nos mecanismos fundamentais dos principais neurotransmissores e regiões neuroanatômicas associados à PHDA. Dentro destes, destaca-se a dopamina, pelo seu papel de neuro-imuno-transmissor, pela expressão dos seus receptores nas células imunológicas e pelo estreito envolvimento do funcionamento dos linfócitos T na sua disponibilidade. Esta alteração tem implicação no funcionamento das regiões neuroanatômicas dopaminérgicas, identificadas na etiologia da PHDA (de acordo com os argumentos C e D);

- adicionalmente, neste processo imunológico ocorre a libertação de histamina, com expressividade dos seus receptores nas células da micróglia e com relação às alterações funcionais e de comportamento da PHDA (de acordo com o argumento E);

- e, por outro lado, o processo inflamatório iniciado no intestino pela via humoral (através da barreira hemato-encefálica), celular e neural atingem a neuróglia, cujas alterações estão relacionadas com a sintomatologia da PHDA. Inicia-se a activação imunológica encefálica, através da micróglia, o que contribui para a alteração da disponibilidade de dopamina, com impacto funcional nas regiões neuroanatômicas. Adicionalmente, na macróglia, o envolvimento dos astrócitos e oligodendrócitos, contribuem para as alterações funcionais e energéticas neuronais (de acordo com o argumento F).

A parte inferior representa uma visão global de como os mecanismos inflamatórios, observados na parte central do eixo intestino-encefálico, por exposição continuada e repetida aos factores ambientais, podem contribuir para a etiologia da PHDA:

- a exposição continuada às características disbióticas e inflamatórias dos factores ambientais levam a que a repetição dos processos de inflamação periférica atinjam um nível sistémico. A repetição das alterações imuno-neurológicas, descritas na parte central, resultam num desequilíbrio dos sistemas dopaminérgicos e histaminérgicos que alteram o perfil imunológico e que, pelos mecanismos epigenéticos (de acordo com o argumento K), resultam, cumulativamente, no aumento da susceptibilidade individual e transgeracional às alterações neuroanatômicas identificadas na etiologia da PHDA.

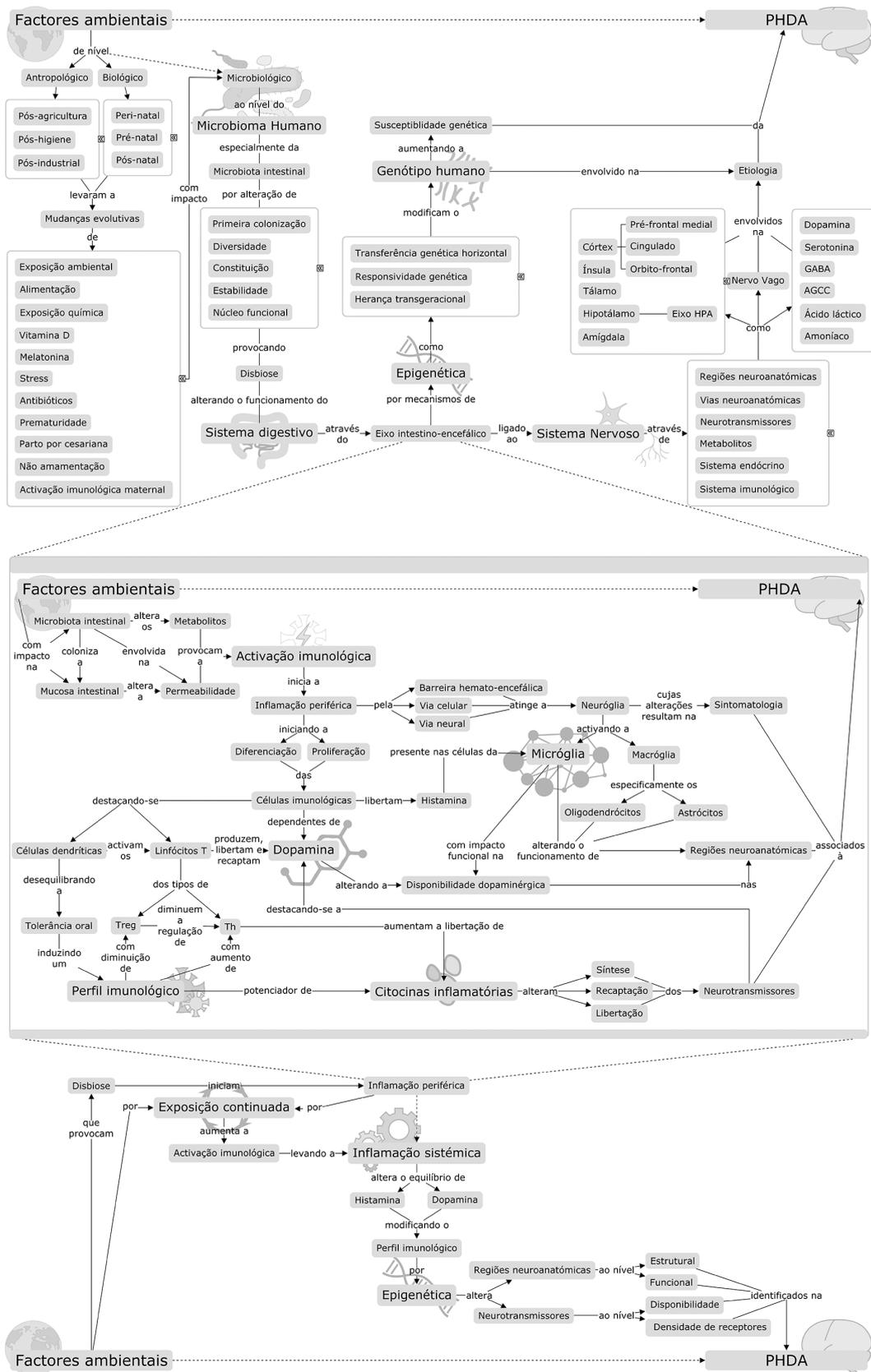


Figura 7-1 Resumo conceptual do capítulo 6

Legenda: AGCC Ácido Gordo de Cadeia Curta; GABA *Gamma-Aminobutyric Acid*, Ácido Gama-Aminobutírico; HPA Hipotálamo-Pituitária-Adrenal; PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; Th *T-helper cell*, Linfócitos T auxiliar; Treg Linfócitos T regulatórios.

Figuras originais (Adobe Systems Incorporation, 2017; "CmapTools," 2017).

Com base nos princípios de construção teórica, as novas argumentações devem ser enquadradas com os paradigmas anteriores. As tabelas 7-1 e 7-2 representam o resumo da coerência que esta conceptualização apresenta, respectivamente, com as linhas gerais do Estado da Arte da PHDA e com os modelos teóricos anteriores. A Tabela 7-1 demonstra que os principais conceitos desta conceptualização teórica podem justificar todas as linhas gerais que são actualmente aceites no conhecimento da PHDA.

Tabela 7-1 Coerência teórica com as linhas gerais do Estado da Arte da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Linhas gerais da PHDA	Coerência com a argumentação desta tese
Existe num panorama global de grande prevalência de outras doenças mentais.	Possivelmente associado à complexidade do eixo intestino-encefálico e à variedade dos seus mecanismos, através dos quais provocam uma afectação sistémica do SNC e têm repercussões possíveis no funcionamento mental global. Esta tese demonstrou os possíveis mecanismos específicos da PHDA e das regiões neuroanatómicas e neurotransmissores relativos às suas comorbilidades.
Aparenta ser transversal em termos de localização geográfica e cultural.	Possivelmente explicado pelas rápidas mudanças evolutivas e de exposição ambiental que têm repercussões em todos os ecossistemas mundiais e dos quais o ser humano é interdependente.
Após o seu surgimento, a sua prevalência teve um aumento progressivo que se mantém constante ao longo das últimas décadas.	Possivelmente explicado pelos mecanismos epigenéticos que levam a que a exposição continuada aos factores ambientais disbióticos tenha um efeito transgeracional que aumenta a susceptibilidade genética para o surgimento da PHDA, não permitindo uma diminuição da sua prevalência.
Com o aumento da idade cronológica existe uma diminuição da sintomatologia e do impacto na funcionalidade.	Possivelmente explicado pelo aumento da estabilidade da microbiota intestinal, característico da idade adulta, ou comportamentalmente, pelo maior controlo das escolhas alimentares.
Apresenta um envolvimento generalizado das redes neuronais, com maior evidência relativamente às regiões fronto-estriado-cerebelares.	O envolvimento generalizado poderá estar associado à afectação sistémica do SNC e à variedade das regiões neuroanatómicas e neurotransmissores associada ao funcionamento do eixo intestino-encefálico. A maior evidência do envolvimento das regiões fronto-estriado-cerebelares pode estar associada à sua ligação à dopamina, um sistema epigeneticamente mais susceptível às alterações ambientais e cuja sua disponibilidade está dependente da microbiota intestinal e do funcionamento imunológico.
Apresenta um comprometimento possível nas várias competências, com maior evidência relativamente às competências regulatórias e funções executivas.	Possivelmente associado às alterações neuroanatómicas identificadas (regiões fronto-estriado-cerebelares) e que estão associadas ao eixo intestino-encefálico e sistema imunológico, pelo neuro-imuno-transmissor dopamina.

O património genético é insuficiente para justificar todas as alterações observadas, parcialmente contribuindo para a etiologia da PHDA.

Em concordância com o argumento central desta tese de que os factores ambientais disbióticos estão multiplamente implicados na etiologia da PHDA.

Existe uma maior evidência genética dos genes codificadores associados ao sistema dopaminérgico.

Possivelmente explicado pelo estreito envolvimento imunológico da dopamina e que, pelos mecanismos epigenéticos de responsividade e transgeracionais, pode alterar a expressão destes genes codificadores.

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção; SNC Sistema Nervoso Central.

Conteúdo com base no Estado da Arte descrito no capítulo 2.

A Tabela 7-1 mostra que esta tese suporta o conhecimento actual e estende a sua explicação pela relação *microbiota-intestino-imuno-neurológica*, correspondendo ao que uma construção teórica deve representar: um equilíbrio entre a continuidade (conhecimento existente) e a novidade (conhecimento emergente) (Shepherd & Suddaby, 2016).

A Tabela 7-2 procurou estender a continuidade do conhecimento aos vários modelos explicativos na PHDA existentes, de acordo com os princípios de construção de teorias. Uma vez que na fase de criação de paradigmas, em que esta tese se encontra, podem ocorrer confirmações ou rejeições de paradigmas passados, foram incluídos todos os modelos identificados no Estado da Arte (subcapítulo 2.3.5). Acima de tudo, foi pretendido salientar os conceitos que, à luz desta argumentação, podem ter validade, mesmo que o modelo na sua totalidade não seja considerado válido actualmente.

Tabela 7-2 Coerência teórica com os modelos etiológicos existentes da Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção

Modelo ou hipótese existente

Coerência com a argumentação desta tese

Modelo dos múltiplos limiares poligenéticos.

Coerente com a consideração de que os factores genéticos e ambientais cumulativamente podem levar à patologia. Esta tese expande este conceito pela inclusão dos mecanismos epigenéticos que conferem duplo impacto dos factores ambientais.

Modelo da variabilidade constitucional.

Sem informação. É conceptualmente impossível nesta fase identificar mecanismos específicos para cada sexo.

Modelo da imunorreactividade.

Coerente com a consideração de que existe um envolvimento do sistema imunológico materno no aparecimento da PHDA.

Hipótese das origens desenvolvimentais da saúde e doença.

Coerente com a consideração de que o risco de desenvolver patologia, para além dos factores genéticos, se deve a factores ambientais, neste caso, associados numa fase inicial da vida, incluindo as fases pré, peri e pós-natal. Esta tese estende a justificação considerando, especificamente, os factores ambientais disbióticos.

Hipótese da disfunção cerebral mínima.

Coerente com o facto de que existem condicionantes associados à gravidez que podem produzir anomalias no desenvolvimento cerebral, sem sinal de lesão cerebral.

Hipótese da excitotoxicidade.

Sem coerência pois esta tese considera que o resultado da exposição ambiental disbiótica resulta, em última instância, em alterações estruturais e funcionais neuroanatómicas.

Mito.

Esta tese não suporta a hipótese de que as doenças mentais são um mito. No entanto, conjugando o facto de que existiu uma forte pressão selectiva nos genes dopaminérgicos na expansão de África e que existe um excesso de ritmo das mudanças evolutivas Pós-Agricultura e industrial, esta tese pode suportar o conceito de que alguns genótipos se tornaram socialmente (e não biologicamente) desadaptados.

Predisposição diagnóstica.

Similar à justificação anterior pelas rápidas alterações sociais causarem fenótipos desadequados e que evolutivamente não foram ainda extinguidos.

Lesão cerebral.

Coerente não na extensão total do termo *Lesão*, mas no envolvimento orgânico cerebral como causa da PHDA.

Modelos das alterações das redes neuronais: auto-regulação e atenção mantida (via única); inibição comportamental (via única); duplas vias; triplas vias; rede de modo padrão; rede de atenção; três redes neurais; e teoria dos baixos níveis de alerta e vigilância (hiporresponsividade frontal).

Coerente pelo envolvimento neuroanatómico e de neurotransmissores que se relacionam com a microbiota intestinal e eixo intestino-encefálico e que estão associados com o nível de alerta, nível de atenção, sistema de recompensa, controlo de impulsos e funções executivas.

Hipótese da disfunção dos neurotransmissores.

Coerente no envolvimento etiológico das catecolaminas, sistema dopaminérgico e noradrenérgico, e em que a disfunção dopaminérgica é uma das principais causas da PHDA. Esta tese estende a justificação pela relação imunológica da dopamina, que resulta em alterações da sua disponibilidade, e pelas alterações genéticas dos genes dopaminérgicos, derivadas dos mecanismos epigenéticos de exposição continuada a esta alteração de disponibilidade.

Modelo do défice subcortical.

Coerente somente na possibilidade de existir uma alteração neural subcortical. Esta tese estende a justificação pelo envolvimento da neurógliã, principalmente da micrógliã, derivada da activação imunológica sistémica.

Hiporresponsividade da porção ventral do estriado.

Coerente pelo envolvimento dopaminérgico no comprometimento desta região neuroanatómica.

Modelo de desenvolvimento dinâmico e Modelo da aversão ao atraso de recompensa.

Esta tese estende a justificação pela relação imunológica da dopamina que resulta em alterações da sua disponibilidade e que, por sua vez, causam as alterações de diminuição do funcionamento dopaminérgico e dos circuitos fronto-estriados associados ao funcionamento do sistema de recompensa.

Modelo da variabilidade de características.

Coerente com a consideração de que existem vários níveis de frequência, magnitude e inconsistência da sintomatologia da PHDA. Esta tese estende a justificação pela complexidade *microbiota-intestino-imuno-neurológica* e que, pela multiplicidade da coerência argumentada, pode ter uma grande variabilidade de resultados finais.

Modelo da memória de trabalho.

Coerente com a consideração de que a PHDA surge como uma expressão fenotípica e comportamental da interação entre a vulnerabilidade neurobiológica e a exigência ambiental. Esta tese estende a justificação considerando que a susceptibilidade genética deriva, pelos mecanismos epigenéticos, da exposição continuada aos factores ambientais disbióticos.

Modelo cognitivo neuroenergético e teoria comportamental neuroenergética.

Coerente com a possibilidade de uma alteração energética nos astrócitos e oligodendrócitos. Esta tese estende a justificação considerando que esta alteração deriva da activação local da micróglia resultante de um estado sistémico de activação imunológica.

Teoria da imaturidade cortical ou atraso do desenvolvimento cortical.

Sem informação. É conceptualmente impossível nesta fase identificar os mecanismos causais específicos de atraso do desenvolvimento cortical. No entanto, esta tese poderá especular que o desenvolvimento cortical pode ser condicionado por uma exposição repetida a um estado sistémico de activação imunológica, derivada dos factores ambientais disbióticos, e de impacto neurológico.

Modelos dos traços da personalidade.

Sem informação. É conceptualmente impossível nesta fase identificar os mecanismos causais específicos de uma alteração da personalidade. No entanto, a complexidade dos mecanismos argumentados pode, em última instância, condicionar o desenvolvimento normal neuronal e, conseqüentemente, dos traços da personalidade.

Açúcar e níveis glicémicos.

Coerente com a consideração de que alimentos processados pós-industriais, através do intestino, podem estar presentes na etiologia da PHDA.

Hipótese da Monoamina Oxidase.

Coerente com a consideração de que existe uma menor disponibilidade de noradrenalina e dopamina. Esta tese estende a justificação pela relação imunológica da dopamina, que resulta em alterações da sua disponibilidade, e da microbiota com os sistemas de neurotransmissores.

Teoria do caçador-agricultor.

Coerente com as duas principais considerações relativas ao processo genético evolutivo dos genes dopaminérgicos na Era Paleolítica e às mudanças repentinas sociais nos últimos séculos.

Descrição completa dos modelos no subcapítulo 2.3.5.

Legenda: PHDA Perturbação de Hiperactividade e Défice de Atenção.

Conteúdo com base no Estado da Arte descrito no capítulo 2.

Desta forma, a conjugação da Figura 7-1 e das tabelas 7-1 e 7-2 representa o resumo actualizado de todos os conceitos que se apresentam como válidos após o cruzamento das recentes descobertas do Microbioma Humano. Adicionalmente, estes conceitos representam um contributo de vários pontos de partida válidos para futuras considerações teóricas.



7.2 Operacionalização pré-Confirmatória

Com este subcapítulo foi pretendido utilizar os princípios desta conceptualização numa discussão à luz do primeiro estudo publicado sobre o tema desta tese. Este primeiro estudo foi realizado com o objectivo de identificar as alterações da constituição da microbiota intestinal em participantes com PHDA, comparativamente a um grupo de controlo representativo da normalidade, assim como a sua relação com o sistema de recompensa (Aarts et al., 2017). Metodologicamente não representa uma Fase *Confirmatória* pois é uma interpretação realizada posteriormente à operacionalização de um estudo que partiu de hipóteses não assentes nas fases realizadas nesta Teoria. No entanto, e apesar das suas limitações metodológicas, representa o primeiro estudo possível de testar as suposições desta Teoria.

Este estudo utilizou uma amostra constituída por adolescentes e adultos. Foi realizada a análise genética de amostras fecais, por sequenciação genética 16S rRNA, a 19 participantes com PHDA e 77 participantes no grupo controlo. Numa subamostra de seis participantes com PHDA e 22 participantes no grupo controlo foi realizada uma análise por fMRI. Seguem-se de seguida os principais resultados, as premissas traçadas com base nesta Teoria que foram utilizadas para a interpretação dos resultados e a discussão desse mesmo resultado.

Resultado 1: a constituição geral do microbioma intestinal das 96 amostras realizadas consiste em bactérias predominantemente dos filos *Firmicutes* (77,92%), *Actinobacteria* (15,68%) e *Bacteroidetes* (6,05%).

Discussão: estes resultados são coerentes com os *enterótipos* expostos nesta tese.

Resultado 2: numa análise global, o grupo da PHDA apresenta um aumento do grupo *Actinobacteria* (grupo controlo 14,08% e PHDA 22,14%), principalmente devido a uma redução de *Firmicutes* (grupo controlo 79,80% e PHDA 70,29%) uma vez que o grupo *Bacteroidetes* não difere significativamente (grupo controlo 5,74% e PHDA 7,29%).

Discussão: estes resultados são coerentes com a apresentação do capítulo 5, em que os membros pertencentes aos filos *Bacteroidetes* e *Actinobacteria* apresentam-se significativamente mais estáveis, enquanto os membros dos filos *Firmicutes* apresentam menor estabilidade. Esta variabilidade parece estar relacionada com a sua diversidade, em que uma maior diversidade confere à comunidade uma maior estabilidade.

Resultado 3: no filo *Actinobacteria*, o género *Bifidobacterium* apresenta um aumento significativo no grupo PHDA (grupo controlo 12,66% e PHDA 20,47%).

Premissa: a amamentação, um tempo de gestação mais longo e a existência de irmãos mais velhos podem resultar num aumento de *Bifidobacterium* (Amenyogbe et al., 2017; Koenig et al., 2011; A. H. Liu, 2015; Sandhu et al., 2017).

Discussão: se este aumento de *Bifidobacterium* é representativo de um maior risco da PHDA, então não é coerente com a exposição realizada sobre a importância etiológica destes factores ambientais. No entanto, esta observação foi realizada com uma amostra de adolescentes e adultos. Não só é actualmente impossível de compreender se as alterações perinatais se mantêm até depois da infância, como pode ser especulada que essa possibilidade será remota, dada a grande responsividade da microbiota intestinal a factores como a idade e dieta.

Premissa: o género *Bifidobacterium* domina na microbiota intestinal e diminui ao longo da idade (Aarts et al., 2017).

Discussão: a diferença entre os grupos poderia ser explicada pela diferença de idades entre as amostras. No entanto, o resultado manteve-se mesmo numa análise entre 15 pares das duas amostras emparelhadas por idade. Por outro lado, a maior abundância de *Bifidobacterium* na infância é principalmente justificada pela amamentação, uma vez que o leite materno apresenta uma maior concentração destas bactérias. No entanto, pela mesma justificação da premissa anterior é impossível de compreender se as alterações perinatais se mantêm até depois da infância. Por fim, este resultado poderia ser interpretado como o grupo da PHDA demonstrar uma maior imaturidade do microbioma intestinal. Esta consideração seria coerente com as suposições etiológicas da PHDA de maior imaturidade cortical e comportamental. No entanto, pela mesma justificação da premissa anterior, é actualmente impossível concluir a interpretação deste resultado.

Premissa: uma dieta ocidental afecta as espécies de bactérias pertencentes a *Bifidobacterium* (Karkman et al., 2017; Kramer, 2017; Volynets et al., 2017).

Discussão: é impossível concluir este resultado uma vez que não existe informação sobre os padrões alimentares dos participantes deste estudo.

Premissa: *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* têm GABA como produto metabólico (Hu et al., 2016; Pistollato et al., 2016).

Discussão: a diminuição da produção de GABA pela microbiota intestinal está associada a alterações cognitivas, ansiedade, depressão e alterações sinápticas. Neste caso, perante o aumento de *Bifidobacterium* talvez pudesse ser especulado que aumentaria a disponibilidade de GABA, sendo assim um factor de protecção. No entanto, é impossível concluir a interpretação deste resultado uma vez que não existe informação sobre comorbilidades ou descrição sintomatológica dos participantes.

Perante esta premissa, três considerações são coerentes com esta Teoria. Primeiro, a alteração em géneros bacterianos que estão associados à produção de GABA é coerente com a sua implicação etiológica na PHDA. Segundo, caso o aumento de *Bifidobacterium* se traduza num aumento da disponibilidade de GABA, então significa que existe uma tendência a uma resposta inflamatória mais intensa, uma vez que a resposta de GABA e de serotonina à exposição de citocinas inflamatórias parece estar associada a uma diminuição da sua libertação o que, por sua vez, promove adicionalmente a resposta inflamatória. Ou seja, este resultado pode representar a susceptibilidade imunológica da PHDA. Por fim, este possível aumento de GABA pode exercer um mecanismo de interferência directa no funcionamento dos neurotransmissores, uma vez que representa o principal neurotransmissor inibitório envolvido em vários processos fisiológicos e mentais. Isto traduz-se num possível impacto sistémico que é coerente com a principal hipótese considerada na revisão do capítulo 4.

Premissa: os géneros de *Bifidobacterium* (filo *Actinobacteria*), *Bacteroides* (filo *Bacteroidetes*) e *Lactobacillus* (filo *Firmicutes*) são as principais bactérias produtoras de AGCC (Lazaro et al., 2016).

Discussão: a diminuição de AGCC afecta a glucose cerebral, a homeostasia energética cerebral, as respostas imunológicas e o crescimento celular epitelial. Neste caso, um aumento de *Bifidobacterium* poderia resultar num aumento da produção de AGCC, sendo um factor protector que não deveria ser observado na amostra com PHDA, o que não é coerente com esta Teoria. No entanto, o filo *Firmicutes* também é produtor de AGCC pelo que a diminuição observada no grupo da PHDA poderia ter o efeito contrário. É actualmente impossível compreender se esta variação de rácio entre filios se traduz numa alteração de rácio dos AGCC produzidos e que seja, ou não, um factor de risco. Por outro lado, a alteração em géneros associados à produção de AGCC é coerente com a sua possível implicação etiológica exposta no Estado da Arte.

Premissa: os géneros *Bacteroides*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* induzem a produção de citocinas anti-inflamatórias (Lazaro et al., 2016);

Premissa: as bactérias pertencentes ao género *Clostridium* (ordem *Clostridiales*, filo *Firmicutes*) estimulam as citocinas pró-inflamatórias (Lazaro et al., 2016);

Premissa: O desequilíbrio nas comunidades intestinais de *Clostridium*, *Desulfovibrio* e *Bifidobacterium* leva a processos inflamatórios locais e de alteração da permeabilidade intestinal (Weston et al., 2015).

Discussão: com base nas duas primeiras premissas, estes resultados de aumento do género *Bifidobacterium* e diminuição de *Clostridiales* não são coerentes com esta Teoria pois apontam para um perfil imunológico não-inflamatório. No entanto, considerando a terceira premissa é possível que a simples alteração do rácio se traduza num perfil pró-inflamatório, já sendo

coerente com esta Teoria. À semelhança do ponto anterior, é actualmente impossível compreender se esta variação de rácio entre filos se traduz, ou não, num factor de risco.

Resultado 3: a diminuição de Firmicutes é explicada pela diminuição da ordem *Clostridiales* (grupo controlo 77,37% e PHDA: 69,02%).

Premissa: o contacto com animais de estimação aumenta a riqueza de espécies do filo *Firmicutes* e que reduzem o *stress* oxidativo no intestino (S. Gupta, 2017; Tun et al., 2017).

Discussão: a diminuição de *Firmicutes* no grupo da PHDA é coerente com esta Teoria pela possível representação de um menor padrão de exposição a micróbios *amigáveis* não-patogénicos. No entanto, é actualmente impossível concluir a interpretação deste resultado pela falta informação relativa aos estilos de vida dos participantes.

Premissa: o género *Clostridium* tem como produto metabólico AGCC e ácido propiónico (Alkasir et al., 2017; Kang et al., 2013).

Discussão: a interpretação da redução na ordem *Clostridiales*, juntamente com a ausência de alteração de *Bacteroidetes*, apresenta um possível ponto de separação entre a PEA e a PHDA. No modelo animal os AGCC propionato (produzido pelas bactérias entéricas pertencentes a *Clostridia*, *Desulfovibrio* e *Bacteroidetes*) e butirato têm provocado alterações comportamentais e, especificamente o propionato, induzindo alterações comportamentais similares à PEA. Em especial, as bactérias resistentes pertencentes a *Clostridia*, *Sutterella* e *Desulfovibrio* estão envolvidas na PEA regressiva. O acetato, propionato e butirato são considerados metabolitos microbianos neuroactivos que atravessam a barreira hemato-encefálica e modulam as funções do SNC, o neurodesenvolvimento e o comportamento. Assim, a redução de *Clostridiales* pode representar um factor protector relativamente a alterações de neurodesenvolvimento da PEA, mas não da PHDA. Isto porque, apesar desta redução poder ser interpretada como um menor risco de alterações de neurodesenvolvimento, estas bactérias anaeróbias são produtoras dos ácidos propiónico e etanóico e AGCC, como o butirato, que fornecem energia às células epiteliais intestinais fortalecendo o sistema imunológico. Ou seja, é coerente com esta Teoria pois a redução pode não representar um risco directo de alterações de neurodesenvolvimento, mas um risco indirecto da PHDA através do sistema imunológico.

Outra separação com a PEA surge na alteração do rácio *Bacteroidetes* e *Firmicutes* por dois mecanismos: 1) pelo aumento de Firmicutes, em que é observado que um aumento de espécies da classe *Clostridia* tem uma forte correlação contributiva na severidade das manifestações da PEA (e não nas alterações intestinais). No caso desta amostra da PHDA este rácio é contrário

pela diminuição de *Firmicutes*; e 2) pela redução de *Bacteroidetes*, em que é observado que um aumento da percentagem do género de *Bacteroides* contribui para manifestações inflamatórias e imunológicas, como febre, lesões e disfunção neurológica. No caso desta amostra da PHDA não são observadas alterações de *Bacteroidetes*. Por exemplo, na PEA o aumento de bactérias gram-negativas como *Desulfovibrio* e *Bacteroides* pode diminuir a síntese de glutatona, o que aumenta a vulnerabilidade à PEA e a outras doenças neurológicas. Por outro lado, as bactérias gram-positivas *Clostridium* são produtoras de exotoxinas e propionato sendo, especificamente, a espécie *Clostridium difficile*, produtora de p-Cresol, que causa a depleção de glutatona. Ou seja, estes resultados contrários entre a PEA e a PHDA podem significar a sua diferença nos mecanismos microbióticos que estão na base das alterações de neurodesenvolvimento.

Este estudo pode representar a sinalização de um novo argumento.

Este estudo (Aarts et al., 2017) interpreta que o aumento de *Bifidobacterium* é responsável pelo aumento da função da enzima CDT (do inglês, *cyclohexadienyl dehydratase*). Esta enzima está envolvida na síntese de fenilalanina, um aminoácido essencial que não pode ser sintetizado pelo ser humano tendo que ser absorvido pelo intestino e que, após passar pela barreira hemato-encefálica, funciona como um precursor de dopamina e noradrenalina. Curiosamente, o aumento de CDT está negativamente correlacionado com as respostas na porção ventral do estriado durante a antecipação de recompensa o que assinala a necessidade de investigação na compreensão deste resultado. Se ocorre um aumento de CDT e, supostamente, um aumento de fenilalanina, então deveria aumentar a disponibilidade de dopamina e assim não ser identificada uma menor responsividade do estriado por fMRI.

Três explicações são adiantadas para justificar este resultado *incoerente*: 1) a fenilalanina microbiana pode ser absorvida na corrente sanguínea, passar a barreira hemato-encefálica e influenciar, positiva ou negativamente, a síntese de dopamina pela inibição de tirosina hidroxilase; 2) a alteração dos níveis de fenilalanina e de tirosina podem afectar a síntese de outros neurotransmissores competindo na barreira hemato-encefálica com triptofano (precursor de serotonina) ou convertendo aminas; ou 3) existem interações desconhecidas com outros grupos de bactérias envolvidas na produção de substâncias neuroactivas.

Apesar da novidade argumentativa e das dúvidas levantadas esta explicação é coerente em dois pontos expostos nesta Teoria: 1) estas explicações especulativas assinalam, acima de tudo, a falta de informação existente na área do estudo científico do Microbioma Humano e o facto da sua evidência preliminar reforçar a necessidade do seu aprofundamento; e 2) esta evidência preliminar demonstra que as alterações da microbiota intestinal têm impacto, em última instância, no funcionamento neuronal em regiões coerentes, as regiões etiológicas da PHDA.

Algumas características deste estudo devem ser consideradas.

Este estudo (Aarts et al., 2017) utilizou uma amostra com participantes adultos e adolescentes. Dadas as grandes mudanças da microbiota intestinal derivadas da idade e da responsividade ambiental, esta amostra poderá não ser representativa da PHDA. Por outro lado, os resultados não são enquadrados com factores que alteram significativamente a microbiota intestinal como, por exemplo, a dieta. A análise genética foi afinada para investigar a abundância relativa de genes relacionados a preditores de precursores de monoaminas (como o caso da fenilalanina). Por fim, todo o desenho de estudo é realizado sem contemplar qualquer envolvimento do sistema imunológico, um dos centros conceptuais desta Teoria.

Os resultados deste estudo foram inovadores e permitiram uma análise de múltipla envolvência. No entanto, por ser construído com um objectivo diferente e, portanto, sem contemplar a totalidade dos argumentos desta tese, não pode ser considerado um estudo praticável de uma Fase *Confirmatória* desta Teoria.

7.3 Implicações teóricas e práticas

Parece existir uma perda de maturidade no processo científico

A ciência é caracterizada por várias fases e o aumento significativo das publicações sobre um dado tema, em especial de Revisões Sistemáticas, indica que há, efectivamente, uma tentativa metodológica de compilar a evidência que surge. Após a análise sequencial dos artigos com diversas tipologias de estudo e das revisões sobre a PHDA, foi observado que as limitações e as fragilidades revistas não são minuciosamente acatadas. Mesmo com um ritmo de publicações desenfreado, o processo científico entra em repetição de recomendações e de erros, fazendo pensar que se encontra numa fase mais rotinada de observação específica, seguida de levantamento de novas perguntas, e não tanto na combinação das observações das várias áreas.

As revisões têm um objectivo agregador e, de facto, o aumento do ritmo de publicações tem sido acompanhado por um igual ritmo de revisões. Mas cada área, dentro da sua especialidade, produz conhecimento cada vez mais específico e focado em questões cada vez mais pormenorizadas. Esta desagregação do conhecimento exige mais esforço, para não ser perdido o sentido global e a pertinência mais imediata da evidência. Claro que ser-nos-á inerente, como espécie, a procura de chegar mais longe, de formular novas questões e de testar os limites do conhecimento. Corresponderá ao papel de *ouriço* que procura saber muito sobre uma coisa, que faz parte de nós e que, certamente, alimenta as interrogações científicas. Por outro lado, o papel de *raposa*, conhecedora de muita coisa, corresponde ao processo de agregação do conhecimento, da compreensão aprofundada e da procura de dar sentido a todo o conhecimento criado. Talvez possa existir no processo científico uma menor disponibilidade, por exemplo financeira e temporal, para que os académicos se dediquem a esta actividade de *raposa*.

Tenha-se o exemplo da neurociência, cujas contribuições se encontram cada vez mais associadas às áreas da tecnologia, da física e da matemática. Estas áreas têm desenvolvido intensamente os instrumentos de diagnóstico e os paradigmas utilizados na compreensão do comportamento humano. Ou seja, não foi observada uma falta de disponibilidade, mas um espaço conceptual em aberto entre os especialistas do comportamento humano e os especialistas dos instrumentos utilizados na sua avaliação. Respectivamente, entre os paradigmas comportamentais e os paradigmas computacionais. No entanto, este papel é mais

difícil, exige mais tempo e uma maturação do conhecimento. É, inerentemente, um processo mais complexo e somente acessível numa fase académica mais avançada.

Assim, a *crise* instalada na PHDA não parece ser resultado da falta de disponibilidade e da capacidade científica. Parece, no entanto, que no processo científico é projectado o paradigma social existente em que são desvalorizados o papel da maturidade, das gerações mais antigas e da importância sociológica da terceira idade. Parece que o melhor é o mais recente, o mais inovador e o mais diferente. Portanto esta *crise* pode ser justificada, não pelo excesso de publicações *novas*, mas à diminuição da produção de artigos científicos de *raposa*, revisões ou não. Faltam publicações que gastem tempo a cimentar conhecimento, que reflectam a fundo e que integrem as várias áreas de conhecimento.

Esta tese encarou a necessidade de construção teórica

Perante a interpretação de que são necessárias publicações agregadoras e modelos teóricos na PHDA, esta tese encarou estas necessidades em toda a sua metodologia. Foi tentada uma abordagem flexível entre os papéis de *ouriço* e de *raposa*, com uma tentativa simultânea de fechar perguntas, mas também de abertura de novos paradigmas de investigação.

O papel de *ouriço* atinge o seu nível mais específico no capítulo 4 através de uma Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas. As conclusões foram extensas, mas o nível metodológico aplicado permitiu corroborar a complexidade das alterações observadas na PHDA e que vão, claramente, para além das redes fronto-estriadas e dopaminérgicas. Este capítulo sugere que o paradigma neuroanatómico da PHDA deve ser conceptualizado, não só na análise do funcionamento das redes neuronais, mas na implicação globalizada do SNC. Os capítulos 5 e 6 acrescentam suporte para este envolvimento global e que pode advir de uma alteração sistémica do SNC e do funcionamento desequilibrado das suas redes neuronais. Dadas as conclusões do capítulo 4, assentes na melhor evidência disponível à data, esta hipótese de uma possível implicação sistémica do SNC assumiu um papel preponderante na metamorfose desta tese para *raposa* de visão ampla.

A escolha das *personagens* assentou no recente desenvolvimento tecnológico

O grande desenvolvimento tecnológico das últimas décadas também tem influenciado o processo científico. O grande aumento da capacidade computacional e dos instrumentos de diagnóstico permitiu que, em 2013 no início desta tese, três grandes áreas científicas estivessem a florescer: os estudos de conectomas, da farmacogenética e do Microbioma Humano. Coincidentemente, as principais conclusões em vigor na farmacogenética são totalmente coerentes com o resultado do capítulo 4, pois apontam para que a etiologia da PHDA vá mais além das catecolaminas (dopamina e noradrenalina) e que o funcionamento do SNC da PHDA deverá ser analisado de uma forma mais complexa.

A escolha da consideração do Microbioma Humano surgiu devido a ser uma área em grande desenvolvimento, permitido pelo aumento significativo da capacidade de computação genética das amostras utilizadas. Apesar de ainda não ser identificada nenhuma publicação que refira explicitamente o mecanismo pelo qual as alterações do Microbioma Humano estão envolvidas na etiologia da PHDA, esta tese tentou demonstrar que existe viabilidade na sua consideração. Assim, esta conceptualização teórica procurou contribuir para a compreensão etiológica da PHDA, actualizando alguns dos seus conceitos-chave e respeitando a progressão tecnológica realizada nos últimos anos.

A metodologia escolhida procurou dar resposta à necessidade de conceptualização

Apesar da extensa documentação sobre a PHDA, a evidência microbiana ainda se encontra num nível preliminar, o que representou a necessidade de uma metodologia exploratória. A metodologia de uma Teoria Descritiva e Relacional de construção *Explicativa* com investigação do tipo de *Identificação de Lacunas*, demonstrou ser a mais indicada para corresponder ao conhecimento no estudo do Microbioma Humano.

As teorias de *Identificação de Lacunas* são caracterizadas por apresentarem várias direcções de discussão, característica que é observada na argumentação desta tese. Por outro lado, estas teorias raramente provocam alterações dramáticas nas áreas de estudo, antes pelo contrário, contribuem para construções alternativas que permitem reformular a investigação nas áreas. Esta característica é, igualmente, observada nesta tese na tentativa de reformulação do paradigma neuroanatómico da PHDA e da importância microbiológica dos factores ambientais.

A característica Relacional desta construção teórica advém de reportar os mecanismos através dos quais os factores ambientais disbióticos podem resultar nas alterações neuroanatómicas identificadas na PHDA. A procura de identificar, especificamente, quais os factores ambientais, quais os mecanismos associados e quais os resultados causados, numa perspectiva que vai desde o nível antropológico ao microbiológico, representa uma tentativa de avançar o conhecimento nesta área e corresponder ao pedido mais complexo de uma construção teórica de *Identificação de Lacunas*: servir de fundamento para a construção de pressupostos de paradigmas.

A fragilidade da conceptualização entre as várias áreas especialistas apresentou uma coerência transversal

Os resultados apresentados parecem mostrar que a PHDA poderá ser devida ao comprometimento globalizado do SNC e ao funcionamento desequilibrado das várias redes neuronais. Tendo em conta que cada rede neuronal tem associado um comportamento, esta

consideração sistémica do SNC é coerente com a grande variabilidade do comprometimento comportamental observado na PHDA, podendo justificar a sua relação.

Por outro lado, esta coerência entre as redes neuronais afectadas e os comportamentos demonstrados, poderá também suportar a relação com as várias comorbilidades, uma vez que a divisão entre cada patologia assenta numa catalogação sistemática de um conjunto de comportamentos. Ou seja, estes resultados aparentam suportar que a análise neuronal de cada patologia poderá demonstrar que a sua sobreposição comportamental corresponderá, etiologicamente, a uma sobreposição das alterações das redes neuronais.

No caso da PHDA, a implicação neuroanatômica apresenta uma tendência sistémica em que os mecanismos causais poderão não advir do SNC em si, mas do sistema imunológico, através do estado continuado de activação. Representa o primeiro nível da relação conceptual discutida. Por si só, esta tentativa de relação apresentou um nível de complexidade elevado, mesmo quando os mecanismos possíveis são simples e coerentes entre si. A complexidade provém não dos seus mecanismos, mas da juventude conceptual do conhecimento científico que tenta estabelecer as relações entre os vários sistemas corporais. Apesar do extenso conhecimento individual de cada sistema corporal, a inter-relação e interdependência entre os vários sistemas são, ainda, pouco exploradas.

Até microbiologicamente foi observada a importância dos factores ambientais

As hipóteses levantadas durante a Fase *Construtiva* apontam para que os factores ambientais devam ser considerados na etiologia da PHDA. Esta consideração não é recente nem inovadora, tanto pela identificação de factores ambientais de risco como, por outro lado, pela consideração de que os factores genéticos apenas justificam parcialmente a sua etiologia. No entanto, a argumentação realizada sobre esta relação parece confirmar que os factores ambientais devem ser primariamente considerados na etiologia da PHDA. Mais uma vez, esta consideração não é recente, nem inovadora. O que esta tese acrescenta de novo está associado aos mecanismos específicos microbiológicos através dos quais esta relação é conceptualizada e, argumentando mais além, como o envolvimento genético é uma consequência da exposição ambiental, pelos mecanismos epigenéticos. Ou seja, esta tese representa que até ao nível microbiológico foi considerada a hipótese da maior importância dos factores ambientais na etiologia de uma Perturbação de Neurodesenvolvimento.

Foi argumentado como os padrões de vida associados à Era Moderna têm um impacto microbiológico de repercussões no SNC. Numa análise temporal mais restrita, as mudanças da Era Moderna levaram à identificação de factores ambientais disbióticos como o parto por cesariana, a não-amamentação, a activação imunológica materna, o *stress*, a exposição química e antibiótica ambiental e alimentar que provocaram mudanças para as quais não estamos biologicamente preparados, quando analisados numa escala de tempo mais ampla

que contempla os fenómenos geológicos, antropológicos, evolutivos e sociológicos. O ritmo das mudanças evolutivas pode ter causado um desequilíbrio disbiótico que, pelos mecanismos argumentados, pode ter tido repercussões no funcionamento dos sistemas corporais humanos com impacto neuroanatômico e, conseqüentemente, comportamental.

Apesar de esta tese estar fundamentada na microbiologia e neuroanatomia, utiliza os mecanismos observados nestas áreas para suportar que os fundamentos sociais e comportamentais devem ser primariamente considerados na etiologia da PHDA. Isto foi espelhado ao longo da argumentação na Fase *Construtiva* através dos mecanismos epigenéticos. Foi apontado que para diminuir o impacto no neurodesenvolvimento devem ser tidos em consideração os factores ambientais disbióticos e inflamatórios, como os padrões sociais e educacionais, uma maior exposição ambiental natural, especialmente ao ambiente exterior, uma alimentação não-processada, um maior respeito aos métodos naturais de parto e amamentação, maior contacto com animais, membros familiares e entre gerações, menor exposição ao *stress* e padrões de sono adequados. Esta consideração enraíza a essência conceptual desta tese às Ciências da Educação e do Comportamento, pois aponta para que as dimensões educacionais e comportamentais sejam centrais, não só na etiologia da PHDA, mas também prioritárias na sua abordagem.

Poderia ser alargado o conceito dos factores ambientais na literatura científica

Na análise dos factores ambientais envolvidos na etiologia das várias perturbações é frequente a associação à exposição ao álcool, tabaco e drogas. A argumentação exposta nesta tese alarga consideravelmente o conceito associado aos factores ambientais. Alguns dos factores mencionados já são considerados de risco, como o caso do tempo de gestação e a prematuridade. Outros estão identificados, mas pouco valorizados, como o caso do uso de antibióticos, tipo de parto, não amamentação, activação imunológica materna e o *stress*. Outros são pouco considerados, como o tipo de exposição ambiental, estilo de vida, tipo de alimentação e qualidade de sono. Nesta tese não só foi considerada a hipótese de que todos estes conceitos devem ser tidos em conta nos factores de risco, como a argumentação suportou que todos devem ser primariamente considerados factores etiológicos, principalmente nas Perturbações do Neurodesenvolvimento.

Se atendermos aos possíveis mecanismos de acção da exposição a drogas, álcool e tabaco, na sua essência, verificamos que são relativos ao aumento significativo da exposição ambiental e química a componentes pós-industriais, o que está em linha com o argumentado nesta tese. Estas substâncias podem ter um efeito mais prejudicial e resultam em quadros patológicos mais graves ou imediatos. Os outros factores ambientais que esta tese considerou podem não ser tão prejudiciais e talvez por isso somente resultem em alterações menores de funcionamento e desenvolvimento, principalmente do sistema neurológico.

Coerente com este raciocínio, talvez se pudesse considerar a existência de factores ambientais de efeito *major* (drogas, álcool, tabaco, tempo de gestação e prematuridade) e outros de efeito *minor* (exposição a antibióticos, activação imunológica materna, tipo de parto, não amamentação, *stress*, estilo de vida, qualidade de sono, exposição química e tipo de alimentação). A valorização científica dos factores ambientais de impacto *minor* permitirá o investimento na sua investigação, não só pelo seu impacto ao nível da PHDA, mas, possivelmente, também das perturbações do foro mental.

Podem ser especialmente consideradas as alterações da exposição química alimentar

A argumentação teórica desta tese assenta, especialmente, na importância de factores ambientais disbióticos e inflamatórios. Dado que o centro conceptual se encontra na relação entre a microbiota intestinal e os sistemas digestivo e imunológico, entre os vários factores argumentados, podem ser especialmente considerados os factores alimentares. Nestes factores poderão ser consideradas duas grandes áreas:

- a alteração dos padrões alimentares Pós-Agricultura. Em termos evolutivos, nestas alterações salienta-se o aumento da restrição alimentar, com uma produção e consumo repetido de espécies;

- e as alterações da exposição química alimentar pós-industriais. Nestas alterações salientam-se os alimentos processados e refinados e os componentes químicos industrialmente adicionados, desde a criação à preservação dos alimentos animais e vegetais.

Caso numa Fase *Confirmatória*, em estudos que dêem continuidade a este tema, as hipóteses levantadas nesta Teoria se mostrem válidas como possíveis factores etiológicos de alterações neuroanatómicas, então será necessária uma redefinição global dos padrões alimentares.

A intensificação da produção animal e vegetal é caracterizada por recorrer a antibióticos e a compostos químicos como suporte aos níveis de produção. As condições às quais os alimentos são sujeitos, principalmente após a Era Industrial, representam alterações microbiológicas e evolutivas sem precedentes. Isto significa que o uso de antibióticos, o suporte químico, o aumento da pressão selectiva das espécies animais e vegetais consumidas, inclusive recorrendo à manipulação genética dos alimentos, são estratégias necessárias para manter uma produção suficiente para a sua procura. Por sua vez, isto representa que estas alterações alimentares não são um problema, como argumentado nesta Teoria, mas uma solução do problema ainda maior de corresponder às necessidades alimentares da população mundial, tendo como preço final o aumento do risco de alterações de neurodesenvolvimento.

Os paradigmas evolutivos biológicos podem necessitar de ser revistos

O conceito genericamente aceite da evolução genética das espécies assenta na consideração *Darwinista* de que o indivíduo tem o seu património genético que lhe confere uma determinada capacidade de adaptação ao ambiente e que, durante a reprodução, passará para a descendência através do cruzamento de dois patrimónios genéticos com pequenas alterações associadas. A argumentação desta tese suporta esta perspectiva, mas reacende a perspectiva *Lamarckista* de que a exposição ao ambiente modifica o próprio património genético do indivíduo e a sua capacidade adaptativa que, por sua vez, transita para a sua geração.

Esta perspectiva *Lamarckista* colmata uma das fragilidades do *Darwinismo* relacionada com a manutenção de uma mutação genética e explica melhor as pequenas transições genéticas. Os mecanismos de transferência genética horizontal entre a microbiota e as células humanas e os mecanismos epigenéticos de responsividade e estabilidade transgeracional são os argumentos expostos nesta Teoria que corroboram esta perspectiva. Ultimamente, isto aponta para a necessidade de uma redefinição dos paradigmas evolutivos vigentes, o que se traduzirá num processo complexo de acerto científico na Biologia.

7.4 Limitações

Numa análise global, as limitações desta tese são transversais aos vários capítulos. A interligação entre as várias áreas de conhecimento foi uma das principais dificuldades desta construção teórica, não apenas entre os dois sistemas imunológico e digestivo, mas pela sua característica progressiva desde: 1) como a rápida mudança evolutiva e antropológica alterou os factores ambientais; 2) como as mudanças ambientais alteram o Microbioma Humano, especialmente o intestinal; 3) como as alterações da microbiota intestinal alteram o funcionamento do sistema digestivo; 4) como ocorre uma activação continuada do sistema imunológico e que se torna sistémica e de atingimento da micróglia; e 5) como ocorre uma afectação do sistema nervoso nas suas regiões e neurotransmissores.

Estas ligações entre as várias especialidades poderão representar a maior fragilidade conceptual desta construção teórica. No entanto, dois principais pontos poderão suportar a validade do interesse académico desta tese. O primeiro, é relativo à coerência que foi observada entre todos os argumentos, desde o nível antropológico ao microbiológico. A todos os níveis existem ligações múltiplas de como os factores ambientais disbióticos têm um impacto nos sistemas corporais humanos e que, especificamente no caso digestivo e imunológico, contribuem para as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA. Esta consideração engloba os critérios de um microbioma saudável, cujas repercussões já foram identificadas no ser humano, a ligação entre o microbioma e a disponibilidade dos neurotransmissores associados à PHDA, a exposição intestinal e as suas repercussões coerentes com a exposição ambiental, o eixo intestino-encefálico e o envolvimento das áreas encefálicas chave da PHDA, o sistema imunológico intrinsecamente envolvido com a neuróglia e com a disponibilidade de dopamina e os mecanismos epigenéticos que alteram o património genético individual e transgeracional. Todos os principais conceitos abordados nesta tese, exposição ambiental, microbioma, eixo intestino-encefálico, imunologia e epigenética foram demonstrados como estando ligados individualmente com a etiologia da PHDA, mas também interligados entre si. Por outro lado, quando os mecanismos disbióticos argumentados desta construção teórica são cruzados com os modelos e os principais conceitos gerais do Estado da Arte da PHDA também demonstram ser coerentes e contribuem para a sua justificação. Ou seja, esta coerência múltipla pode representar que os resultados desta tese podem ser academicamente considerados e explorados.

Outro ponto que pode suportar esta conceptualização teórica é relativo à metodologia através da qual esta coerência foi atingida. Seguindo os princípios de uma *melhor* construção teórica, a metodologia foi extensa e espaçada no tempo e no seu conteúdo. Representa o resultado de uma investigação teórica ao longo de cinco anos, abordando progressivamente os temas

que foram identificados, independentemente da sua área. Foi pretendido, acima de tudo, utilizar uma metodologia rigorosa para suportar uma teoria de *Identificação de Lacunas* que sirva como ponto de partida empírico e experimental. Mesmo que dentro de cada área sejam identificadas relações conceptuais menos robustas, a multiplicidade de coerência a todos os seus níveis reforça a importância destes mesmos resultados.

Numa análise específica, o Estado da Arte teve o objectivo de identificar os conceitos-chave da PHDA, cimentados no mais alto nível de evidência através de Revisões Sistemáticas. Isto pode ter levado à exclusão prioritária de outros desenhos de estudo que talvez incluíssem o conhecimento emergente de cada área. No entanto, a pesquisa sistemática com o objectivo de identificar a totalidade das revisões sistemáticas procurou assegurar a inclusão de revisões agregadoras do conhecimento para a maioria das áreas de estudo. Outra limitação deste primeiro capítulo é relativa à publicação do novo DSM-5 no início desta tese em 2013. Isto representa que o Estado da Arte assenta na utilização de amostras seleccionadas com várias versões do DSM e da ICD. No entanto, o enquadramento no Estado da Arte demonstrou a estabilidade de diagnóstico associada às diferentes versões.

Relativamente à Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas foram utilizados conceitos-chave na Fase *Construtiva* que assentam na convergência com as regiões neuroanatómicas identificadas nesta revisão. Isto representa que esta Teoria pode não apresentar o mesmo nível de coerência com outros argumentos não anatómicos perdendo a sua validade etiológica. No entanto, a escolha da principal área de estudo etiológico da PHDA e, actualmente, a mais extensa, procurou assegurar a relação com os pressupostos actualmente mais firmes.

Relativamente à revisão do tipo *Scoping Review*, o estado recente do estudo do Microbioma Humano pode representar que a identificação dos seus conceitos-chave pode ter uma prematuridade associada. Por exemplo, os conceitos-chave aqui expostos são anteriores a quaisquer medidas tomadas após ter sido recentemente sinalizado o perigo de contaminação das amostras genéticas públicas pelos métodos laboratoriais, o que pode ter condicionado a análise sequencial genética de identificação do microbioma. No entanto, sem a inclusão de uma área emergente suportada nos mais recentes avanços tecnológicos, poderia não ser possível construir uma Teoria que pudesse contribuir para o avanço do conhecimento da PHDA.

Relativamente à metodologia traçada, esta construção teórica apenas corresponde às fases *Emergente* e *Construtiva*. A falta da fase *Confirmatória* pode representar que alguns dos argumentos expostos podem posteriormente não ser considerados válidos. No entanto, tendo em conta a fase inicial da construção teórica, o foco nas fases *Emergente* e *Construtiva* poderá ter tido como resultado uma argumentação mais ampla e mais robusta que suporte a continuidade do seu estudo.

As perguntas de investigação foram assentes na *Identificação de Lacunas*. Este método pode ter uma tendência de não contribuir significativamente para uma mudança de paradigma sobre a PHDA. A compensação desta característica foi tentada através da conceptualização de argumentos que expõem um carácter progressivo de integração de várias áreas de conhecimento.

A conceptualização realizada foi assente em dois temas, a PHDA e o Microbioma Humano, ambos caracterizados por um elevado ritmo de publicações. Isto significa que o tempo de cinco de anos de elaboração desta construção teórica, pode não ter permitido identificar alguns conceitos importantes. Numa tentativa de compensação, todas as pesquisas realizadas para esta tese foram sistematizadas, efectuadas a partir das principais bases de dados e actualizadas até ao fecho da redacção dos seus capítulos. Mesmo sem a inclusão de informação não identificada, a Fase *Construtiva* tem associada uma múltipla coerência transversal.

Na interpretação da evidência foram utilizados os métodos de raciocínio de *dedução, indução, afastamento e retrodução*. Isto representa que esta construção teórica apresenta uma característica subjectiva associada e, inerentemente, dependente do autor. O resultado final, que adveio dos tipos de raciocínio e da metodologia aplicada, esteve dependente da capacidade intelectual, inexperiência académica e crenças pessoais do autor. Duas estratégias foram utilizadas para a sua compensação. Como forma de controlo foram utilizados revisores externos de forma a assegurar uma consistência argumentativa e expositiva. Por fim, toda a construção metodológica desta tese procurou ser rigorosa e metódica. Foi procurado, acima de tudo, respeitar os mais altos princípios de construção científica de forma a conferir validade a qualquer coerência identificada, apesar de representar a primeira tentativa do autor nesta metodologia.

7.5 Estudos futuros

Tendo em conta as implicações desta tese, são sugeridos estudos em múltiplas áreas do conhecimento científico. Nesse sentido, existe a necessidade prioritária de a argumentação desta tese ser escrutinada pelas várias áreas especialistas que aborda e serem desenvolvidos estudos numa Fase *Confirmatória*, com a utilização dos vários argumentos expostos.

Num nível mais amplo, poderia ser relevante identificar e cruzar as alterações comportamentais entre as várias espécies incluídas (humana e não-humana) nos vários tipos de ecossistemas. Esta análise poderia fornecer informação sobre a transversalidade e interligação dos comportamentos das várias espécies às mudanças de exposição ambiental.

Nas perturbações do foro mental poderia ser relevante cruzar a informação genética antropológica com as suas referências históricas, o que permitiria obter uma perspectiva ampla das transições genéticas, pressões evolutivas e desenvolvimento do comportamento humano. Isto talvez contribuisse para estudos focados em identificar as alterações epigenéticas associadas a cada factor ambiental inflamatório e disbiótico e, mais além, identificar a prevalência destas perturbações e das imunológicas entre os vários padrões de exposição ambiental (Primitivo, Pré-Moderno, Início-Moderno, Moderno e Ultra-Moderno) e, recentemente, acompanhar a sua incidência em comunidades em transição de padrões.

A demonstração da estreita relação entre o sistema imunológico e neurológico poderá justificar investigações com o objectivo de identificar quais os factores ambientais disbióticos e inflamatórios mais associados às perturbações do foro mental e, especificamente, às Perturbações do Neurodesenvolvimento. Com este objectivo, o cruzamento da informação relativa à exposição aos químicos *disruptores* endócrinos já identificados e a prevalência das Perturbações do Neurodesenvolvimento também poderá fornecer informação adicional.

Com o aumento do conhecimento originado por estes estudos, talvez fosse possível aprofundar as perguntas de investigação e tentar identificar qual a associação entre as várias perturbações imunológicas e do neurodesenvolvimento, quais os mecanismos envolvidos, quais as funções imunológicas das várias células da neurógliia e, por fim, qual a associação entre as perturbações imunológicas alérgicas, as alterações genéticas dopaminérgicas e as alterações de densidade dos seus receptores neuronais.

Relativamente ao estudo do sistema neurológico, várias sugestões podem ser feitas. Poderá existir relevância em investigar quais as relações que os neurotransmissores de serotonina, adrenalina e noradrenalina apresentam com as células do sistema imunológico e quais os péptidos, hormonas ou neurotransmissores com presença marcada no SNC. Na análise

neuroanatômica poderá ser relevante identificar os factores ambientais associados aos diferentes padrões de alteração neuroanatômica. Quais os padrões comportamentais associados ao funcionamento das redes neuronais, não só relativamente aos comportamentos específicos de cada rede, mas também aos padrões gerais de comportamento para cada rede. Por fim, especificamente à PHDA quais as alterações neuroanatômicas observadas através da aplicação replicada de vários métodos de diagnóstico de imagem.

Em termos microbiológicos, poderá ser relevante estabelecer quais os *enterótipos* mais associados ao microbioma saudável e quais os padrões de constituição do microbioma intestinal em indivíduos com PHDA. Especificamente em relação ao microbioma intestinal, poderá ser intensificado o estudo do impacto das várias substâncias químicas adicionadas à produção, confecção e preservação alimentar. Poderá ser realizada a categorização dos vários regimes alimentares de forma a ser possível determinar as diferenças na influência sistémica corporal e aprofundar o conhecimento relativamente ao mesentério e à sua contribuição para além da função estrutural.

Por fim, relativamente à intervenção, poderá ser importante identificar quais os princípios nos vários tipos de intervenção descritos na PHDA que são coerentes com os argumentos desta Teoria e, dada a importância dos factores ambientais, categorizar quais as intervenções comportamentais existentes e identificar o seu impacto na PHDA.

7.6 Influência do autor

A formação e a experiência do autor inevitavelmente influenciam as escolhas de uma abordagem metodológica. Neste caso, as áreas de estudo relativas à Biologia, neurodesenvolvimento, neuroanatomia e comportamento enquadram-se nestes aspectos pessoais e, coerentemente, no âmbito específico desta tese. Claro que a elaboração de um trabalho científico deve ser enquadrada com as áreas de especialização do autor, no entanto, a noção da sua influência no resultado final deve ter uma presença transversal a todo o trabalho.

Este aspecto foi tido em consideração durante as decisões metodológicas tomadas, no entanto, com uma influência desigual. Após o Estado da Arte, a identificação da necessidade de regressar à fase de construção teórica, caso fosse atendida, iria confrontar o autor com a sua inexperiência académica nesta metodologia. Por outro lado, caso fosse atendida a inexperiência do autor em detrimento desta necessidade, então não seria coerente com a consideração do estado de *crise* na PHDA. O resultado final desta decisão pode ter resultado numa tese que pretende ser uma teoria sem, no entanto, a conseguir, perdendo o seu valor académico e científico.

A escolha dos fundamentos neuroanatómicos, como conceitos-chave a serem conceptualizados, apesar de serem da área de formação do autor, poderão não ter sido significativamente influenciados pelos aspectos pessoais. Representando as Revisões Sistemáticas uma tentativa de agregar o volume de evidência, a catalogação inicial de todas as revisões do estudo da PHDA identificou o estudo neuroanatómico como a área etiológica com mais investigação, sendo esse o principal critério para a sua escolha.

Por outro lado, a investigação exploratória da segunda *personagem* a ser considerada na Fase *Construtiva* resultou na escolha do Microbioma Humano. Esta poderá ter sido a decisão mais influenciada pelas crenças pessoais do autor. Perante as três potenciais áreas de conhecimento, e antes da decisão, teve que ser realizada uma análise exploratória da viabilidade etiológica de cada área. A maior facilidade em compreender os mecanismos biológicos por detrás do Microbioma Humano traduziu-se numa maior capacidade de analisar os aspectos mais complexos e menos imediatos, resultando na identificação da sua viabilidade. No entanto, a escolha da Biologia pode ter resultado, em última instância, numa maior complexidade da conceptualização apresentada ou, pelo menos, num acumular de coerência a vários níveis.

A Fase *Construtiva* poderá também ter sido influenciada pelo historial de formação do autor em Biologia. Apesar desta fase envolver várias áreas do conhecimento, foram aprofundados com maior complexidade os pressupostos biológicos na sua ligação à etiologia neuroanatômica. As crenças pessoais podem também ter influenciado a conceptualização. O autor assume uma crença transcendental não-religiosa, não pela desvalorização das várias religiões, pois têm um valor fundamental para as estruturas sociais e para o desenvolvimento antropológico, mas porque, talvez, a índole transcendental do autor, inerente ao ser humano, seja direccionada para a ciência em áreas como Biologia, Física e Geologia. Isto representa que esta crença pode ter direccionado o trabalho para uma construção etiológica *demasiado* focada nos princípios destas áreas, numa escala evolutiva, perdendo a vinculação para outras áreas igualmente importantes do âmbito sociológico e histórico, numa escala antropocêntrica dos últimos dois milénios.

7.7 Considerações finais

De uma forma geral, nesta construção teórica foram seguidos os seguintes princípios para a sua construção, de forma a ser uma *melhor* teoria:

- uma teoria *melhor* deve servir de ponte entre o racionalismo e o empirismo (Shepherd & Suddaby, 2016). Representado na conceptualização pelos argumentos teóricos aptos a serem testados;

- uma teoria *melhor* deve ser flexível procurando, simultaneamente, encerrar perguntas e formular novas questões (Boxenbaum & Rouleau, 2011; Shepherd & Suddaby, 2016). Representado pela metodologia para formar conclusões, mas não as considerando como definitivas e assinalando questões prioritárias em aberto;

- uma teoria ampla é uma *melhor* teoria (Shepherd & Suddaby, 2016). Para além da extensão da investigação nos capítulos 4 e 5, a conceptualização foi representada por argumentos que vão desde o nível microbiológico ao antropológico e geológico.

- uma teoria simples é uma *melhor* teoria (Shepherd & Suddaby, 2016). Nesta tese foi representado pela ligação conceptual (do tipo pesquisa de *Identificação de Lacunas*) entre as áreas mais estudadas dos dois principais temas. Dentro da PHDA, as alterações neuroanatómicas e, dentro do Microbioma Humano, o microbioma intestinal humano.

- uma teoria que descreva explicitamente o mecanismo é uma *melhor* teoria (Shepherd & Suddaby, 2016). Apesar da existência da ligação entre o microbioma e o funcionamento neurológico, não existe uma descrição que, claramente, reporte os mecanismos pelos quais as alterações do microbioma intestinal possam causar as alterações neuroanatómicas observadas na PHDA. Nesta tese foi claramente conceptualizado como as alterações intestinais, através do sistema imunológico, provocam alterações no sistema nervoso idênticas às observadas na PHDA;

- uma teoria que explique o porquê é uma *melhor* teoria (Shepherd & Suddaby, 2016). Para além do mecanismo específico do argumento C, o conjunto dos argumentos desta conceptualização apresentam uma coerência, não só individual, mas também como um todo, de como as alterações do microbioma intestinal podem causar a PHDA.

Existe um fosso entre os consumidores e os produtores de ciência

Numa análise final desta tese, salienta-se que o processo de avaliação e intervenção da PHDA insere-se no âmbito científico da saúde e educacional. Isto representa que, na estruturação social actual, à semelhança de qualquer perturbação e doença, podem ser considerados três níveis envolvidos neste processo: 1) as entidades decisoras; 2) os profissionais de intervenção; e 3) o público geral. As entidades decisoras nem sempre correspondem, na sua

área de formação, aos profissionais de intervenção da PHDA. A sua compreensão das várias condições está relacionada apenas na evidência científica existente, com base na Prática Baseada na Evidência. De uma forma geral, esta evidência encontra-se relacionada com os profissionais de saúde especializados nas perturbações que servem, por um lado, de produtores de ciência para as entidades decisoras e, por outro lado, de ponte para a prática ao nível do público geral. Por último, o público geral, apesar de ter acesso ao processo científico pelos profissionais de intervenção, tem um contacto maioritário com a evidência através da comunicação social que fornece um serviço tendencialmente mediático e, muitas vezes, incorrecto. Assim, representa que os profissionais de intervenção assumem um papel fundamental no preenchimento do fosso entre as decisões tomadas e a perspectiva pública relativamente às perturbações.

No entanto, numa análise específica dos profissionais de intervenção, esta questão demonstra uma multiplicidade de componentes. A eficácia da produção científica que lhes é associada exige um envolvimento em equipa, como abordado na consideração da necessidade de estarem presentes as várias valências especializadas em comportamento infantil no processo de avaliação e intervenção da PHDA. Assim, em primeiro plano, exige que os profissionais tenham a capacidade de trabalhar em equipa e saber o papel esperado de cada membro e, em segundo plano, exige que os profissionais tenham a capacidade de não delimitarem inflexivamente as suas áreas de estudo e intervenção. Se existir uma maior flexibilidade de conhecimento, provavelmente, existirá um maior conhecimento entre as várias áreas.

Outro ponto associado aos profissionais de intervenção é relativo à segmentação que é observada dentro deste grupo, no processo de produção científica. É observada uma tendência para que os profissionais associados à prática não produzam evidência científica, estando essa produção associada aos profissionais com associação académica. Além disso, dentro destes profissionais produtores de ciência, existe uma assimetria no conteúdo das suas publicações e que, possivelmente, justificará, por exemplo, a assimetria de evidência entre as intervenções farmacológicas e não-farmacológicas. Isto representa que dentro do grupo que estabelece a ponte entre os decisores e o conhecimento público, existe também um fosso caracterizado por uma segmentação e assimetria. Assim, existe uma lacuna na componente central de ligação entre a produção e a coerência prática da evidência científica.

Talvez por estas questões se possa justificar que a Prática Baseada na Evidência resultou em assimetrias significativas de publicações, como os casos mencionados do estudo comportamental, comparativamente ao farmacológico ou do excesso de publicações redundantes. Se, por um lado, a característica de segmentação deste grupo de profissionais pode advir do processo de formação, a questão da assimetria (em que a produção científica está mais associada aos profissionais de vínculo académico) poderá advir de três principais questões que se encontram associadas aos profissionais não vinculados academicamente. A primeira está ligada à tendência de não consumirem regularmente ciência. Esta diminuição de consumo resulta, conseqüentemente, numa diminuição de envolvimento no processo científico

que resulta, em última instância, na redução de publicações. A segunda questão encontra-se ligada ao mercado de trabalho. A produção, ou não, científica não acrescenta valor ao perfil laboral dos profissionais de intervenção. Não existe uma valorização deste seu lado, a não ser que se encontrem academicamente vinculados. Isto aumentará, significativamente, o desvincular do processo científico por parte deste grupo de profissionais, aumentando a assimetria. A terceira questão é relativa à tendência de um pensamento enraizado de que existe uma distância entre a teoria e prática. Apesar de uma maior prática profissional poder facilitar a aplicação dos princípios de intervenção, não deixa de significar que, essa mesma prática, só resulta directamente dos princípios teóricos. Se existe uma divergência de conteúdo, entre os profissionais *teóricos* académicos e os *práticos* não-académicos, reside não na sua distância conceptual, mas na progressiva perda de comunicação pela utilização, respectivamente, de um *dialecto* científico ou não-científico.

Assim, no processo científico existe um fosso entre os consumidores de ciência decisores e o conhecimento público em geral, derivado de uma assimetria e segmentação no grupo de profissionais responsável pela ligação coerente deste próprio processo.

O pensamento dos profissionais necessita de ser direccionado para a causa das doenças

De uma forma geral, no corpo de evidência científica é observada uma tendência significativa de investigação do tratamento em detrimento do estudo etiológico. Claro que, metodologicamente, é muito mais simples perceber a eficácia de um tratamento sintomatológico, comparativamente a uma conceptualização das causas dessa mesma doença. No entanto, sem uma compreensão total das causas que levam ao estado de doença, os tratamentos são direccionados apenas à gestão da sintomatologia.

Tenha-se como exemplo o conteúdo desta mesma tese. O estudo do Microbioma Humano é recente, a extensão das implicações do eixo intestino-encefálico está numa fase inicial e a conceptualização de como estes factores alteram o neurodesenvolvimento mantém-se numa fase muito embrionária. De tal forma, que no momento desta redacção, não existe nenhuma publicação que descreva os mecanismos específicos de como uma alteração disbiótica altera o funcionamento encefálico. Ainda assim, existe já um volume assimétrico de publicações relativas à utilização de probióticos no tratamento da disbiose intestinal, que têm o objectivo de normalizar as alterações de constituição intestinal e, com isso, melhorar a sintomatologia comportamental. Ou seja, ainda não é compreendido o mecanismo do seu funcionamento e a direcção científica já tende para um desenvolvimento da intervenção. Assim, a consideração da necessidade da compreensão etiológica remete para uma mudança do paradigma e redireccionamento do ímpeto científico.

Esta tendência poderá também ter uma componente económica. O estudo etiológico é inerentemente mais complexo e abstracto. Os recursos necessários para este tipo de estudo

traduzir-se-ão mais tardiamente em melhoria das doenças, contrastando com os benefícios mais imediatos de uma intervenção que experimentalmente produz, ou não, melhorias sintomatológicas, independentemente da total compreensão dos mecanismos dessa melhoria. Esta vertente de maior *eficácia* e importância económica é coerente com as linhas capitalistas das sociedades actuais produtoras de ciência, sendo, também coerentemente, aplicada no processo científico e nos cuidados de saúde. No entanto, esta característica pode já ter desvirtuado o processo científico de tal forma que o foco da investigação está direccionado para o tratamento de causas que ainda não são compreendidas. Todas as ideologias apresentam limitações, por isso, talvez seja necessário rever esta fragilidade para corresponder às mudanças de base, transversais a várias disciplinas e que são defendidas ao longo desta tese.

As implicações desta tese podem suportar uma mudança de paradigmas

Esta tese pode suportar a consideração de algumas mudanças no processo científico ou de paradigmas associados à PHDA. De uma forma geral, em relação ao processo científico, a dificuldade encontrada na análise das revisões, principalmente no Estado da Arte na Revisão Sistemática de Revisões Sistemáticas, pode indicar uma necessidade das publicações científicas corresponderem às recomendações e limitações das revisões publicadas, de forma a evitar a sua repetição. Por outro lado, foi observada uma assimetria entre a evidência científica não-farmacológica e farmacológica, com um rácio de revisões publicadas aproximado de 1:10, havendo um maior estudo genético e farmacológico em detrimento do estudo comportamental. Claro que existem razões metodológicas que dificultam o estudo comportamental, mas a ausência de biomarcadores, mesmo com esta assimetria, poderá ser indicativa da necessidade de preencher o fosso conceptual entre o conhecimento do comportamento observável (base dos critérios de diagnóstico) e o conhecimento genético e neuroanatômico.

A dificuldade sentida nesta tese na interligação entre as áreas especialistas poderá ter identificado algumas áreas de sobreposição em que o conhecimento pode já ser construído. Os resultados dos projectos do Microbioma Humano e Terrestre talvez permitam a interpretação de uma implicação sistémica e interligada, desde os ecossistemas terrestres até aos sistemas corporais humanos. Podem suportar o estudo ambiental Pós-Industrial de forma a ser possível conceber as implicações que as últimas alterações evolutivas provocaram nos vários ecossistemas terrestres em que a espécie humana se encontra. Talvez esta mudança para uma compreensão interligada dos vários sistemas possa permitir que, no futuro, se consiga compreender os factores ambientais de carácter disbiótico e inflamatório ou o impacto da cadeia alimentar no funcionamento sistémico do ser humano.

Os indícios da estreita ligação entre o sistema imunológico e neurológico podem justificar a necessidade de aumentar a compreensão entre o interfuncionamento dos sistemas corporais

humanos. Esta compreensão pode abrir a porta para a identificação das possíveis substâncias que actuam como neurotransmissores e hormonas e para conceptualização das perturbações do foro mental juntamente com o sistema imunológico.

A valorização dos mecanismos epigenéticos pode suportar paradigmas que considerem que o património genético seja também responsivo ao ambiente e não apenas adquirido definitivamente. Isto poderá ter implicações no entendimento dinâmico das Perturbações do Neurodesenvolvimento e na necessidade de um enquadramento temporal que transponha as várias eras evolutivas humanas. Poderá suportar que o estudo genético e neuroanatômico, como resultado ambiental, necessite de ser focado no entendimento das redes neuronais em vez das regiões anatómicas isoladas. O que por sua vez poderá também ter implicações no processo de diagnóstico da PHDA, indicando que poderá ter que contemplar uma fase de avaliação e intervenção global de todas as competências e funcionalidade e que envolva as várias valências especializadas em comportamento infantil, como a Medicina, Psicologia, Terapia Ocupacional e Terapia da Fala. Por fim, poderá assinalar a necessidade de conceptualizar as causas da PHDA em detrimento do tratamento ou de desenvolver intervenções preventivas comportamentais e sociais em detrimento do tratamento sintomatológico.

8 Comentário final do autor

O percurso desta tese foi progressivamente construído, um passo metodológico após o outro. Desta metodologia resultaram argumentos que sinalizam demasiadas relações coerentes e que, por esta mesma coerência, apontam para a necessidade prioritária da sua investigação *confirmatória*.

Durante este processo faziam parte das certezas aguardadas os contratempos, as decisões difíceis, as leituras intermináveis e o trabalho que se estenderia ao longo dos vários anos. Foram cinco anos ininterruptos e caracterizados por metamorfoses viscerais marcadas por um crescimento exponencial de capacidades científicas e que resultam que agora, talvez agora, esteja pronto para recomeçar esta tese.

Talvez por isso apenas tenha sido possível realizar evidência a um nível *emergente* e *construtivo* e estejam muitas arestas de conhecimento para limar. No entanto, à semelhança da vida pessoal, entreguei-me por completo e dei o melhor das minhas capacidades e dedicação. Até ao fim.

Apesar das limitações desta tese, foi um privilégio ter a possibilidade de aos 35 anos terminar uma tese que se propõe a ser uma teoria etiológica sobre uma das Perturbações do Neurodesenvolvimento mais estudadas. Acima de tudo, esta tese foi realizada com o objectivo principal de fazer jus ao que um programa de doutoramento deve corresponder: uma tentativa de superação intelectual que deve resultar numa construção de conhecimento e contribuição académica cientificamente rigorosas.

9 Referências bibliográficas

- Aarts, E., Ederveen, T. H. A., Naaijen, J., Zwiens, M. P., Boekhorst, J., Timmerman, H. M., ... Arias Vasquez, A. (2017). Gut microbiome in ADHD and its relation to neural reward anticipation. *PloS One*, 12(9), e0183509. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183509>
- Aase, H., & Sagvolden, T. (2005). Moment-to-moment dynamics of ADHD behaviour. *Behavioral and Brain Functions : BBF*, 1, 12. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-12>
- Adobe Systems Incorporation. (2015). Adobe Photoshop CC [Computer program] Version 2015.1.
- Adobe Systems Incorporation. (2017). Adobe Illustrator CC [Computer program] Version 22.0.0.
- Adriani, W., Zoratto, F., & Laviola, G. (2012). Brain processes in discounting: consequences of adolescent methylphenidate exposure. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 9, 113–143. https://doi.org/10.1007/7854_2011_156
- Agarwal, R., Goldenberg, M., Perry, R., & Ishak, W. W. (2012). The quality of life of adults with attention deficit hyperactivity disorder: A systematic review. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 9(5–6), 10–21.
- Aguiar, A., Eubig, P. A., & Schantz, S. L. (2010). Attention deficit/hyperactivity disorder: A focused overview for children's environmental health researchers. *Environmental Health Perspectives*, 118(12), 1646–1653. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002326>
- Aguilar Cordero, M. J., Sanchez Lopez, A. M., Mur Villar, N., Garcia Garcia, I., Rodriguez Lopez, M. A., Ortegon Pinero, A., & Cortes Castell, E. (2014). [Salivary cortisol as an indicator of

- physiological stress in children and adults; a systematic review]. *Nutricion Hospitalaria*, 29(5), 960–968. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.5.7273>
- Aguzzi, A., Barres, B. A., & Bennett, M. L. (2013). Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? *Science (New York, N.Y.)*, 339(6116), 156–161. <https://doi.org/10.1126/science.1227901>
- Alderson, R. M., Kasper, L. J., Hudec, K. L., & Patros, C. H. G. (2013). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and working memory in adults: a meta-analytic review. *Neuropsychology*, 27(3), 287–302. <https://doi.org/10.1037/a0032371>
- Alderson, R. M., Rapport, M. D., & Kofler, M. J. (2007). Attention-deficit/hyperactivity disorder and behavioral inhibition: A meta-analytic review of the stop-signal paradigm. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 35(5), 745–758. <https://doi.org/10.1007/s10802-007-9131-6>
- Alhraiwil, N. J., Ali, A., Househ, M. S., Al-Shehri, A. M., & El-Metwally, A. A. (2015). Systematic review of the epidemiology of attention deficit hyperactivity disorder in Arab countries. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, 20(2), 137–144. <https://doi.org/10.17712/nsj.2015.2.20140678>
- Alink, L. R. A., van IJzendoorn, M. H., Bakermans-Kranenburg, M. J., Mesman, J., Juffer, F., & Koot, H. M. (2008). Cortisol and externalizing behavior in children and adolescents: Mixed meta-analytic evidence for the inverse relation of basal cortisol and cortisol reactivity with externalizing behavior. *Developmental Psychobiology*, 50(5), 427–450. <https://doi.org/10.1002/dev.20300>
- Alizadeh, Z., Mortaz, E., Adcock, I., & Moin, M. (2017). Role of Epigenetics in the Pathogenesis of Asthma. *Iranian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology*, 16(2), 82–91.
- Alkasir, R., Li, J., Li, X., Jin, M., & Zhu, B. (2017). Human gut microbiota: the links with dementia development. *Protein & Cell*, 8(2), 90–102. <https://doi.org/10.1007/s13238-016-0338-6>
- Allaerts, W., & Chang, T. W. (2017). Skewed Exposure to Environmental Antigens Complements Hygiene Hypothesis in Explaining the Rise of Allergy. *Acta Biotheoretica*, 65(2), 117–134. <https://doi.org/10.1007/s10441-017-9306-7>
- Allison, D., Faith, M., & Franklin, R. (1995). Antecedent exercise in the treatment of disruptive behavior: A meta-analytic review. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2850.1995.tb00045.x>
- Alloy, L. B., Ng, T. H., Titone, M. K., & Boland, E. M. (2017). Circadian Rhythm Dysregulation in Bipolar Spectrum Disorders. *Current Psychiatry Reports*, 19(4), 21. <https://doi.org/10.1007/s11920-017-0772-z>
- Altunç, U., Pittler, M. H., & Ernst, E. (2007). Homeopathy for childhood and adolescence ailments: systematic review of randomized clinical trials. *Mayo Clinic Proceedings*. Mayo

Clinic, 82(January), 69–75. <https://doi.org/10.4065/82.1.69>

Alvesson, M., & Kärreman, D. (2007). Constructing Mystery: Empirical Matters in Theory Development. *Academy of Management Review*, 32(4), 1265–1281. <https://doi.org/10.5465/AMR.2007.26586822>

Alvesson, M., & Kärreman, D. (2011). *Qualitative research and theory development*. SAGE Publications Ltd.

Alvesson, M., & Sandberg, J. (2013). *Constructing research questions*. SAGE Publications Ltd.

Amenyogbe, N., Kollmann, T. R., & Ben-Othman, R. (2017). Early-Life Host-Microbiome Interphase: The Key Frontier for Immune Development. *Frontiers in Pediatrics*, 5, 111. <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00111>

American Chemistry Council. (2017). The Frank R. Lautenberg Chemical Safety for the 21st Century Act.

American Psychiatric Association. (1952). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM*. American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (1968). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-II*. American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (1980). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-III*. American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV*. American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR*. American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5*. Washington, DC: American Psychiatric Association.

Angold, A., Costello, E. J., & Erkanli, A. (1999). Comorbidity. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 40(1), 57–87. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00424>

Anheyser, D., Lauche, R., Schumann, D., Dobos, G., & Cramer, H. (2017). Herbal medicines in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review. *Complementary Therapies in Medicine*, 30, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2016.11.004>

Antúñez, J. M., Navarro, J. F., & Adan, A. (2014). Tipología circadiana y problemas de salud mental. *Anales de Psicología*, 30(3), 971–984.

<https://doi.org/10.6018/analesps.30.3.168901>

Aoki, Y., Inokuchi, R., Suwa, H., & Aoki, A. (2013). Age-related change of neurochemical abnormality in attention-deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1692–1701. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.04.019>

Apple Inc. (2015). Numbers [Computer program] Version 3.6.2.

Arcos-Burgos, M., & Acosta, M. T. (2007). Tuning major gene variants conditioning human behavior: the anachronism of ADHD. *Current Opinion in Genetics & Development*, 17(3), 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2007.04.011>

Arnold, L. E., Hodgkins, P., Caci, H., Kahle, J., & Young, S. (2015). Effect of treatment modality on long-term outcomes in attention-deficit/hyperactivity disorder: A systematic review. *PLoS ONE*, 10(2), e0116407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116407>

Arnold, L. E., Hodgkins, P., Kahle, J., Madhoo, M., & Kewley, G. (2015). Long-Term Outcomes of ADHD: Academic Achievement and Performance. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054714566076>

Arns, M., Conners, C. K., & Kraemer, H. C. (2013). A Decade of EEG Theta/Beta Ratio Research in ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*, 17(5), 374–383. <https://doi.org/10.1177/1087054712460087>

Arns, M., de Ridder, S., Strehl, U., Breteler, M., & Coenen, A. (2009). Efficacy of neurofeedback treatment in ADHD: the effects on inattention, impulsivity and hyperactivity: a meta-analysis. *Clinical EEG and Neuroscience*, 40(3), 180–9. <https://doi.org/10.1177/155005940904000311>

Arns, M., Heinrich, H., & Strehl, U. (2014). Evaluation of neurofeedback in ADHD: The long and winding road. *Biological Psychology*, 95(1), 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2013.11.013>

Arnsten, A. F. T., & Lombroso, P. J. (2000). Genetics of Childhood Disorders: XVIII. ADHD, Part 2: Norepinephrine Has a Critical Modulatory Influence on Prefrontal Cortical Function. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 39(9), 1201–1203. <https://doi.org/10.1097/00004583-200009000-00022>

Arnsten, A. F. T., & Rubia, K. (2012). Neurobiological circuits regulating attention, cognitive control, motivation, and emotion: Disruptions in neurodevelopmental psychiatric disorders. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 51(4), 356–367. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.01.008>

Aron, A. R., & Poldrack, R. A. (2005). The cognitive neuroscience of response inhibition:

- Relevance for genetic research in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1285–1292. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.10.026>
- Aronson, J. K. (2000). “Where name and image meet”--the argument for “adrenaline”. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 320(7233), 506–509.
- Arumugam, M., Harrington, E. D., Foerstner, K. U., Raes, J., & Bork, P. (2010). SmashCommunity: a metagenomic annotation and analysis tool. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 26(23), 2977–2978. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq536>
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174–180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Asner, G. P., & Vitousek, P. M. (2005). Remote analysis of biological invasion and biogeochemical change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(12), 4383–4386. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500823102>
- Atladdottir, H. O., Henriksen, T. B., Schendel, D. E., & Parner, E. T. (2012). Autism after infection, febrile episodes, and antibiotic use during pregnancy: an exploratory study. *Pediatrics*, 130(6), e1447-54. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1107>
- Auclair, V., Harvey, P.-O., & Lepage, M. (2016). [Cognitive Behavioral Therapy and the Treatment of ADHD in Adults]. *Sante mentale au Quebec*, 41(1), 291–311.
- August, G. J., Braswell, L., & Thuras, P. (1998). Diagnostic stability of ADHD in a community sample of school-aged children screened for disruptive behavior. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 26(5), 345–356.
- Austerman, J. (2015). ADHD and behavioral disorders: Assessment, management, and an update from DSM-5. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 82(11 Suppl 1), S2-7. <https://doi.org/10.3949/ccjm.82.s1.01>
- Bachmann, M., Bachmann, C., Rief, W., & Mattejat, F. (2008). [Efficacy of psychiatric and psychotherapeutic interventions in children and adolescents with psychiatric disorders--a systematic evaluation of meta-analyses and reviews. Part I: Anxiety disorders and depressive disorders]. *Zeitschrift Fur Kinder- Und Jugendpsychiatrie Und Psychotherapie*, 36(5), 309–320. <https://doi.org/10.1024/1422-4917.36.5.309>
- Backhed, F., Fraser, C. M., Ringel, Y., Sanders, M. E., Sartor, R. B., Sherman, P. M., ... Finlay, B. B. (2012). Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host & Microbe*, 12(5), 611–622. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2012.10.012>
- Bainbridge, J. L., Page, R. L. 2nd, & Ruscini, J. M. (2008). Elucidating the mechanism of action

- and potential interactions of MAO-B inhibitors. *Neurologic Clinics*, 26(3 Suppl), S85–96, vi. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2008.05.002>
- Bakusic, J., Schaufeli, W., Claes, S., & Godderis, L. (2017). Stress, burnout and depression: A systematic review on DNA methylation mechanisms. *Journal of Psychosomatic Research*, 92, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2016.11.005>
- Balázs, J., & Keresztény, A. (2014). Subthreshold attention deficit hyperactivity in children and adolescents: a systematic review. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 23(6), 393–408. <https://doi.org/10.1007/s00787-013-0514-7>
- Bálint, S., Czobor, P., Komlósi, S., Mészáros, Á., Simon, V., & Bitter, I. (2009). Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): gender- and age-related differences in neurocognition. *Psychological Medicine*, 39(08), 1337. <https://doi.org/10.1017/S0033291708004236>
- Ballschmide, K., Hackenberg, R., Jarman, W. M., & Looser, R. (2002). Man-made chemicals found in remote areas of the world: the experimental definition for POPs. *Environmental Science and Pollution Research International*, 9(4), 274–288.
- Balogh, L., & Czobor, P. (2014). Post-Error Slowing in Patients With ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054714528043>
- Banaschewski, T. (2009). The genetics of attention- deficit / hyperactivity disorder, 9(10), 1547–1565.
- Banaschewski, T., Gerlach, M., Becker, K., Holtmann, M., Döpfner, M., & Romanos, M. (2016). Trust, but verify. The errors and misinterpretations in the Cochrane analysis by O. J. Storebo and colleagues on the efficacy and safety of methylphenidate for the treatment of children and adolescents with ADHD. *Zeitschrift Für Kinder- Und Jugendpsychiatrie Und Psychotherapie*, 44(4), 1–8. <https://doi.org/10.1024/1422-4917/a000433>
- Barinov, A., Loux, V., Hammani, A., Nicolas, P., Langella, P., Ehrlich, D., ... van de Guchte, M. (2009). Prediction of surface exposed proteins in *Streptococcus pyogenes*, with a potential application to other Gram-positive bacteria. *Proteomics*, 9(1), 61–73. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800195>
- Barker, D. J., Winter, P. D., Osmond, C., Margetts, B., & Simmonds, S. J. (1989). Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet (London, England)*, 2(8663), 577–580.
- Barker, W. (2001). *The Adages of Erasmus*. Toronto, Buffalo e Londres: University of Toronto Press.
- Barkley, R. A. (1997a). Attention-deficit/hyperactivity disorder, self-regulation, and time: toward a more comprehensive theory. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics* :

JDBP, 18(4), 271–279.

- Barkley, R. A. (1997b). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological Bulletin*, 121(1), 65–94.
- Barlow, J., Bergman, H., Kornør, H., Wei, Y., & Bennett, C. (2016). Group-based parent training programmes for improving emotional and behavioural adjustment in young children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 8, CD003680. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003680.pub3>
- Barnard, F. A. (1873). The Germ Theory of Disease and its Relations to Hygiene. *Public Health Papers and Reports*, 1, 70–87.
- Barnett, A. (1999, April 18). Chemical in TVs “damages the brain.” *The Guardian*.
- Barnig, C., & Levy, B. D. (2015). Innate immunity is a key factor for the resolution of inflammation in asthma. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society*, 24(135), 141–153. <https://doi.org/10.1183/09059180.00012514>
- Barone, E., Corrado, A., Gemignani, F., & Landi, S. (2016). Environmental risk factors for pancreatic cancer: an update. *Archives of Toxicology*, 90(11), 2617–2642. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1821-9>
- Bartels, E. M. (2013). How to perform a systematic search. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*, 27(2), 295–306. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2013.02.001>
- Basso, L., Izzo, L., & Giuliani, A. (2015). It’s got four wheels but is it a “Ferrari” or a “Fiat Bambino”? A critical reappraisal of evidence-based medicine. *Colorectal Disease: The Official Journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*, 17(3), 186–187. <https://doi.org/10.1111/codi.12827>
- Battagliese, G., Caccetta, M., Luppino, O. I., Baglioni, C., Cardi, V., Mancini, F., & Buonanno, C. (2015). Cognitive-behavioral therapy for externalizing disorders: A meta-analysis of treatment effectiveness. *Behaviour Research and Therapy*, 75, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2015.10.008>
- Bauermeister, J. J., Canino, G., Polanczyk, G., & Rohde, L. A. (2010). ADHD Across Cultures: Is There Evidence for a Bidimensional Organization of Symptoms? *Journal of Clinical Child & Adolescent Psychology*, 39(3), 362–372. <https://doi.org/10.1080/15374411003691743>
- Bazargani, N., & Attwell, D. (2017). Amines, Astrocytes, and Arousal. *Neuron*, 94(2), 228–231. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.035>

- Beauchaine, T. P., Gatzke-Kopp, L., & Mead, H. K. (2007). Polyvagal Theory and developmental psychopathology: emotion dysregulation and conduct problems from preschool to adolescence. *Biological Psychology*, *74*(2), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.08.008>
- Beck, J. M., Young, V. B., & Huffnagle, G. B. (2012). The microbiome of the lung. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *160*(4), 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.02.005>
- Becker, K. G. (2007). Autism, asthma, inflammation, and the hygiene hypothesis. *Medical Hypotheses*, *69*(4), 731–740. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2007.02.019>
- Bell, D. S. H. (2015). Changes seen in gut bacteria content and distribution with obesity: causation or association? *Postgraduate Medicine*, *127*(8), 863–868. <https://doi.org/10.1080/00325481.2015.1098519>
- Ben Haim, L., & Rowitch, D. H. (2017). Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nature Reviews. Neuroscience*, *18*(1), 31–41. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.159>
- Bendz, L. M., & Scates, A. C. (2010). Melatonin treatment for insomnia in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *The Annals of Pharmacotherapy*, *44*(1), 185–191. <https://doi.org/10.1345/aph.1M365>
- Benveniste, H. (1991). The excitotoxin hypothesis in relation to cerebral ischemia. *Cerebrovascular and Brain Metabolism Reviews*, *3*(3), 213–245.
- Bergen, S. E., Gardner, C. O., & Kendler, K. S. (2007). Age-Related Changes in Heritability of Behavioral Phenotypes Over Adolescence and Young Adulthood: A Meta-Analysis. *Twin Res Hum Genet*, *10*(3), 423–433. <https://doi.org/10.1375/twin.10.3.423>
- Berger, A., & Posner, M. I. (2000). Pathologies of brain attentional networks. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *24*(1), 3–5.
- Berlin, I. (1997). *The Hedgehog and the Fox: An Essay on Tolstoy's View of History*. Londres: Chatto & Windus.
- Berridge, C. W., & Devilbiss, D. M. (2011). Psychostimulants as cognitive enhancers: the prefrontal cortex, catecholamines, and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, *69*(12), e101-11. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.023>
- Bhutta, A. T., Cleves, M. A., Casey, P. H., Cradock, M. M., & Anand, K. J. S. (2002). Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. *JAMA*, *288*(6), 728–37.

- Bikic, A., Reichow, B., McCauley, S. A., Ibrahim, K., & Sukhodolsky, D. G. (2016). Meta-analysis of organizational skills interventions for children and adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Clinical Psychology Review*, *52*, 108–123. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2016.12.004>
- Bioulac, S., Micoulaud-Franchi, J. A., & Philip, P. (2015). Excessive Daytime Sleepiness in Patients With ADHD—Diagnostic and Management Strategies. *Current Psychiatry Reports*, *17*(8), 608. <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0608-7>
- Bjornstad, G., & Montgomery, P. (2005). Family therapy for attention-deficit disorder or attention-deficit/hyperactivity disorder in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews (Online)*, (2), CD005042. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005042.pub2>
- Black, D., Miliam, J., & Sussman, S. (2009). Sitting-Meditation Interventions Among Youth: A Review of Treatment Efficacy. *Pediatrics*, *124*(3), e532–e541. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-3434.Sitting-Meditation>
- Bland, R. (1814). *Proverbs, Adagia of Erasmus, with explanations (Vol. 1)*. Londres: Egerton, Military Library, Whitehall.
- Blaser, M. J. (2016). Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome. *Science*, *352*(6285), 544–545. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Blum, K., Sheridan, P. J., Wood, R. C., Braverman, E. R., Chen, T. J., & Comings, D. E. (1995). Dopamine D2 receptor gene variants: association and linkage studies in impulsive-addictive-compulsive behaviour. *Pharmacogenetics*, *5*(3), 121–141. <https://doi.org/10.1097/00008571-199506000-00001>
- Boksa, P., & El-Khodor, B. F. (2003). Birth insult interacts with stress at adulthood to alter dopaminergic function in animal models: Possible implications for schizophrenia and other disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*(1–2), 91–101. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(03\)00012-5](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(03)00012-5)
- Bolte, S., de Schipper, E., Holtmann, M., Karande, S., de Vries, P. J., Selb, M., & Tannock, R. (2014). Development of ICF Core Sets to standardize assessment of functioning and impairment in ADHD: the path ahead. *European Child and Adolescent Psychiatry*, *23*(12), 1139–1148. <https://doi.org/10.1007/s00787-013-0496-5>
- Bondar, N. P., & Merkulova, T. I. (2016). Brain-derived neurotrophic factor and early-life stress: Multifaceted interplay. *Journal of Biosciences*, *41*(4), 751–758.
- Bonvicini, C., Faraone, S. V., & Scassellati, C. (2016). Attention-deficit hyperactivity disorder in adults: A systematic review and meta-analysis of genetic, pharmacogenetic and biochemical studies. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.74>

- Boonstra, A. M., Oosterlaan, J., Sergeant, J. A., & Buitelaar, J. K. (2005). Executive functioning in adult ADHD: A meta-analytic review. *Psychological Medicine*, 35(8), 1097–1108. <https://doi.org/10.1017/S003329170500499X>
- Booth, A., Clarke, M., Ghersi, D., Moher, D., Petticrew, M., & Stewart, L. (2011). An international registry of systematic-review protocols. *The Lancet*, 377(9760), 108–109. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60903-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60903-8)
- Boris, M., & Mandel, F. S. (1994). Foods and additives are common causes of the attention deficit hyperactive disorder in children. *Annals of Allergy*, 72(5), 462–468.
- Borner, J., & Burmester, T. (2017). Parasite infection of public databases: a data mining approach to identify apicomplexan contaminations in animal genome and transcriptome assemblies. *BMC Genomics*, 18(1), 100. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3504-1>
- Bortolato, M., Chen, K., & Shih, J. C. (2008). Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(13–14), 1527–1533. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.06.002>
- Bouchon, D., Zimmer, M., & Dittmer, J. (2016). The Terrestrial Isopod Microbiome: An All-in-One Toolbox for Animal-Microbe Interactions of Ecological Relevance. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1472. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01472>
- Boutros, N. (2005). A Four-Step Approach for Developing Diagnostic Tests in Psychiatry: EEG in ADHD as a Test Case. *Journal of Neuropsychiatry*, 17(4), 455–464. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.17.4.455>
- Boxenbaum, E., & Rouleau, L. (2011). New Knowledge Products As Bricolage : Metaphors and Scripts in Organizational Theory. *Academy of Management Review*, 36(2), 272–296. <https://doi.org/10.5465/AMR.2011.59330898>
- Brandtzaeg, P. (2009). Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scandinavian Journal of Immunology*, 70(6), 505–515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02319.x>
- Brandtzaeg, P., Kiyono, H., Pabst, R., & Russell, M. W. (2008). Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunology*, 1(1), 31–37. <https://doi.org/10.1038/mi.2007.9>
- Braun, C. M. J., Delisle, J., Suffren, S., & Bolduc, M. (2013). Atypical left-right balance of visuomotor awareness in adult ADHD (combined type) on a test of executive function. *Laterality*, 18(April 2013), 385–406. <https://doi.org/10.1080/1357650X.2012.695796>
- Breggin, P. R., & Breggin, G. R. (1996). The Hazards of Treating “Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder” with Methylphenidate (Ritalin). *Journal of College Student Psychotherapy*, 10(2),

- Bridgett, D. J., & Walker, M. E. (2006). Intellectual functioning in adults with ADHD: a meta-analytic examination of full scale IQ differences between adults with and without ADHD. *Psychological Assessment, 18*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1037/1040-3590.18.1.1>
- Brigham, E. P., Kolaheer, F., Hansel, N., Breyse, P. N., Davis, M., Sharma, S., ... McCormack, M. C. (2015). Association between Western diet pattern and adult asthma: a focused review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology, 114*(4), 273–280. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2014.11.003>
- Bronsard, G., Alessandrini, M., Fond, G., Loundou, A., Auquier, P., Tordjman, S., & Boyer, L. (2016). The Prevalence of Mental Disorders Among Children and Adolescents in the Child Welfare System. *Medicine, 95*(7), e2622. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002622>
- Broome, M. R., He, Z., Iftikhar, M., Eyden, J., & Marwaha, S. (2015). Neurobiological and behavioural studies of affective instability in clinical populations: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 51*, 243–254. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.01.021>
- Brown, F. C., Roth, R. M., & Katz, L. J. (2015). Allocentric but not egocentric visual memory difficulties in adults with ADHD may represent cognitive inefficiency. *Psychiatry Research, 228*(3), 649–658. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.04.051>
- Bruce, C., Unsworth, C., & Tay, R. (2014). A systematic review of the effectiveness of behavioural interventions for improving driving outcomes in novice drivers with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *The British Journal of Occupational Therapy, 77*(7), 348–357. <https://doi.org/10.4276/030802214X14044755581745>
- Buchanan-Barker, P., & Barker, P. (2009). The convenient myth of Thomas Szasz. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing, 16*(1), 87–88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2850.2008.01310.x>
- Buie, T. (2015). Potential Etiologic Factors of Microbiome Disruption in Autism. *Clinical Therapeutics, 37*(5), 976–983. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.04.001>
- Buitelaar, N. J. L., Posthumus, J. A., & Buitelaar, J. K. (2015). ADHD in Childhood and/or Adulthood as a Risk Factor for Domestic Violence or Intimate Partner Violence: A Systematic Review. *Journal of Attention Disorders, 1087054715587099*-. <https://doi.org/10.1177/1087054715587099>
- Bunse, T., Wobrock, T., Strube, W., Padberg, F., Palm, U., Falkai, P., & Hasan, A. (2014). Motor cortical excitability assessed by transcranial magnetic stimulation in psychiatric disorders: A systematic review. *Brain Stimulation, 7*(2), 158–169.

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2013.08.009>

- Burns, G. L., Boe, B., Walsh, J. A., Sommers-Flanagan, R., & Teegarden, L. A. (2001). A confirmatory factor analysis on the DSM-IV ADHD and ODD symptoms: what is the best model for the organization of these symptoms? *Journal of Abnormal Child Psychology*, 29(4), 339–349.
- Burt, S. A. (2009). Rethinking environmental contributions to child and adolescent psychopathology: A meta-analysis of shared environmental influences. *Psychological Bulletin*, 135(4), 608–637. <https://doi.org/10.1037/a0015702>
- Bush, G. (2010). Attention-deficit/hyperactivity disorder and attention networks. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), 278–300. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.120>
- Bush, G., Valera, E. M., & Seidman, L. J. (2005). Functional neuroimaging of attention-deficit/hyperactivity disorder: A review and suggested future directions. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1273–1284. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.01.034>
- Butel, M.-J., Suau, A., Campeotto, F., Magne, F., Aires, J., Ferraris, L., ... Dupont, C. (2007). Conditions of bifidobacterial colonization in preterm infants: a prospective analysis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 44(5), 577–582. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3180406b20>
- Buttross, S. (2000). Attention deficit-hyperactivity disorder and its deceivers. *Current Problems in Pediatrics*, 30(2), 37–50. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-9380\(00\)80044-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0045-9380(00)80044-4)
- Cabello, F. C., Godfrey, H. P., Buschmann, A. H., & Dolz, H. J. (2016). Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. *The Lancet. Infectious Diseases*, 16(7), e127–e133. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00100-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00100-6)
- Cairncross, M., & Miller, C. J. (2016). The Effectiveness of Mindfulness-Based Therapies for ADHD: A Meta-Analytic Review. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715625301>
- Cakmak, Y. O. (2015, July). Provitella-derived hydrogen sulfide, constipation, and neuroprotection in Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*. United States. <https://doi.org/10.1002/mds.26258>
- Cao, M., Shu, N., Cao, Q., Wang, Y., & He, Y. (2014). Imaging Functional and Structural Brain Connectomics in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Molecular Neurobiology*, 50(3), 1111–1123. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8685-x>

- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Costello, E. K., Berg-Lyons, D., Gonzalez, A., Stombaugh, J., ... Knight, R. (2011). Moving pictures of the human microbiome. *Genome Biology*, *12*(5), R50. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-5-r50>
- Cardinale, B. J., Palmer, M. A., & Collins, S. L. (2002). Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature*, *415*(6870), 426–429. <https://doi.org/10.1038/415426a>
- Cariaga-Martinez, A., & Alelu-Paz, R. (2017). Rethinking the Epigenetic Framework to Unravel the Molecular Pathology of Schizophrenia. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(4). <https://doi.org/10.3390/ijms18040790>
- Carli, V., Durkee, T., Wasserman, D., Hadlaczky, G., Despalins, R., Kramarz, E., ... Kaess, M. (2012). The association between pathological internet use and comorbid psychopathology: A systematic review. *Psychopathology*, *46*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1159/000337971>
- Carlson, T., Reynolds, C. A., & Caplan, R. (2007). Case report: valproic Acid and risperidone treatment leading to development of hyperammonemia and mania. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, *46*(3), 356–361. <https://doi.org/10.1097/chi.0b013e31802ed8b2>
- Carona, C., Silva, N., & Moreira, H. (2015). Applying a developmental approach to quality of life assessment in children and adolescents with psychological disorders: challenges and guidelines. *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*, *15*(1), 47–70. <https://doi.org/10.1586/14737167.2015.972377>
- Carp, J., & Compton, R. J. (2009). Alpha power is influenced by performance errors. *Psychophysiology*, *46*(2), 336–343. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2008.00773.x>
- Carpiano, R. M., & Daley, D. M. (2006). A guide and glossary on post-positivist theory building for population health. *Journal of Epidemiology and Community Health*, *60*(7), 564–570. <https://doi.org/10.1136/jech.2004.031534>
- Carr, A. (2014). The evidence base for family therapy and systemic interventions for child-focused problems. *Journal of Family Therapy*, *36*(2), 107–157. <https://doi.org/10.1111/1467-6427.12032>
- Carrington, D. (2016, August 29). The Anthropocene epoch: scientists declare dawn of human-influenced age. *The Guardian*.
- Carvey, P. M., Punati, A., & Newman, M. B. (2006). Progressive dopamine neuron loss in Parkinson's disease: the multiple hit hypothesis. *Cell Transplantation*, *15*(3), 239–250.
- Cassaday, H. J., Nelson, A. J. D., & Pezze, M. A. (2014). From attention to memory along the

- dorsal-ventral axis of the medial prefrontal cortex: some methodological considerations. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, 160. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00160>
- Cassani, E., Barichella, M., Canello, R., Cavanna, F., Iorio, L., Cereda, E., ... Pezzoli, G. (2015). Increased urinary indoxyl sulfate (indican): new insights into gut dysbiosis in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 21(4), 389–393. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.02.004>
- Castellanos, F. X. (1997). Toward a pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clinical Pediatrics*, 36(7), 381–393. <https://doi.org/10.1177/000992289703600702>
- Castellanos, F. X., & Acosta, M. T. (2002). El síndrome de déficit de atención con hiperactividad como expresión de un trastorno funcional orgánico. *Revista de Neurología*, 35(1), 1–11.
- Castellanos, F. X., & Acosta, M. T. (2004). Neuroanatomía del trastorno por déficit de atención con hiperactividad. *Rev Neurol*, 38(Supl 1), 131–136.
- Castellanos, F. X., & Proal, E. (2012). Large-scale brain systems in ADHD: Beyond the prefrontal-striatal model. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(1), 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.11.007>
- Castellanos, F. X., Sonuga-Barke, E. J. S., Scheres, A., Di Martino, A., Hyde, C., & Walters, J. R. (2005). Varieties of attention-deficit/hyperactivity disorder-related intra-individual variability. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1416–1423. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.005>
- Castellanos, F. X., & Tannock, R. (2002). Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes. *Nature Reviews. Neuroscience*, 3(8), 617–628. <https://doi.org/10.1038/nrn896>
- Catalá-López, F., Peiró, S., Ridao, M., Sanfélix-Gimeno, G., Gènova-Maleras, R., & Catalá, M. A. (2012). Prevalence of attention deficit hyperactivity disorder among children and adolescents in Spain: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *BMC Psychiatry*, 12(1), 168. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-12-168>
- Catalá-López, F., Ridao, M., Sanfélix-Gimeno, G., & Peiró, S. (2013). Coste-efectividad del tratamiento farmacológico del trastorno por déficit de atención e hiperactividad en niños y adolescentes: síntesis cualitativa de la evidencia científica. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental*, 6(4), 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.rpsm.2012.12.002>
- Cavaillon, J. M. (2001). Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*, 47(4), 695–702.
- Caye, A., Spadini, A. V., Karam, R. G., Grevet, E. H., Rovaris, D. L., Bau, C. H. D., ... Kieling, C. (2016). Predictors of persistence of ADHD into adulthood: a systematic review of the

- literature and meta-analysis. *European Child & Adolescent Psychiatry*.
<https://doi.org/10.1007/s00787-016-0831-8>
- Cecil, C. A., Walton, E., & Barker, E. D. (2016). Prenatal diet and childhood ADHD: exploring the potential role of IGF2 methylation. *Epigenomics*, 8(12), 1573–1576.
<https://doi.org/10.2217/epi-2016-0131>
- Cenit, M. C., Nuevo, I. C., Codoner-Franch, P., Dinan, T. G., & Sanz, Y. (2017). Gut microbiota and attention deficit hyperactivity disorder: new perspectives for a challenging condition. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 26(9), 1081–1092.
<https://doi.org/10.1007/s00787-017-0969-z>
- Cerrillo-Urbina, A. J., García-Hermoso, A., Sánchez-López, M., Pardo-Guijarro, M. J., Santos Gómez, J. L., & Martínez-Vizcaíno, V. (2015). The effects of physical exercise in children with attention deficit hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis of randomized control trials. *Child: Care, Health and Development*.
<https://doi.org/10.1111/cch.12255>
- Chacko, A., Feirsen, N., Bedard, A.-C., Marks, D., Uderman, J. Z., & Chimiklis, A. (2013). Cogmed working memory training for youth with ADHD: A closer examination of efficacy utilizing evidence-based criteria. <https://doi.org/10.1080/15374416.2013.787622>
- Chan, E., Fogler, J. M., & Hammerness, P. G. (2016). Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Adolescents. *Jama*, 315(18), 1997.
<https://doi.org/10.1001/jama.2016.5453>
- Chandler, M. L. (2013). Psychotherapy for adult attention deficit/hyperactivity disorder: A comparison with cognitive behaviour therapy. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing*, 20(9), 814–820. <https://doi.org/10.1111/jpm.12023>
- Chang, T. W. (2014). Changing patterns of antigen exposure and their impact on the prevalence of allergy. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 25(8), 733–739. <https://doi.org/10.1111/pai.12297>
- Charach A, Dashti B, Carson P, Booker L, Lim CG, Lillie E, Yeung E, Ma J, Raina P, S. R. (2011). *Attention Deficit Hyperactivity Disorder: Effectiveness of Treatment in At-Risk Preschoolers; Long-Term Effectiveness in All Ages; and Variability in Prevalence, Diagnosis, and Treatment. Comparative Effectiveness Review No. 44.*
- Charach, A., Yeung, E., Climans, T., & Lillie, E. (2011). Childhood attention-deficit/hyperactivity disorder and future substance use disorders: Comparative meta-analyses. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 50(1), 9–21.
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2010.09.019>
- Charlson, E. S., Bittinger, K., Haas, A. R., Fitzgerald, A. S., Frank, I., Yadav, A., ... Collman, R.

- G. (2011). Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *184*(8), 957–963. <https://doi.org/10.1164/rccm.201104-0655OC>
- Chen, L., Hu, X., Ouyang, L., He, N., Liao, Y., Liu, Q., ... Gong, Q. (2016). A systematic review and meta-analysis of tract-based spatial statistics studies regarding attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *68*, 838–847. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.07.022>
- Chen, Z. Y., Powell, J. F., Hsu, Y. P., Breakefield, X. O., & Craig, I. W. (1992). Organization of the human monoamine oxidase genes and long-range physical mapping around them. *Genomics*, *14*(1), 75–82.
- Cheng, C. H., Chan, P. Y. S., Hsieh, Y. W., & Chen, K. F. (2016). A meta-analysis of mismatch negativity in children with attention deficit-hyperactivity disorders. *Neuroscience Letters*, *612*, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.11.033>
- Cherkasova, M. V., & Hechtman, L. (2009). Neuroimaging in attention-deficit hyperactivity disorder: Beyond the frontostriatal circuitry. *Canadian Journal of Psychiatry*, *54*(10), 651–664. <https://doi.org/10.1177/070674370905401002>
- Chess, S. (1960). Diagnosis and treatment of the hyperactive child. *New York State Journal of Medicine*, *60*, 2379–2385.
- Cheuk, D. K. L., & Wong, V. (2006). Meta-analysis of association between a catechol-O-methyltransferase gene polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder. *Behavior Genetics*, *36*(5), 651–659. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9076-5>
- Chinawa, J. M., Odetunde, O. I., Obu, H. A., Chinawa, A. T., Bakare, M. O., & Ujunwa, F. A. (2014). Attention deficit hyperactivity disorder: a neglected issue in the developing world. *Behavioural Neurology*, *2014*, 694764. <https://doi.org/10.1155/2014/694764>
- Clarke, A. R., Barry, R. J., McCarthy, R., & Selikowitz, M. (2001). Age and sex effects in the EEG: development of the normal child. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *112*(5), 806–814.
- Clarke, M. (2008). Systematic review of reviews of risk factors for intracranial aneurysms. *Neuroradiology*. <https://doi.org/10.1007/s00234-008-0411-9>
- Cloninger, C. R. (1987). A systematic method for clinical description and classification of personality variants. A proposal. *Archives of General Psychiatry*, *44*(6), 573–588.
- Cloninger, C. R., Svrakic, D. M., & Przybeck, T. R. (1993). A psychobiological model of temperament and character. *Archives of General Psychiatry*, *50*(12), 975–990.

- CmapTools. (2017). Institute for Human and Machine Cognition.
- Coates, J., Taylor, J. A., & Sayal, K. (2015). Parenting Interventions for ADHD: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*, *19*(10), 831–843. <https://doi.org/10.1177/1087054714535952>
- Coffey, J. C., & O’Leary, D. P. (2016). The mesentery: structure, function, and role in disease. *The Lancet. Gastroenterology & Hepatology*, *1*(3), 238–247. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30026-7](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30026-7)
- Cole, M. W., & Schneider, W. (2007). The cognitive control network: Integrated cortical regions with dissociable functions. *NeuroImage*, *37*(1), 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.03.071>
- Colquhoun, H. L., Levac, D., O’Brien, K. K., Straus, S., Tricco, A. C., Perrier, L., ... Moher, D. (2014). Scoping reviews: time for clarity in definition, methods, and reporting. *Journal of Clinical Epidemiology*, *67*(12), 1291–1294. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2014.03.013>
- Comings, D. E., Gade-Andavolu, R., Gonzalez, N., Wu, S., Muhleman, D., Blake, H., ... MacMurray, J. P. (2000). Comparison of the role of dopamine, serotonin, and noradrenaline genes in ADHD, ODD and conduct disorder: multivariate regression analysis of 20 genes. *Clinical Genetics*, *57*(3), 178–196. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2000.570304.x>
- Connell, J. H., & Slatyer, R. O. (1977). Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organisation. *The American Naturalist*, *111*(982), 1119–1144. <https://doi.org/10.1086/283241>
- Connett, P. (2017). Water fluoridation: Is fluoride chemophobia? *British Dental Journal*, *222*(5), 323–324. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.198>
- Contini, V., Rovaris, D. L., Victor, M. M., Grevet, E. H., Rohde, L. A., & Bau, C. H. D. (2013). Pharmacogenetics of response to methylphenidate in adult patients with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A systematic review. *European Neuropsychopharmacology*, *23*(6), 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.05.006>
- Coogan, A. N., & McGowan, N. M. (2017). A systematic review of circadian function, chronotype and chronotherapy in attention deficit hyperactivity disorder. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*. <https://doi.org/10.1007/s12402-016-0214-5>
- Cook, J., Knight, E., Hume, I., & Qureshi, A. (2014). The self-esteem of adults diagnosed with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review of the literature. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, *6*(4), 249–268. <https://doi.org/10.1007/s12402-014-0133-2>

- Cooper, P. S., Wong, A. S. W., Fulham, W. R., Thienel, R., Mansfield, E., Michie, P. T., & Karayanidis, F. (2015). Theta frontoparietal connectivity associated with proactive and reactive cognitive control processes. *NeuroImage*, *108*, 354–363. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.12.028>
- Cooper, R. E., Tye, C., Kuntsi, J., Vassos, E., & Asherson, P. (2015). Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation and cognition: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *29*(7), 753–763. <https://doi.org/10.1177/0269881115587958>
- Corcoran, J., & Dattalo, P. (2006). Parent Involvement in Treatment for ADHD: A Meta-Analysis of the Published Studies. <https://doi.org/10.1177/1049731506289127>
- Corkum, P., Tannock, R., & Moldofsky, H. (1998). Sleep Disturbances in Children With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *37*(6), 637–646. <https://doi.org/10.1097/00004583-199806000-00014>
- Cortese, S. (2012). The neurobiology and genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): what every clinician should know. *European Journal of Paediatric Neurology: EJPN: Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, *16*(5), 422–33. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2012.01.009>
- Cortese, S., Angriman, M., & Lecendreux, M. (2012). Iron and attention deficit/hyperactivity disorder: what is the empirical evidence so far? A systematic review of the literature. *Expert Rev. Neurother*, *12*(1473–7175), 1227–1240. <https://doi.org/10.1586/ern.12.116>
- Cortese, S., Angriman, M., Maffeis, C., Isnard, P., Konofal, E., Lecendreux, M., ... Mouren, M.-C. (2008). Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and Obesity: A Systematic Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *48*(6), 524–537. <https://doi.org/10.1080/10408390701540124>
- Cortese, S., Faraone, S. V., Konofal, E., & Lecendreux, M. (2009). Sleep in children with attention-deficit/ hyperactivity disorder: Meta-analysis of subjective and objective studies. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *48*(9), 894–908. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1097/CHI.0b013e3181ae09c9>
- Cortese, S., Ferrin, M., Brandeis, D., Buitelaar, J., Daley, D., Dittmann, R. W., ... Sonuga-Barke, E. J. S. (2015). Cognitive Training for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Meta-Analysis of Clinical and Neuropsychological Outcomes From Randomized Controlled Trials. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, *54*(3), 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2014.12.010>
- Cortese, S., Kelly, C., Chabernaud, C., Proal, E., Di Martino, A., Milham, M. P., & Castellanos,

- F. X. (2012). Toward systems neuroscience of ADHD: A meta-analysis of 55 fMRI studies. *American Journal of Psychiatry*, *169*(10), 1038–1055. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.11101521>
- Cortese, S., Konofal, E., Yateman, N., Mouren, M.-C., & Lecendreux, M. (2006). Sleep and alertness in children with attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review of the literature. *Sleep*.
- Cortese, S., Moreira-Maia, C. R., St. Fleur, D., Morcillo-Peñalver, C., Rohde, L. A., & Faraone, S. V. (2015). Association Between ADHD and Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry*, *173*(1), appi.ajp.2015.1. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15020266>
- Cortese, S., Moreira Maia, C. R., Rohde, L. A., Morcillo-Penalver, C., & Faraone, S. V. (2014). Prevalence of obesity in attention-deficit/hyperactivity disorder: study protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, *4*(3), e004541–e004541. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004541>
- Costa-Pinto, F. A., Basso, A. S., De Sa-Rocha, L. C., Britto, L. R. G., Russo, M., & Palermo-Neto, J. (2006). Neural correlates of IgE-mediated allergy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1088*, 116–131. <https://doi.org/10.1196/annals.1366.028>
- Costa, A., Riedel, M., Müller, U., Möller, H. J., & Ettinger, U. (2011). Relationship between SLC6A3 genotype and striatal dopamine transporter availability: A meta-analysis of human single photon emission computed tomography studies. *Synapse*, *65*(10), 998–1005. <https://doi.org/10.1002/syn.20927>
- Costa, P. T., & McCrae, R. R. (1992). Normal personality assessment in clinical practice: The NEO Personality Inventory. *Psychological Assessment*, *4*(1), 5–13. <https://doi.org/10.1037/1040-3590.4.1.5>
- Coulter, M. K., & Dean, M. E. (2007). Homeopathy for attention deficit/hyperactivity disorder or hyperkinetic disorder. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (4), CD005648. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005648.pub2>
- Crawford, J. J., & Shankle, R. J. (1961). Application of newer methods to study the importance of root canal and oral microbiota in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, *14*, 1109–1123.
- Creswell, J. W. (2009). *Research Design: Qualitative, quantitative and mixed methods approaches*. Sage Publications, Inc.
- Cubillo, A., Halari, R., Smith, A., Taylor, E., & Rubia, K. (2012). A review of fronto-striatal and fronto-cortical brain abnormalities in children and adults with Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and new evidence for dysfunction in adults with ADHD

- during motivation and attention. *Cortex*, 48(2), 194–215.
<https://doi.org/10.1016/j.cortex.2011.04.007>
- Cubillo, A., & Rubia, K. (2010). Structural and functional brain imaging in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 10(4), 603–620.
<https://doi.org/10.1586/ern.10.4>
- Cui, L., Morris, A., Huang, L., Beck, J. M., Twigg, H. L. 3rd, von Mutius, E., & Ghedin, E. (2014). The microbiome and the lung. *Annals of the American Thoracic Society*, 11 Suppl 4, S227-32. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201402-052PL>
- Curran, E. A., Cryan, J. F., Kenny, L. C., Dinan, T. G., Kearney, P. M., & Khashan, A. S. (2016). Obstetrical Mode of Delivery and Childhood Behavior and Psychological Development in a British Cohort. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 46(2), 603–614.
<https://doi.org/10.1007/s10803-015-2616-1>
- Curran, E. A., O'Neill, S. M. S. M. S. M., Cryan, J. F., Kenny, L. C., Dinan, T. G., Khashan, A. S., & Kearney, P. M. (2015, May). Research Review: Birth by caesarean section and development of autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12351>
- D'Andrea, M. R. (2005). Add Alzheimer's disease to the list of autoimmune diseases. *Medical Hypotheses*, 64(3), 458–463. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2004.08.024>
- Dalen, L., Sonuga-Barke, E. J. S., Hall, M., & Remington, B. (2004). Inhibitory deficits, delay aversion and preschool AD/HD: Implications for the dual pathway model. *Neural Plasticity*, 11(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1155/NP.2004.1>
- Daley, D. (2014). The evolution of the hygiene hypothesis: the role of early-life exposures to viruses and microbes and their relationship to asthma and allergic diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 14(5), 390–396.
<https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000101>
- Daley, D., Van Der Oord, S., Ferrin, M., Danckaerts, M., Doepfner, M., Cortese, S., & Sonuga-Barke, E. J. S. (2014). Behavioral interventions in attention-deficit/hyperactivity disorder: A meta-analysis of randomized controlled trials across multiple outcome domains. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 53(8), 835–847.
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2014.05.013>
- Danckaerts, M., Sonuga-Barke, E. J. S., Banaschewski, T., Buitelaar, J., Doepfner, M., Hollis, C., ... Coghill, D. (2010). The quality of life of children with attention deficit/hyperactivity disorder: A systematic review. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 19(2), 83–105.
<https://doi.org/10.1007/s00787-009-0046-3>
- Daneshparvar, M., Mostafavi, S.-A., Zare Jeddi, M., Yunesian, M., Mesdaghinia, A., Mahvi, A.

- H., & Akhondzadeh, S. (2016). The Role of Lead Exposure on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Children: A Systematic Review. *Iranian Journal of Psychiatry*, *11*(1), 1–14.
- Davids, E., & Gastpar, M. (2005). Attention deficit hyperactivity disorder and borderline personality disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *29*(6), 865–877. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.04.033>
- Davison, K. (2006). Historical aspects of mood disorders. *Psychiatry*, *5*(4), 115–118. <https://doi.org/10.1383/psyt.2006.5.4.115>
- De Angelis, M., Piccolo, M., Vannini, L., Siragusa, S., De Giacomo, A., Serrazanetti, D. I., ... Francavilla, R. (2013). Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PloS One*, *8*(10), e76993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076993>
- de Araujo, W. C., & Macdonald, J. B. (1964). The gingival crevice microbiota in five preschool children. *Archives of Oral Biology*, *9*(2), 227–228. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(64\)90013-5](https://doi.org/10.1016/0003-9969(64)90013-5)
- de la Escosura, A., Briones, C., & Ruiz-Mirazo, K. (2015). The systems perspective at the crossroads between chemistry and biology. *Journal of Theoretical Biology*, *381*, 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.04.036>
- de la Monte, S. M., Neusner, A., Chu, J., & Lawton, M. (2009). Epidemiological trends strongly suggest exposures as etiologic agents in the pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease, diabetes mellitus, and non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, *17*(3), 519–529. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1070>
- De Pauw, S. S. W., & Mervielde, I. (2011). The role of temperament and personality in problem behaviors of children with ADHD. *Journal of Abnormal Child Psychology*, *39*(2), 277–291. <https://doi.org/10.1007/s10802-010-9459-1>
- de Schipper, E., Lundequist, A., Wilteus, A. L., Coghill, D., de Vries, P. J., Granlund, M., ... Bölte, S. (2015). A comprehensive scoping review of ability and disability in ADHD using the International Classification of Functioning, Disability and Health-Children and Youth Version (ICF-CY). *European Child and Adolescent Psychiatry*, *24*(8), 859–872. <https://doi.org/10.1007/s00787-015-0727-z>
- de Schipper, E., Mahdi, S., Coghill, D., de Vries, P. J., Gau, S. S. F., Granlund, M., ... Bölte, S. (2015). Towards an ICF core set for ADHD: a worldwide expert survey on ability and disability. *European Child and Adolescent Psychiatry*, *24*(12), 1509–1521. <https://doi.org/10.1007/s00787-015-0778-1>
- de Theije, C. G. M., Bavelaar, B. M., Lopes da Silva, S., Korte, S. M., Olivier, B., Garssen, J.,

- & Kraneveld, A. D. (2014). Food allergy and food-based therapies in neurodevelopmental disorders. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 25(3), 218–226. <https://doi.org/10.1111/pai.12149>
- de Theije, C. G. M., Wopereis, H., Ramadan, M., van Eijndthoven, T., Lambert, J., Knol, J., ... Oozeer, R. (2014). Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 37, 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.005>
- Deault, L. C. (2010). A systematic review of parenting in relation to the development of comorbidities and functional impairments in children with Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder (ADHD). *Child Psychiatry and Human Development*, 41(2), 168–192. <https://doi.org/10.1007/s10578-009-0159-4>
- DeFilippis, E. M., Longman, R., Harbus, M., Dannenberg, K., & Scherl, E. J. (2016). Crohn's Disease: Evolution, Epigenetics, and the Emerging Role of Microbiome-Targeted Therapies. *Current Gastroenterology Reports*, 18(3), 13. <https://doi.org/10.1007/s11894-016-0487-z>
- DeFries, J. C. (1989). Gender ratios in children with reading disability and their affected relatives: a commentary. *Journal of Learning Disabilities*, 22(9), 544–545. <https://doi.org/10.1177/002221948902200905>
- Denscombe, M. (2008). Communities of Practice. *Journal of Mixed Methods Research*, 2(3), 270–283. <https://doi.org/10.1177/1558689808316807>
- Derrien, M., & Veiga, P. (2017). Rethinking Diet to Aid Human-Microbe Symbiosis. *Trends in Microbiology*, 25(2), 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.011>
- Deweerd, S. (2016). Parkinson's disease: 4 big questions. *Nature*, 538(7626), S17. <https://doi.org/10.1038/538S17a>
- Diamond, G. S., Serrano, A. C., Dickey, M., & Sonis, W. A. (1996). Current Status of Family-Based Outcome and Process Research. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 35(1), 6–16. <https://doi.org/10.1097/00004583-199601000-00007>
- Diamond, J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*, 418(6898), 700–707. <https://doi.org/10.1038/nature01019>
- Díaz-Munoz, S. L., Boddy, A. M., Dantas, G., Waters, C. M., & Bronstein, J. L. (2016). Contextual organismality: Beyond pattern to process in the emergence of organisms. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 70(12), 2669–2677. <https://doi.org/10.1111/evo.13078>
- Díaz-Román, A., Hita-Yáñez, E., & Buela-Casal, G. (2016). Sleep Characteristics in Children

- with Attention Deficit Hyperactivity Disorder: Systematic Review and Meta-Analyses. *Journal of Clinical Sleep Medicine : JCSM : Official Publication of the American Academy of Sleep Medicine*, 12(5). <https://doi.org/10.5664/jcsm.5810>
- Dickstein, S. G., Bannon, K., Xavier Castellanos, F., & Milham, M. P. (2006). The neural correlates of attention deficit hyperactivity disorder: An ALE meta-analysis. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 47(10), 1051–1062. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2006.01671.x>
- DiGiulio, D. B., Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Costello, E. K., Lyell, D. J., Robaczewska, A., ... Relman, D. A. (2015). Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(35), 11060–11065. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502875112>
- Dijk, D.-J. (2013, December). Why do we sleep so late? *Journal of Sleep Research*. England. <https://doi.org/10.1111/jsr.12111>
- DiMaio, S., Grizenko, N., & Joobar, R. (2003). Dopamine genes and attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 28(1), 27–38.
- Dinarello, C. A. (2007). Historical insights into cytokines. *European Journal of Immunology*, 37 Suppl 1, S34-45. <https://doi.org/10.1002/eji.200737772>
- Ding, Y.-C., Chi, H.-C., Grady, D. L., Morishima, A., Kidd, J. R., Kidd, K. K., ... Moyzis, R. K. (2002). Evidence of positive selection acting at the human dopamine receptor D4 gene locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(1), 309–314. <https://doi.org/10.1073/pnas.012464099>
- Dobbs, S. M., Dobbs, R. J., Weller, C., Charlett, A., Augustin, A., Taylor, D., ... Bjarnason, I. (2016). Peripheral aetiopathogenic drivers and mediators of Parkinson's disease and comorbidities: role of gastrointestinal microbiota. *Journal of Neurovirology*, 22(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/s13365-015-0357-8>
- Dominguez-Bello, M. G., Blaser, M. J., Ley, R. E., & Knight, R. (2011). Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology*, 140(6), 1713–1719. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.011>
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
- Dominguez-Bello, M. G., De Jesus-Laboy, K. M., Shen, N., Cox, L. M., Amir, A., Gonzalez, A.,

- ... Clemente, J. C. (2016). Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nature Medicine*, 22(3), 250–253. <https://doi.org/10.1038/nm.4039>
- Domschke, K., Sheehan, K., Lowe, N., Kirley, A., Mullins, C., O'sullivan, R., ... Hawi, Z. (2005). Association analysis of the monoamine oxidase A and B genes with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in an Irish sample: preferential transmission of the MAO-A 941G allele to affected children. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 134B(1), 110–114. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30158>
- Dong, H., Zhang, W., Zeng, X., Hu, G., Zhang, H., He, S., & Zhang, S. (2014). Histamine induces upregulated expression of histamine receptors and increases release of inflammatory mediators from microglia. *Molecular Neurobiology*, 49(3), 1487–1500. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8697-6>
- Dopfner, M., & Lehmkuhl, G. (2002). Evidenced based therapy of children and adolescents with Attention Deficit Hyperactivity Disorders (ADHD). *Praxis Der Kinderpsychologie Und Kinderpsychiatrie*, 51(6), 419–440.
- Dorairaj, S. (2013). *The Theory of One Team: Agile Software Development with Distributed Teams*. Victoria University of Wellington.
- Douglas, V. I., Barr, R. G., O'Neill, M. E., & Britton, B. G. (1986). Short term effects of methylphenidate on the cognitive, learning and academic performance of children with attention deficit disorder in the laboratory and the classroom. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 27(2), 191–211.
- Douglas, V. I., & I., V. (1972). Stop, look and listen: The problem of sustained attention and impulse control in hyperactive and normal children. *Canadian Journal of Behavioural Science/Revue Canadienne Des Sciences Du Comportement*, 4(4), 259–282. <https://doi.org/10.1037/h0082313>
- Dowling, N. A., Cowlshaw, S., Jackson, A. C., Merkouris, S. S., Francis, K. L., & Christensen, D. R. (2015). Prevalence of psychiatric co-morbidity in treatment-seeking problem gamblers: A systematic review and meta-analysis. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 49(6), 519–539. <https://doi.org/10.1177/0004867415575774>
- Duff, C. T., & Sulla, E. M. (2015). Measuring Executive Function in the Differential Diagnosis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Does It Really Tell Us Anything? *Applied Neuropsychology. Child*, 4(3), 188–96. <https://doi.org/10.1080/21622965.2013.848329>
- DuPaul, G. J., Eckert, T. L., & Vilaro, B. S. (2012). The effects of school-based interventions for attention deficit hyperactivity disorder: A review of the literature. *School Psychology*

Review, 41(4), 387–412.

- Durston, S. (2003). A review of the biological bases of ADHD: What have we learned from imaging studies? *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 9(3), 184–195. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10079>
- Durston, S., de Zeeuw, P., & Staal, W. G. (2009). Imaging genetics in ADHD: A focus on cognitive control. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(5), 674–689. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.08.009>
- Dusko Ehrlich, S. (2010). [Metagenomics of the intestinal microbiota: potential applications]. *Gastroenterologie clinique et biologique*, 34 Suppl 1, S23-8. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(10\)70017-8](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(10)70017-8)
- Dutra, T. G., Baltar, A., & Monte-Silva, K. K. (2016). Motor cortex excitability in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review and meta-analysis. *Research in Developmental Disabilities*, 56, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2016.01.022>
- Dworkin, R. (2011). *Justice for Hedgehogs*. Cambridge, Massachusetts e Londres: The Belknap Press of Harvard University Press.
- Eastwood, J. G., Jalaludin, B. B., & Kemp, L. A. (2014). Realist explanatory theory building method for social epidemiology: a protocol for a mixed method multilevel study of neighbourhood context and postnatal depression. *SpringerPlus*, 3, 12. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-12>
- Eastwood, J. G., Kemp, L. A., & Jalaludin, B. B. (2016). Realist theory construction for a mixed method multilevel study of neighbourhood context and postnatal depression. *SpringerPlus*, 5(1), 1081. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2729-9>
- Egger, J., Graham, P. J., Carter, C. M., Gumley, D., & Soothill, J. F. (1985). Controlled Trial of Oligoantigenic Treatment in the Hyperkinetic Syndrome. *The Lancet*, 325(8428), 540–545. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)91206-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)91206-1)
- Eickhoff, S. B., Bzdok, D., Laird, A. R., Kurth, F., & Fox, P. T. (2012). Activation likelihood estimation meta-analysis revisited. *NeuroImage*, 59(3), 2349–2361. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.09.017>
- Eisenberg, J., & Richman, R. (2011). Heart rate variability during a continuous performance test in children with problems of attention. *The Israel Journal of Psychiatry and Related Sciences*, 48(1), 19–24.
- Eisthen, H. L., & Theis, K. R. (2016). Animal-microbe interactions and the evolution of nervous systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 371(1685), 20150052. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0052>

- Ejaredar, M., Lee, Y., Roberts, D. J., Sauve, R., & Dewey, D. (2016). Bisphenol A exposure and children's behavior: A systematic review. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. <https://doi.org/10.1038/jes.2016.8>
- Ejaredar, M., Nyanza, E. C., Ten Eycke, K., & Dewey, D. (2015). Phthalate exposure and children's neurodevelopment: A systematic review. *Environmental Research*, *142*, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.014>
- Elia, J., Laracy, S., Allen, J., Nissley-Tsiopinis, J., & Borgmann-Winter, K. (2012). Epigenetics: genetics versus life experiences. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *9*, 317–340. https://doi.org/10.1007/7854_2011_144
- Elia, J., Sackett, J., Turner, T., Schardt, M., Tang, S.-C., Kurtz, N., ... Borgmann-Winter, K. (2012). Attention-deficit/hyperactivity disorder genomics: update for clinicians. *Current Psychiatry Reports*, *14*(5), 579–589. <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0309-4>
- Elliott, G. F. (1870). The Germ-Theory. *British Medical Journal*, *1*(489), 488–489.
- Ellison-Wright, I., Ellison-Wright, Z., & Bullmore, E. (2008). Structural brain change in Attention Deficit Hyperactivity Disorder identified by meta-analysis. *BMC Psychiatry*, *8*, 51. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-8-51>
- Elsair, R. (2012). *Fundamentals of Chemistry*. Romain Elsair & Ventus Publishing ApS.
- Elshout, G., van Ierland, Y., Bohnen, A. M., de Wilde, M., Oostenbrink, R., Moll, H. A., & Berger, M. Y. (2013). Alarm signs and antibiotic prescription in febrile children in primary care: an observational cohort study. *The British Journal of General Practice: The Journal of the Royal College of General Practitioners*, *63*(612), e437-44. <https://doi.org/10.3399/bjgp13X669158>
- Eme, R. F. (1992). Selective Females Affliction in the Developmental Disorders of Childhood: A Literature Review. *Journal of Clinical Child Psychology*, *21*(4), 354–364. https://doi.org/10.1207/s15374424jccp2104_5
- Emond, V., Joyal, C., & Poissant, H. (2009). Neuroanatomie structurelle et fonctionnelle du trouble déficitaire d'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH). *Encephale*, *35*(2), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2008.01.005>
- Environmental Working Group. (2017). Toxics. Retrieved September 4, 2017, from <http://www.ewg.org/key-issues/toxics#.Wa1rJq1OqHq>
- Ernst, E. Homeopathy: What does the “best” evidence tell us?, 192 *Medical Journal of Australia* § (2010). <https://doi.org/10.1002/14651858>
- Erskine, H. E., Ferrari, A. J., Nelson, P., Polanczyk, G. V., Flaxman, A. D., Vos, T., ... Scott, J.

- G. (2013). Research Review: Epidemiological modelling of attention-deficit/hyperactivity disorder and conduct disorder for the Global Burden of Disease Study 2010. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 54(12), 1263–1274. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12144>
- Escartin, C., & Bonvento, G. (2008). Targeted activation of astrocytes: a potential neuroprotective strategy. *Molecular Neurobiology*, 38(3), 231–241. <https://doi.org/10.1007/s12035-008-8043-y>
- Estrela, S., Kerr, B., & Morris, J. J. (2016). Transitions in individuality through symbiosis. *Current Opinion in Microbiology*, 31, 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.04.007>
- Etchepareborda, M. C., & Díaz Lucero, A. (2009). [Controversial aspects of the attention deficit disorder]. *Medicina*, 69(1 Pt 1), 51–63.
- European Chemicals Agency. (2017). How European legislation on chemicals improves our lives. Retrieved September 4, 2017, from <https://echa.europa.eu/chemicals-in-our-life/how-european-legislation-on-chemicals-improves-our-lives/free-access-to-data>
- European Commission. (2017). Food Additives Database. Retrieved September 10, 2017, from https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/additives/database_en
- European Food Safety Authority. (2017). Data collection and analysis of food composition. Retrieved September 10, 2017, from <http://www.efsa.europa.eu/en/data/food-composition>
- European Nuclear Society. (2017). Element, artificial. Retrieved September 4, 2017, from <https://www.euronuclear.org/info/encyclopedia/e/elementartificial.htm>
- Evans, J., Seri, S., & Cavanna, A. E. (2016). The effects of Gilles de la Tourette syndrome and other chronic tic disorders on quality of life across the lifespan: a systematic review. *European Child & Adolescent Psychiatry*. <https://doi.org/10.1007/s00787-016-0823-8>
- Evans, S. J., Bassis, C. M., Hein, R., Assari, S., Flowers, S. A., Kelly, M. B., ... McInnis, M. G. (2017). The gut microbiome composition associates with bipolar disorder and illness severity. *Journal of Psychiatric Research*, 87, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.12.007>
- Eysenck, S. B., & Eysenck, H. J. (1969). Scores on three personality variables as a function of age, sex and social class. *The British Journal of Social and Clinical Psychology*, 8(1), 69–76.
- Fabiani, R., Minelli, L., Bertarelli, G., & Bacci, S. (2016). A Western Dietary Pattern Increases Prostate Cancer Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/nu8100626>

- Fabiano, G. A., Pelham, W. E., Coles, E. K., Gnagy, E. M., Chronis-Tuscano, A., & O'Connor, B. C. (2009). A meta-analysis of behavioral treatments for attention-deficit/hyperactivity disorder. *Clinical Psychology Review*, 29(2), 129–140. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2008.11.001>
- Fabiano, G. A., Schatz, N. K., Aloe, A. M., Chacko, A., & Chronis-Tuscano, A. (2015). A Systematic Review of Meta-Analyses of Psychosocial Treatment for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Clinical Child and Family Psychology Review*, 18(1), 77–97. <https://doi.org/10.1007/s10567-015-0178-6>
- Fabiano, G. a. (2007). Father participation in behavioral parent training for ADHD: review and recommendations for increasing inclusion and engagement. *Journal of Family Psychology: JFP: Journal of the Division of Family Psychology of the American Psychological Association (Division 43)*, 21(4), 683–93. <https://doi.org/10.1037/0893-3200.21.4.683>
- Faedda, G. L., Serra, G., Marangoni, C., Salvatore, P., Sani, G., V??zquez, G. H., ... Koukopoulos, A. (2014). Clinical risk factors for bipolar disorders: A systematic review of prospective studies. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2014.07.013>
- Faith, D. P. (1992). Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation*, 61(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(92\)91201-3](https://doi.org/10.1016/0006-3207(92)91201-3)
- Faith, J. J., Guruge, J. L., Charbonneau, M., Subramanian, S., Seedorf, H., Goodman, A. L., ... Gordon, J. I. (2013). The long-term stability of the human gut microbiota. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6141), 1237439. <https://doi.org/10.1126/science.1237439>
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., & DeLong, E. F. (2008). The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5879), 1034–1039. <https://doi.org/10.1126/science.1153213>
- Falony, G., Joossens, M., Vieira-Silva, S., Wang, J., Darzi, Y., Faust, K., ... Raes, J. (2016). Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science (New York, N.Y.)*, 352(6285), 560–564. <https://doi.org/10.1126/science.aad3503>
- Fang, X. (2016). Potential role of gut microbiota and tissue barriers in Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *The International Journal of Neuroscience*, 126(9), 771–776. <https://doi.org/10.3109/00207454.2015.1096271>
- Fanous, A. A., & Couldwell, W. T. (2012). Transnasal excerebration surgery in ancient Egypt. *Journal of Neurosurgery*, 116(4), 743–748. <https://doi.org/10.3171/2011.12.JNS11417>
- Faraone, S. V., Biederman, J., & Mick, E. (2005). The age-dependent decline of attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis of follow-up studies. *Psychological Medicine*, 36(02), 159. <https://doi.org/10.1017/S003329170500471X>

- Faraone, S. V., Biederman, J., & Wozniak, J. (2012). Examining the comorbidity between attention deficit hyperactivity disorder and bipolar I disorder: A meta-analysis of family genetic studies. *American Journal of Psychiatry*, 169(12), 1256–1266. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12010087>
- 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. *American Journal of Psychiatry*, 158(7), 1052–1057. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.7.1052>
- Faraone, S. V., & Biederman, J. (1998). Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 44(10), 951–8. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(98\)00240-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(98)00240-6)
- Fawcett, J., & Downs, F. (1986). The Relationship Between Theory And Research. In *The Relationship Between Theory and Research*.
- Fayyad, J., Sampson, N. A., Hwang, I., Adamowski, T., Aguilar-Gaxiola, S., Al-Hamzawi, A., ... Kessler, R. C. (2017). The descriptive epidemiology of DSM-IV Adult ADHD in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 9(1), 47–65. <https://doi.org/10.1007/s12402-016-0208-3>
- Fazel, S., Doll, H., & Langstrom, N. (2008). Mental Disorders Among Adolescents in Juvenile Detention and Correctional Facilities. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 47(9), 1010–1019. <https://doi.org/10.1097/CHI.0b013e31817eefc3>
- Felice, V. D., Quigley, E. M., Sullivan, A. M., O’Keeffe, G. W., & O’Mahony, S. M. (2016). Microbiota-gut-brain signalling in Parkinson’s disease: Implications for non-motor symptoms. *Parkinsonism & Related Disorders*, 27, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.03.012>
- Ferreira, B., Pio-Abreu, J. L. L., & Januario, C. (2014). Tourette’s syndrome and associated disorders: a systematic review. *Trends in Pscychiatry and Psychotherapy*, 36(3), 123–133. <https://doi.org/10.1590/2237-6089-2014-1003>
- Ferreira, R., Santos, T., Goncalves, J., Baltazar, G., Ferreira, L., Agasse, F., & Bernardino, L. (2012). Histamine modulates microglia function. *Journal of Neuroinflammation*, 9, 90. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-90>
- Fettig, a., & Barton, E. E. (2013). Parent Implementation of Function-Based Intervention to Reduce Children’s Challenging Behavior: A Literature Review. <https://doi.org/10.1177/0271121413513037>
- Fettweis, J. M., Serrano, M. G., Girerd, P. H., Jefferson, K. K., & Buck, G. A. (2012). A new era of the vaginal microbiome: advances using next-generation sequencing. *Chemistry &*

Biodiversity, 9(5), 965–976. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100359>

- Feuerriegel, D., Churches, O., Hofmann, J., & Keage, H. A. D. (2015). The N170 and face perception in psychiatric and neurological disorders: A systematic review. *Clinical Neurophysiology*, 126(6), 1141–1158. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.09.015>
- Finckh, A., & Tramèr, M. R. (2008). Primer: strengths and weaknesses of meta-analysis. *Nature Clinical Practice. Rheumatology*, 4(3), 146–52. <https://doi.org/10.1038/ncprheum0732>
- Finegold, S. M., Downes, J., & Summanen, P. H. (2012). Microbiology of regressive autism. *Anaerobe*, 18(2), 260–262. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.12.018>
- Fischman, S., Kuffler, D. P., & Bloch, C. (2015). Disordered sleep as a cause of attention deficit/hyperactivity disorder: Recognition and management. *Clinical Pediatrics*, 54(8), 713–722. <https://doi.org/10.1177/0009922814548673>
- Flores, G. E., Caporaso, J. G., Henley, J. B., Rideout, J. R., Domogala, D., Chase, J., ... Fierer, N. (2014). Temporal variability is a personalized feature of the human microbiome. *Genome Biology*, 15(12), 531. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0531-y>
- Fluegge, K. (2016). Does environmental exposure to the greenhouse gas, N₂O, contribute to etiological factors in neurodevelopmental disorders? A mini-review of the evidence. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 47, 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.08.013>
- Fond, G., Loundou, A., Guillaume, S., Quantin, X., MacGregor, A., Lopez, R., ... Boyer, L. (2014). Smoking behavior characteristics of non-selected smokers with childhood attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD) history: A systematic review and meta-analysis. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 264(5), 379–389. <https://doi.org/10.1007/s00406-014-0497-5>
- Food Additives and Ingredients Association. (2017). E-numbers. Retrieved September 10, 2017, from <https://www.faia.org.uk/e-numbers/>
- Food Standards Agency. (2016). Current EU approved additives and their E Numbers. Retrieved September 10, 2017, from <https://www.food.gov.uk/science/additives/enumberlist#toc-5>
- Forero, D. A., Arboleda, G. H., Vasquez, R., & Arboleda, H. (2009). Candidate genes involved in neural plasticity and the risk for attention-deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis of 8 common variants. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 34(5), 361–366.
- Foster, M. J., & Shurtz, S. (2013). Making the Critical Appraisal for Summaries of Evidence (CASE) for evidence-based medicine (EBM): critical appraisal of summaries of evidence. *Journal of the Medical Library Association : JMLA*, 101(3), 192–198.

<https://doi.org/10.3163/1536-5050.101.3.008>

- Fowler, T., Walker, D., & Davies, S. C. (2014). The risk/benefit of predicting a post-antibiotic era: is the alarm working? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1323, 1–10. <https://doi.org/10.1111/nyas.12399>
- Francino, M. P. (2015). Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1543. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01543>
- Francl, M. (2013). How to counteract chemophobia. *Nature Chemistry*, 5(6), 439–440. <https://doi.org/10.1038/nchem.1661>
- Franke, B., Vasquez, A. A., Johansson, S., Hoogman, M., Romanos, J., Boreatti-Hummer, A., ... Reif, A. (2010). Multicenter analysis of the SLC6A3/DAT1 VNTR haplotype in persistent ADHD suggests differential involvement of the gene in childhood and persistent ADHD. *Neuropsychopharmacology*, 35(3), 656–664. <https://doi.org/npp2009170> [pii]r10.1038/npp.2009.170 [doi]
- Franzosa, E. A., Huang, K., Meadow, J. F., Gevers, D., Lemon, K. P., Bohannon, B. J. M., & Huttenhower, C. (2015). Identifying personal microbiomes using metagenomic codes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(22), E2930-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423854112>
- Frazier, T. W., Demaree, H. a, & Youngstrom, E. a. (2004). Meta-analysis of intellectual and neuropsychological test performance in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychology*, 18(3), 543–555. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.18.3.543>
- Frazier, T. W., Youngstrom, E. a, Glutting, J. J., & Watkins, M. W. (2007). ADHD and achievement: meta-analysis of the child, adolescent, and adult literatures and a concomitant study with college students. *Journal of Learning Disabilities*, 40(1), 49–65. <https://doi.org/10.1177/00222194070400010401>
- Frodl, T. (2010). Comorbidity of ADHD and Substance Use Disorder (SUD): a neuroimaging perspective. *Journal of Attention Disorders*, 14(2), 109–20. <https://doi.org/10.1177/1087054710365054>
- Frodl, T., & Skokauskas, N. (2012). Meta-analysis of structural MRI studies in children and adults with attention deficit hyperactivity disorder indicates treatment effects. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 125(2), 114–126. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2011.01786.x>
- Gaastra, G. F., Groen, Y., Tucha, L., & Tucha, O. (2016). The effects of classroom interventions on off-task and disruptive classroom behavior in children with symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder: A meta-analytic review. *PLoS ONE*, 11(2), e0148841.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148841>

- Gajer, P., Brotman, R. M., Bai, G., Sakamoto, J., Schutte, U. M. E., Zhong, X., ... Ravel, J. (2012). Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Science Translational Medicine*, 4(132), 132ra52. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003605>
- García Murillo, L., Cortese, S., Anderson, D., Di Martino, A., & Castellanos, F. X. (2015). Locomotor activity measures in the diagnosis of attention deficit hyperactivity disorder: Meta-analyses and new findings. *Journal of Neuroscience Methods*, 252, 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.03.001>
- Garipardic, M., Dogan, M., Bala, K. A., Mutluer, T., Kaba, S., Aslan, O., & Ustyol, L. (2017). Association of Attention Deficit Hyperactivity Disorder and Autism Spectrum Disorders with Mean Platelet Volume and Vitamin D. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 23, 1378–1384.
- Gatt, J. M., Burton, K. L. O., Williams, L. M., & Schofield, P. R. (2015). Specific and common genes implicated across major mental disorders: A review of meta-analysis studies. *Journal of Psychiatric Research*, 60, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.09.014>
- Gaub, M., & Carlson, C. L. (1997). Gender differences in ADHD: a meta-analysis and critical review. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 36(8), 1036–1045. <https://doi.org/10.1097/00004583-199708000-00011>
- Gaynes, B. N., Christian, R., Saavedra, L., Wines, R., Jonas, D., Viswanathan, M., ... Carey, T. (2012). Future Research Needs for Attention Deficit Hyperactivity Disorder Effectiveness of Treatment in At-Risk Preschoolers; Long-Term Effectiveness in All Ages; and Variability in Prevalence, Diagnosis, and Treatment: Version 2 [Internet]. *Future Research Needs No. 9*, (9), 1–69.
- Gayon, J. (2016). From Mendel to epigenetics: History of genetics. *Comptes Rendus Biologies*, 339(7–8), 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.05.009>
- Geburek, A. J., Rist, F., Gediga, G., Stroux, D., & Pedersen, A. (2013). Electrophysiological indices of error monitoring in juvenile and adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)-A meta-analytic appraisal. *International Journal of Psychophysiology*, 87(3), 349–362. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2012.08.006>
- Gensollen, T., Iyer, S. S., Kasper, D. L., & Blumberg, R. S. (2016). How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*, 352(6285), 539–544. <https://doi.org/10.1126/science.aad9378>
- Germano, G. D., Pinheiro, F. H., Okuda, P. M. M., & Capellini, S. A. (2013). Visual-motor perception in students with attention deficit with hyperactivity disorder. *CoDAS*, 25(4),

337–341. <https://doi.org/10.1590/S2317-17822013000400007>

- Gershon, J., & Gershon, J. (2002). A Meta-Analytic Review of Gender Differences in ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 5(3), 143–154. <https://doi.org/10.1177/108705470200500302>
- Ghanizadeh, A. (2011). Sensory processing problems in children with ADHD, a systematic review. *Psychiatry Investigation*, 8(2), 89–94. <https://doi.org/10.4306/pi.2011.8.2.89>
- Ghanizadeh, A. (2013). A systematic review of magnesium therapy for treating attention deficit hyperactivity disorder. *Archives of Iranian Medicine*, 16(7), 412–7. <https://doi.org/013167/AIM.0010>
- Ghanizadeh, A., & Berk, M. (2013). Zinc for treating of children and adolescents with attention-deficit hyperactivity disorder: a systematic review of randomized controlled clinical trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(1), 122–4. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.177>
- Gibbons, R., Socransky, S., de Araujo, W., & van Houte, J. (1964). Studies of the predominant cultivable microbiota of dental plaque. *Archives of Oral Biology*, 9(3), 365–370. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(64\)90069-X](https://doi.org/10.1016/0003-9969(64)90069-X)
- Gibbons, S. M., Jones, E., Bearquiver, A., Blackwolf, F., Roundstone, W., Scott, N., ... Gilbert, J. A. (2014). Human and environmental impacts on river sediment microbial communities. *PloS One*, 9(5), e97435. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097435>
- Gibbons, S. M., Kearney, S. M., Smillie, C. S., & Alm, E. J. (2017). Two dynamic regimes in the human gut microbiome. *PLoS Computational Biology*, 13(2), e1005364. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005364>
- Giedd, J. N., Blumenthal, J., Molloy, E., & Castellanos, F. X. (2001). Brain imaging of attention deficit/hyperactivity disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 931, 33–49. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb05772.x>
- Gilbert, J. A., Jansson, J. K., & Knight, R. (2014). The Earth Microbiome project: successes and aspirations. *BMC Biology*, 12, 69. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0069-1>
- Gillman, M. W. (2005). Developmental Origins of Health and Disease. *N Engl J Med*, 353(17), 1848–1850. <https://doi.org/10.1056/NEJMe058187>
- GingerALE. (2016). San Antonio, Texas.
- Givelet, N., Roos-Barraclough, F., & Shotyk, W. (2003). Predominant anthropogenic sources and rates of atmospheric mercury accumulation in southern Ontario recorded by peat cores from three bogs: comparison with natural “background” values (past 8000 years).

- Gizer, I. R., Ficks, C., & Waldman, I. D. (2009). Candidate gene studies of ADHD: A meta-analytic review. *Human Genetics*, 126(1), 51–90. <https://doi.org/10.1007/s00439-009-0694-x>
- Glassing, A., Dowd, S. E., Galandiuk, S., Davis, B., & Chiodini, R. J. (2016). Inherent bacterial DNA contamination of extraction and sequencing reagents may affect interpretation of microbiota in low bacterial biomass samples. *Gut Pathogens*, 8, 24. <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0103-7>
- Glover, G. H. (2011). Overview of functional magnetic resonance imaging. *Neurosurg Clin N Am*, 22(2), 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2010.11.001.Overview>
- Glover, V. (2014). Maternal depression, anxiety and stress during pregnancy and child outcome; what needs to be done. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 28(1), 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2013.08.017>
- Glow, P. H., & Glow, R. A. (1979). Hyperkinetic impulse disorder: a developmental defect of motivation. *Genetic Psychology Monographs*, 100(Second Half), 159–231.
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2004). Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5691), 1733–1736. <https://doi.org/10.1126/science.1095292>
- Gold, M. S., Blum, K., Oscar-Berman, M., & Braverman, E. R. (2014). Low dopamine function in attention deficit/hyperactivity disorder: should genotyping signify early diagnosis in children? *Postgraduate Medicine*, 126(1), 153–177. <https://doi.org/10.3810/pgm.2014.01.2735>
- Goldberg, L. R. (1993). The structure of phenotypic personality traits. *The American Psychologist*, 48(1), 26–34.
- Gomez, R., & Corr, P. J. (2014). ADHD and personality: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 34(5), 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2014.05.002>
- Goodlad, J. K., Marcus, D. K., & Fulton, J. J. (2013). Lead and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) symptoms: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, 33(3), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.01.009>
- Goodman, D. W., Mitchell, S., Rhodewalt, L., & Surman, C. B. H. (2016). Clinical Presentation, Diagnosis and Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in Older Adults: A Review of the Evidence and its Implications for Clinical Care. *Drugs & Aging*, 33(1), 27–36. <https://doi.org/10.1007/s40266-015-0327-0>

- Goossens, H., Ferech, M., Vander Stichele, R., & Elseviers, M. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet (London, England)*, *365*(9459), 579–587. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17907-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17907-0)
- Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., ... Zoeller, R. T. (2015a). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, *36*(6), E1–E150. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1010>
- Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., ... Zoeller, R. T. (2015b). Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, *36*(6), 593–602. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1093>
- Goulardins, J. B., Rigoli, D., Licari, M., Piek, J. P., Hasue, R. H., Oosterlaan, J., & Oliveira, J. A. (2015). Attention deficit hyperactivity disorder and developmental coordination disorder: Two separate disorders or do they share a common etiology. *Behavioural Brain Research*, *292*, 484–492. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.009>
- Gow, R. V., Hibbeln, J. R., & Parletta, N. (2015). Current evidence and future directions for research with omega-3 fatty acids and attention deficit hyperactivity disorder. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *18*(2), 133–8. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000140>
- Graham, L. C., Harder, J. M., Soto, I., de Vries, W. N., John, S. W. M., & Howell, G. R. (2016). Chronic consumption of a western diet induces robust glial activation in aging mice and in a mouse model of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*, *6*, 21568. <https://doi.org/10.1038/srep21568>
- Grant, M. J., & Booth, A. (2009). A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies. *Health Information and Libraries Journal*, *26*(2), 91–108. <https://doi.org/10.1111/j.1471-1842.2009.00848.x>
- Grant, W. B. (2016). Using Multicountry Ecological and Observational Studies to Determine Dietary Risk Factors for Alzheimer's Disease. *Journal of the American College of Nutrition*, *35*(5), 476–489. <https://doi.org/10.1080/07315724.2016.1161566>
- Grassmann, V., Alves, M. V., Santos-Galduróz, R. F., & Galduróz, J. C. F. (2014). Possible Cognitive Benefits of Acute Physical Exercise in Children With ADHD: A Systematic Review. *Journal of Attention Disorders*, *18*(7), 1087054714526041-. <https://doi.org/10.1177/1087054714526041>
- Grassmann, V., Santos-Galduróz, R. F., & Galduróz, J. C. F. (2013). Effects of low doses of

- polyunsaturated Fatty acids on the attention deficit/hyperactivity disorder of children: a systematic review. *Current Neuropharmacology*, 11(2), 186–196. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311020005>
- Gray, J. A. (1978). The neuropsychology of anxiety. *British Journal of Psychology (London, England : 1953)*, 69(4), 417–434.
- Gray, J. A., & McNaughton, N. (1982). *The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of septohippocampal system. Behavioral and Brain Sciences*. New York, USA: Oxford University Press Inc. <https://doi.org/10.1017/S0140525X00013170>
- Graziano, P. A., & Garcia, A. (2016). Attention-deficit hyperactivity disorder and children's emotion dysregulation: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2016.04.011>
- Greenhalgh, T., Howick, J., & Maskrey, N. (2014). Evidence based medicine: a movement in crisis? *Bmj*, 348(jun13 4), g3725–g3725. <https://doi.org/10.1136/bmj.g3725>
- Grice, E. A., Kong, H. H., Conlan, S., Deming, C. B., Davis, J., Young, A. C., ... Segre, J. A. (2009). Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5931), 1190–1192. <https://doi.org/10.1126/science.1171700>
- Grosch, E. G., & Hazen, R. M. (2015). Microbes, Mineral Evolution, and the Rise of Microcontinents-Origin and Coevolution of Life with Early Earth. *Astrobiology*, 15(10), 922–939. <https://doi.org/10.1089/ast.2015.1302>
- Gross, M. D. (1984). Effect of sucrose on hyperkinetic children. *Pediatrics*, 74(5), 876–878.
- Grossman, E. S., Hoffman, Y. S. G., Berger, I., & Zivotofsky, A. Z. (2015). Beating their chests: University students with ADHD demonstrate greater attentional abilities on an inattentive blindness paradigm. *Neuropsychology*, 29(6), 882–887. <https://doi.org/10.1037/neu0000189>
- Grosvenor, A. E., & Laws, E. R. (2008). The evolution of extracranial approaches to the pituitary and anterior skull base. *Pituitary*, 11(4), 337–345. <https://doi.org/10.1007/s11102-008-0095-5>
- GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung. (2017). Retrieved September 4, 2017, from <https://www.gsi.de/en/start/news.htm>
- Gualtieri, T., & Hicks, R. E. (1985). An immunoreactive theory of selective male affliction. *Behavioral and Brain Sciences*, 8(3), 427–441. <https://doi.org/10.1017/S0140525X00001023>
- Guilherme, P. R., Mattos, P., Serra-Pinheiro, M. A., & Regalla, M. A. (2007). Conflitos conjugais

- e familiares e presença de transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) na prole: Revisão sistemática. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria*, 56(3), 201–207. <https://doi.org/10.1590/S0047-20852007000300008>
- Guimaraes, A. P., Zeni, C., Polanczyk, G., Genro, J. P., Roman, T., Rohde, L. A., & Hutz, M. H. (2009). MAOA is associated with methylphenidate improvement of oppositional symptoms in boys with attention deficit hyperactivity disorder. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(5), 709–714. <https://doi.org/10.1017/S1461145709000212>
- Gupta, R., Markowitz, Y., Berman, L., & Chapman, P. (2008). High-resolution imaging of an ancient Egyptian mummified head: new insights into the mummification process. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, 29(4), 705–713. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A0909>
- Gupta, S. (2017). Microbiome: Puppy power. *Nature*, 543(7647), S48–S49. <https://doi.org/10.1038/543S48a>
- Guyatt, G., Oxman, A. D., Akl, E. A., Kunz, R., Vist, G., Brozek, J., ... Sch??nemann, H. J. (2011). GRADE guidelines: 1. Introduction - GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *Journal of Clinical Epidemiology*, 64(4), 383–394. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2010.04.026>
- Haenlein, M., & Caul, W. F. (1987). Attention deficit disorder with hyperactivity: a specific hypothesis of reward dysfunction. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 26(3), 356–362. <https://doi.org/10.1097/00004583-198705000-00014>
- Hagedoorn, P.-L. (2015). Microbial Metalloproteomics. *Proteomes*, 3(4), 424–439. <https://doi.org/10.3390/proteomes3040424>
- Halperin, J. M., & Schulz, K. P. (2006). Revisiting the role of the prefrontal cortex in the pathophysiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychological Bulletin*, 132(4), 560–581. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.132.4.560>
- Halperin, J. M., Trampush, J. W., Miller, C. J., Marks, D. J., & Newcorn, J. H. (2008). Neuropsychological outcome in adolescents/young adults with childhood ADHD: profiles of persisters, remitters and controls. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 49(9), 958–966. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2008.01926.x>
- Hamdani, N., Boukouaci, W., Hallouche, M. R., Charron, D., Krishnamoorthy, R., Leboyer, M., & Tamouza, R. (2015, December). Resolution of a manic episode treated with activated charcoal: Evidence for a brain-gut axis in bipolar disorder. *The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*. England. <https://doi.org/10.1177/0004867415595873>
- Hamza, M., Halayem, S., Bourgou, S., Daoud, M., Charfi, F., & Belhadj, A. (2017). Epigenetics

- and ADHD: Toward an Integrative Approach of the Disorder Pathogenesis. *Journal of Attention Disorders*, 1087054717696769. <https://doi.org/10.1177/1087054717696769>
- Harding, I. H., Yücel, M., Harrison, B. J., Pantelis, C., & Breakspear, M. (2015). Effective connectivity within the frontoparietal control network differentiates cognitive control and working memory. *NeuroImage*, 106, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.11.039>
- Hare, D. J., Rembach, A., & Roberts, B. R. (2016). The Emerging Role of Metalloproteomics in Alzheimer's Disease Research. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1303, 379–389. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2627-5_22
- Hargrave, S. L., Davidson, T. L., Lee, T.-J., & Kinzig, K. P. (2015). Brain and behavioral perturbations in rats following Western diet access. *Appetite*, 93, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.03.037>
- Harpin, V., Mazzone, L., Raynaud, J.-P., Kahle, J., & Hodgkins, P. (2013). Long-Term Outcomes of ADHD: A Systematic Review of Self-Esteem and Social Function. *Journal of Attention Disorders*, (X), 1–2. <https://doi.org/10.1177/1087054713486516>
- Harrison, A. G., & Rosenblum, Y. (2010). ADHD documentation for students requesting accommodations at the postsecondary level: Update on standards and diagnostic concerns. *Canadian Family Physician*, 56(8), 761–765.
- Hart, H., Radua, J., Mataix-Cols, D., & Rubia, K. (2012). Meta-analysis of fMRI studies of timing in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(10), 2248–2256. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.08.003>
- Hart, H., Radua, J., Nakao, T., Mataix-Cols, D., & Rubia, K. (2013). Meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies of inhibition and attention in attention-deficit/hyperactivity disorder: exploring task-specific, stimulant medication, and age effects. *JAMA Psychiatry*, 70(2), 185–98. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.277>
- Hasson, R., & Fine, J. G. (2012). Gender Differences Among Children With ADHD on Continuous Performance Tests: A Meta-Analytic Review. *Journal of Attention Disorders*, 16(3), 190–198. <https://doi.org/10.1177/1087054711427398>
- Hastings, J. E., & Barkley, R. A. (1978). A review of psychophysiological research with hyperkinetic children. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 6(4), 413–447.
- Hawes, D. J., Brennan, J., & Dadds, M. R. (2009). Cortisol, callous-unemotional traits, and pathways to antisocial behavior. *Current Opinion in Psychiatry*, 22(4), 357–362. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32832bfa6d>

- Hawkey, E., & Nigg, J. T. (2014). Omega-3 fatty acid and ADHD: Blood level analysis and meta-analytic extension of supplementation trials. *Clinical Psychology Review*, 34(6), 496–505. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2014.05.005>
- Healy, D. (2014). Psychiatric “diseases” in history. *History of Psychiatry*, 25(4), 450–458. <https://doi.org/10.1177/0957154X14543980>
- Heberling, C., & Dhurjati, P. (2015). Novel systems modeling methodology in comparative microbial metabolomics: identifying key enzymes and metabolites implicated in autism spectrum disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8949–8967. <https://doi.org/10.3390/ijms16048949>
- Hegerl, U., & Hensch, T. (2014). The vigilance regulation model of affective disorders and ADHD. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 44, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.10.008>
- Hegerl, U., Himmerich, H., Engmann, B., & Hensch, T. (2010). Mania and attention-deficit/hyperactivity disorder: common symptomatology, common pathophysiology and common treatment? *Current Opinion in Psychiatry*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e328331f694>
- Heilskov Rytter, M. J., Andersen, L. B. B., Houmann, T., Bilenberg, N., Hvolby, A., Mølgaard, C., ... Lauritzen, L. (2015, January). Diet in the treatment of ADHD in children - a systematic review of the literature. <https://doi.org/10.3109/08039488.2014.921933>
- Hemmi, M. H., Wolke, D., & Schneider, S. (2011). Associations between problems with crying, sleeping and/or feeding in infancy and long-term behavioural outcomes in childhood: a meta-analysis. *Archives Of Disease In Childhood*, 96(7), 622–629. <https://doi.org/10.1136/adc.2010.191312>
- Herreras, O., Makarova, J., & Makarov, V. A. (2015). New uses of LFPs: Pathway-specific threads obtained through spatial discrimination. *Neuroscience*, 310, 486–503. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.054>
- Herrmann, M. J., Biehl, S. C., Jacob, C., & Deckert, J. (2010). Neurobiological and psychophysiological correlates of emotional dysregulation in ADHD patients. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 2(4), 233–239. <https://doi.org/10.1007/s12402-010-0047-6>
- Hervey, A. S., Epstein, J. N., & Curry, J. F. (2004). Neuropsychology of adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: a meta-analytic review. *Neuropsychology*, 18(3), 485–503. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.18.3.485>
- Hicks, R. E., Mayo, J. P. J., & Clayton, C. J. (1989). Differential psychopharmacology of methylphenidate and the neuropsychology of childhood hyperactivity. *The International*

Journal of Neuroscience, 45(1–2), 7–32.

- Hillman, A. L., Abbott, M. B., Yu, J., Bain, D. J., & Chiou-Peng, T. (2015). Environmental legacy of copper metallurgy and Mongol silver smelting recorded in Yunnan Lake sediments. *Environmental Science & Technology*, 49(6), 3349–3357. <https://doi.org/10.1021/es504934r>
- Hlinka, J., Alexakis, C., Diukova, A., Liddle, P. F., & Auer, D. P. (2010). Slow EEG pattern predicts reduced intrinsic functional connectivity in the default mode network: An inter-subject analysis. *NeuroImage*, 53(1), 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.002>
- Ho, R. C., Zhang, M. W. B., Tsang, T. Y., Toh, A. H., Pan, F., Lu, Y., ... Mak, K.-K. (2014). The association between internet addiction and psychiatric co-morbidity: a meta-analysis. *BMC Psychiatry*, 14(1), 183. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-183>
- Hockings, K. J., McLennan, M. R., Carvalho, S., Ancrenaz, M., Bobe, R., Byrne, R. W., ... Hill, C. M. (2015). Apes in the Anthropocene: flexibility and survival. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(4), 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.02.002>
- Hodgkins, P., Arnold, L. E., Shaw, M., Caci, H., Woods, J. K., & Young, S. (2012). A systematic review of global publication trends regarding long-term outcomes of ADHD. *Frontiers in Psychiatry*, 2(JAN), 84. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2011.00084>
- Holling, C. S. (1973). Resilience and Stability of Ecological Systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4(1), 1–23. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.04.110173.000245>
- Holtmann, M., Poustka, L., Zepf, F. D., Banaschewski, T., Priller, J., Bolte, S., & Legenbauer, T. (2013). Severe affective and behavioral dysregulation in youths is associated with a proinflammatory state. *Zeitschrift Fur Kinder- Und Jugendpsychiatrie Und Psychotherapie*, 41(6), 393–399. <https://doi.org/10.1024/1422-4917/a000255>
- Holzle, L. (2017). Tabela Periódica.org. Retrieved September 3, 2017, from <http://www.tabelaperiodica.org>
- Homack, S., & Riccio, C. A. (2004). A meta-analysis of the sensitivity and specificity of the Stroop Color and Word Test with children. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 19(6), 725–743. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2003.09.003>
- Hong, H., Kim, B. S., & Im, H.-I. (2016). Pathophysiological Role of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases and Psychiatric Disorders. *International Neuropsychology Journal*, 20(Suppl 1), S2-7. <https://doi.org/10.5213/inj.1632604.302>
- Hornig, M., Weissenbock, H., Horscroft, N., & Lipkin, W. I. (1999). An infection-based model of neurodevelopmental damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

United States of America, 96(21), 12102–12107.

- Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E. R., McCue, T., ... Mazmanian, S. K. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451–1463. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.024>
- Hu, X., Wang, T., & Jin, F. (2016). Alzheimer's disease and gut microbiota. *Science China. Life Sciences*, 59(10), 1006–1023. <https://doi.org/10.1007/s11427-016-5083-9>
- Huang-Pollock, C. L., Karalunas, S. L., Tam, H., & Moore, A. N. (2012). Evaluating vigilance deficits in ADHD: a meta-analysis of CPT performance. *J Abnorm Psychol*, 121(2), 360–371. <https://doi.org/10.1037/a0027205>
- Hug, L. A., Baker, B. J., Anantharaman, K., Brown, C. T., Probst, A. J., Castelle, C. J., ... Banfield, J. F. (2016). A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*, 1, 16048. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>
- Hugon, P., Lagier, J.-C., Colson, P., Bittar, F., & Raoult, D. (2016). Repertoire of human gut microbes. *Microbial Pathogenesis*, In press. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.06.020>
- Huh, S. Y., Rifas-Shiman, S. L., Zera, C. A., Edwards, J. W. R., Oken, E., Weiss, S. T., & Gillman, M. W. (2012). Delivery by caesarean section and risk of obesity in preschool age children: a prospective cohort study. *Archives of Disease in Childhood*, 97(7), 610–616. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2011-301141>
- Human Microbiome Project Consortium. (2012). A framework for human microbiome research. *Nature*, 486(7402), 215–221. <https://doi.org/10.1038/nature11209>
- Hunter, G. R., Plaisance, E. P., & Fisher, G. (2014). Weight loss and bone mineral density. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 21(5), 358–362. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000087>
- Hur, Y.-M. (2015). Genetic and environmental etiology of the relationship between childhood hyperactivity/inattention and conduct problems in a South Korean twin sample. *Twin Research and Human Genetics: The Official Journal of the International Society for Twin Studies*, 18(3), 290–7. <https://doi.org/10.1017/thg.2015.26>
- Huse, S. M., Ye, Y., Zhou, Y., & Fodor, A. A. (2012). A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters. *PloS One*, 7(6), e34242. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034242>
- Hutchinson, a. D., Mathias, J. L., & Banich, M. T. (2008). Corpus callosum morphology in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analytic

- review. *Neuropsychology*, 22(3), 341–349. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.22.3.341>
- Huttenhower, C., Fah Sathirapongsasuti, J., Segata, N., Gevers, D., Earl, A. M., Fitzgerald, M. G., ... White, O. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
- Hwang, J.-Y., Aromolaran, K. A., & Zukin, R. S. (2017). The emerging field of epigenetics in neurodegeneration and neuroprotection. *Nature Reviews. Neuroscience*, 18(6), 347–361. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.46>
- Impey, M., & Heun, R. (2012). Completed suicide, ideation and attempt in attention deficit hyperactivity disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 125(2), 93–102. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2011.01798.x>
- Indrelid, S., Kleiveland, C., Holst, R., Jacobsen, M., & Lea, T. (2017). The Soil Bacterium *Methylococcus capsulatus* Bath Interacts with Human Dendritic Cells to Modulate Immune Function. *Frontiers in Microbiology*, 8, 320. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00320>
- Industrial Chemicals (Notification and Assessment) Act 1989. (2016). Canberra: Office of Parliamentary Counsel.
- Inoue, R., Sakaue, Y., Sawai, C., Sawai, T., Ozeki, M., Romero-Perez, G. A., & Tsukahara, T. (2016). A preliminary investigation on the relationship between gut microbiota and gene expressions in peripheral mononuclear cells of infants with autism spectrum disorders. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 80(12), 2450–2458. <https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1222267>
- Institute of Medicine of the National Academies. (2014). Identifying and Reducing Environmental Health Risks of Chemicals in Our Society: Workshop Summary. Washington, DC: The National Academic Press.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). (2017). Retrieved April 6, 2017, from <http://www.itis.gov>
- Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. (2014). The integrative human microbiome project: Dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease corresponding author. *Cell Host and Microbe*, 16(3), 276–289. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.014>
- International Association for Plant Taxonomy. (2012). International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). Retrieved April 6, 2017, from <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php?page=art3>
- International Commission on Zoological Nomenclature. (2000). International Code of Zoological

Nomenclature. Retrieved April 6, 2017, from <http://www.iczn.org>

International Union of Pure and Applied Chemistry. (2016). IUPAC is naming the four new elements nihonium, moscovium, tennessine, and oganesson. Retrieved September 4, 2017, from <https://iupac.org/iupac-is-naming-the-four-new-elements-nihonium-moscovium-tennessine-and-oganesson/>

Ioannidis, J. P. A. (2016a). Evidence-based medicine has been hijacked: a report to David Sackett. *Journal of Clinical Epidemiology*, *73*, 82–86. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2016.02.012>

Ioannidis, J. P. A. (2016b). The Mass Production of Redundant, Misleading, and Conflicted Systematic Reviews and Meta-analyses. *The Milbank Quarterly*, *94*(3), 485–514. <https://doi.org/10.1111/1468-0009.12210>

Iovene, M. R., Bombace, F., Maresca, R., Sapone, A., Iardino, P., Picardi, A., ... Bravaccio, C. (2017). Intestinal Dysbiosis and Yeast Isolation in Stool of Subjects with Autism Spectrum Disorders. *Mycopathologia*, *182*(3–4), 349–363. <https://doi.org/10.1007/s11046-016-0068-6>

Jablonka, E., & Raz, G. (2009). Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, *84*(2), 131–176.

Jacka, F. N., & Berk, M. (2016, February). Gut dysbiosis in mania: A viable therapeutic target? *The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*. England. <https://doi.org/10.1177/0004867415608002>

Jadad, A. R. B. (1999). The treatment of attention-deficit hyperactivity disorder: An annotated bibliography and critical appraisal of published systematic reviews and metaanalyses. *Canadian Journal of Psychiatry*.

Jadad, A. R., Cook, D. J., & Browman, G. P. (1997). A guide to interpreting discordant systematic reviews. *Cmaj*, *156*(10), 1411–1416. <https://doi.org/10.1007/BF03014452>

James, A., Lai, F. H., & Dahl, C. (2004). Attention deficit hyperactivity disorder and suicide: a review of possible associations. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *110*, 408–415. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2004.00384.x>

James, A., & Taylor, E. (1990). Sex differences in the hyperkinetic syndrome of childhood. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, *31*(3), 437–446.

Jansen, R. J., Poulus, M., Taconis, W., & Stoker, J. (2002). High-resolution spiral computed tomography with multiplanar reformatting, 3D surface- and volume rendering: a non-destructive method to visualize ancient Egyptian mummification techniques.

Computerized Medical Imaging and Graphics : The Official Journal of the Computerized Medical Imaging Society, 26(4), 211–216.

- Jensen, C. M., Amdisen, B. L., Jørgensen, K. J., & Arnfred, S. M. H. (2016). Cognitive behavioural therapy for ADHD in adults: systematic review and meta-analyses. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*. <https://doi.org/10.1007/s12402-016-0188-3>
- Jensen, P. S., Mrazek, D., Knapp, P. K., Steinberg, L., Pfeffer, C., Schowalter, J., & Shapiro, T. (1997). Evolution and revolution in child psychiatry: ADHD as a disorder of adaptation. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 36(12), 1672–1681. <https://doi.org/10.1097/00004583-199712000-00015>
- Jepsen, J. R. M., Fagerlund, B., & Mortensen, E. L. (2009). Do attention deficits influence IQ assessment in children and adolescents with ADHD? *Journal of Attention Disorders*, 12(6), 551–562. <https://doi.org/10.1177/1087054708322996>
- Jeyasingh, P. D., Cothran, R. D., & Tobler, M. (2014). Testing the ecological consequences of evolutionary change using elements. *Ecology and Evolution*, 4(4), 528–538. <https://doi.org/10.1002/ece3.950>
- Jha, M. K., Lee, W.-H., & Suk, K. (2016). Functional polarization of neuroglia: Implications in neuroinflammation and neurological disorders. *Biochemical Pharmacology*, 103, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.11.003>
- Jimenez, A. M., Lee, J., Wynn, J. K., Cohen, M. S., Engel, S. A., Glahn, D. C., ... Green, M. F. (2016). Abnormal Ventral and Dorsal Attention Network Activity during Single and Dual Target Detection in Schizophrenia. *Frontiers in Psychology*, 7, 323. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.00323>
- Johansen, E. B., Killeen, P. R., Russell, V. A., Tripp, G., Wickens, J. R., Tannock, R., ... Sagvolden, T. (2009). Origins of altered reinforcement effects in ADHD. *Behavioral and Brain Functions : BBF*, 5, 7. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-5-7>
- Johnston, L. K., Chien, K. B., & Bryce, P. J. (2014). The immunology of food allergy. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 192(6), 2529–2534. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303026>
- Joice, R., Yasuda, K., Shafquat, A., Morgan, X. C., & Huttenhower, C. (2014). Determining microbial products and identifying molecular targets in the human microbiome. *Cell Metabolism*, 20(5), 731–741. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.003>
- Joint Institute for Nuclear Research. (2016). 2016 Joint Institute for Nuclear Research. Dubna.
- Joint Institute for Nuclear Research. (2017). Retrieved September 4, 2017, from <http://www.jinr.ru/main-en/>

- Jorth, P., Turner, K. H., Gumus, P., Nizam, N., Buduneli, N., & Whiteley, M. (2014). Metatranscriptomics of the human oral microbiome during health and disease. *MBio*, *5*(2), e01012-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.01012-14>
- Joseph, N., Zhang-James, Y., Perl, A., & Faraone, S. V. (2015). Oxidative Stress and ADHD: A Meta-Analysis. *J Atten Disord*, *19*(11), 915–924. <https://doi.org/10.1177/1087054713510354>
- Juengling, F. D., Ebert, D., Gut, O., Engelbrecht, M. A., Rasenack, J., Nitzsche, E. U., ... Lieb, K. (2000). Prefrontal cortical hypometabolism during low-dose interferon alpha treatment. *Psychopharmacology*, *152*(4), 383–389.
- Kadhum, A. A. H., & Shamma, M. N. (2017). Edible lipids modification processes: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(1), 48–58. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848834>
- Kaiser, M. L., Schoemaker, M. M., Albaret, J. M., & Geuze, R. H. (2015). What is the evidence of impaired motor skills and motor control among children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)? Systematic review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*, *36*, 338–357. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2014.09.023>
- Kambeitz, J., Romanos, M., & Ettinger, U. (2014). Meta-analysis of the association between dopamine transporter genotype and response to methylphenidate treatment in ADHD. *The Pharmacogenomics Journal*, *14*(1), 77–84. <https://doi.org/10.1038/tpj.2013.9>
- Kamel Boulos, M. N., & Le Blond, J. (2016, January). On the road to personalised and precision geomedicine: medical geology and a renewed call for interdisciplinarity. *International Journal of Health Geographics*. England. <https://doi.org/10.1186/s12942-016-0033-0>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (2013). *Principles of Neural Science* (5th ed.). New York, USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Kang, D.-W., Adams, J. B., Gregory, A. C., Borody, T., Chittick, L., Fasano, A., ... Krajmalnik-Brown, R. (2017). Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*, *5*(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0225-7>
- Kang, D.-W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., Labaer, J., Adams, J. B., & Krajmalnik-Brown, R. (2013). Reduced incidence of Prevotella and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PloS One*, *8*(7), e68322. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068322>
- Kaplan, B. J., McNicol, J., Conte, R. A., & Moghadam, H. K. (1989). Dietary replacement in preschool-aged hyperactive boys. *Pediatrics*, *83*(1), 7–17.

- Karkman, A., Lehtimäki, J., & Ruokolainen, L. (2017). The ecology of human microbiota: dynamics and diversity in health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1399(1), 78–92. <https://doi.org/10.1111/nyas.13326>
- Karl, J. P., Margolis, L. M., Madslie, E. H., Murphy, N. E., Castellani, J. W., Gundersen, Y., ... Pasiakos, S. M. (2017). Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 312(6), G559–G571. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00066.2017>
- Karp, G. (2013). *Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments* (7th ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Karpouzis, F., Bonello, R., & Pollard, H. (2010). Chiropractic care for paediatric and adolescent Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A systematic review. *Chiropractic & Osteopathy*, 18, 13. <https://doi.org/10.1186/1746-1340-18-13>
- Karreman, D., & Levay, C. (2017). The interplay of text, meaning and practice: methodological considerations on discourse analysis in medical education. *Medical Education*, 51(1), 72–80. <https://doi.org/10.1111/medu.13212>
- Kasper, L. J., Alderson, R. M., & Hudec, K. L. (2012). Moderators of working memory deficits in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, 32(7), 605–617. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2012.07.001>
- Kaur, C., & Ling, E.-A. (2017). The circumventricular organs. *Histology and Histopathology*, 32(9), 879–892. <https://doi.org/10.14670/HH-11-881>
- Kavale, K. A., & Forness, S. R. (1983). Hyperactivity and diet treatment: a meta-analysis of the Feingold hypothesis. *Journal of Learning Disabilities*, 16(6), 324–30. <https://doi.org/10.1177/002221948301600604>
- Kean, J. D., Downey, L. A., & Stough, C. (2016). A systematic review of the Ayurvedic medicinal herb Bacopa monnieri in child and adolescent populations. *Complementary Therapies in Medicine*, 29, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2016.09.002>
- Keaney, J., & Campbell, M. (2015). The dynamic blood-brain barrier. *The FEBS Journal*, 282(21), 4067–4079. <https://doi.org/10.1111/febs.13412>
- Kebir, O., Tabbane, K., Sengupta, S., & Joobar, R. (2009). Candidate genes and neuropsychological phenotypes in children with ADHD: Review of association studies. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*.
- Keen, D., & Hadjikhouri, I. (2011). ADHD in children and adolescents. *BMJ Clinical Evidence*, 2008.

- Kelly, A. M. C., Margulies, D. S., & Castellanos, F. X. (2007). Recent advances in structural and functional brain imaging studies of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Current Psychiatry Reports*, 9(5), 401–407. <https://doi.org/10.1007/s11920-007-0052-4>
- Kephart, A., & Strauss, A. A. (1955). *Psychopathology and Education of the Brain-Injured Child* (Grune & St).
- Kettenmann, H., & Verkhratsky, A. (2008). Neuroglia: the 150 years after. *Trends in Neurosciences*, 31(12), 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.09.003>
- Khalil, H., Peters, M., Godfrey, C. M., McInerney, P., Soares, C. B., & Parker, D. (2016). An Evidence-Based Approach to Scoping Reviews. *Worldviews on Evidence-Based Nursing*, 13(2), 118–123. <https://doi.org/10.1111/wvn.12144>
- Khan Academy. (2017). Introduction to Immunology [Online course]. Retrieved from www.alison.com
- Kiecolt-Glaser, J. K., Derry, H. M., & Fagundes, C. P. (2015). Inflammation: depression fans the flames and feasts on the heat. *The American Journal of Psychiatry*, 172(11), 1075–1091. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.15020152>
- Killeen, P. R. (2015). Models of ADHD: Five ways smaller sooner is better. *Journal of Neuroscience Methods*, 252, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.01.011>
- Killeen, P. R., Russell, V. A., & Sergeant, J. A. (2013). A behavioral neuroenergetics theory of ADHD. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(4), 625–657. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.02.011>
- Killeen, P. R., Tannock, R., & Sagvolden, T. (2012). The four causes of ADHD: a framework. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 9, 391–425. https://doi.org/10.1007/7854_2011_160
- Kingdon, D., Cardoso, C., & Mcgrath, J. J. (2015). Research Review: Executive function deficits in fetal alcohol spectrum disorders and attention-deficit/hyperactivity disorder - a meta-analysis. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12451>
- Klassen, A., Miller, A., Raina, P., Lee, S. K., & Olsen, L. (1999). Attention-deficit hyperactivity disorder in children and youth: A quantitative systematic review of the efficacy of different management strategies. *Canadian Journal of Psychiatry*.
- Klein, M., Berger, S., Hoogman, M., Dammers, J., Makkinje, R., Heister, A. J. G. A. M., ... Franke, B. (2016). Meta-analysis of the DRD5 VNTR in persistent ADHD. *European Neuropsychopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.06.012>

- Knights, D., Ward, T. L., McKinlay, C. E., Miller, H., Gonzalez, A., McDonald, D., & Knight, R. (2014). Rethinking “enterotypes”. *Cell Host & Microbe*, 16(4), 433–437. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.09.013>
- Koch, R. (1890). An Address on Bacteriological Research. *British Medical Journal*, 2(1546), 380–383.
- Kochersperger, L. M., Parker, E. L., Siciliano, M., Darlington, G. J., & Denney, R. M. (1986). Assignment of genes for human monoamine oxidases A and B to the X chromosome. *Journal of Neuroscience Research*, 16(4), 601–616. <https://doi.org/10.1002/jnr.490160403>
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., ... Ley, R. E. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl, 4578–4585. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>
- Kofler, M. J., Raiker, J. S., Sarver, D. E., Wells, E. L., & Soto, E. F. (2016). Is hyperactivity ubiquitous in ADHD or dependent on environmental demands? Evidence from meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, 46, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2016.04.004>
- Kofler, M. J., Rapport, M. D., & Matt Alderson, R. (2008). Quantifying ADHD classroom inattentiveness, its moderators, and variability: A meta-analytic review. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 49(1), 59–69. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2007.01809.x>
- Kofler, M. J., Rapport, M. D., Sarver, D. E., Raiker, J. S., Orban, S. A., Friedman, L. M., & Kolomeyer, E. G. (2013). Reaction time variability in ADHD: A meta-analytic review of 319 studies. *Clinical Psychology Review*, 33(6), 795–811. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.06.001>
- Kolb, B., & Wishhaw, I. Q. (2009). *Fundamentals of Human Neuropsychology* (6th ed.). New York, USA: Worth Publishers.
- Kondo, D. G., Chrisman, A. K., & March, J. S. (2003). An evidence-based medicine approach to combined treatment for ADHD in children and adolescents. *Psychopharmacology Bulletin*, 37(3), 7–23.
- Konrad, K., & Eickhoff, S. B. (2010). Is the ADHD brain wired differently? A review on structural and functional connectivity in attention deficit hyperactivity disorder. *Human Brain Mapping*, 31(6), 904–916. <https://doi.org/10.1002/hbm.21058>
- Kontogianni, M. D., & Panagiotakos, D. B. (2014). Dietary patterns and stroke: a systematic review and re-meta-analysis. *Maturitas*, 79(1), 41–47.

<https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.06.014>

- Koonin, E. V., & Wolf, Y. I. (2012). Evolution of microbes and viruses: a paradigm shift in evolutionary biology? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2(September), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00119>
- Korczak, D. J., Lipman, E., Morrison, K., & Szatmari, P. (2013). Are Children And Adolescents With Psychiatric Illness At Risk For Increased Future Body Weight? A Systematic Review. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 55(11), 980–987. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12168>
- Kouvari, M., Notara, V., Kalogeropoulos, N., & Panagiotakos, D. B. (2016). Diabetes mellitus associated with processed and unprocessed red meat: an overview. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(7), 735–743. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1197187>
- Kraal, L., Abubucker, S., Kota, K., Fischbach, M. A., & Mitreva, M. (2014). The prevalence of species and strains in the human microbiome: a resource for experimental efforts. *PloS One*, 9(5), e97279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097279>
- Krain, A. L., & Castellanos, F. X. (2006). Brain development and ADHD. *Clinical Psychology Review*, 26(4), 433–444. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2006.01.005>
- Kramer, H. (2017). Kidney Disease and the Westernization and Industrialization of Food. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 70(1), 111–121. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2016.11.012>
- Krause, J. (2008). SPECT and PET of the dopamine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 8(4), 611–625. <https://doi.org/10.1586/14737175.8.4.611>
- Kuenzli, E. (2016). Antibiotic resistance and international travel: Causes and consequences. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 14(6), 595–598. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2016.11.010>
- Kuhn, T. S. (1970). *The Structure of Scientific Revolutions*. (O. Neurath, R. Carnap, & C. Morris, Eds.), *Philosophical Review* (Vol. 2). The University of Chicago Press, LTD.
- Kwak, M., Somerville, C., & van Nunen, S. (2018). A novel Australian tick *Ixodes* (*Endopalpiger*) *australiensis* inducing mammalian meat allergy after tick bite. *Asia Pacific Allergy*, 8(3), e31. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2018.8.e31>
- Lachance, L., Bm, K. M., Taylor, V. H., & Vigod, S. N. (2016). Omega-6 to Omega-3 Fatty Acid Ratio in Patients with ADHD : *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry = Journal de l'Académie Canadienne de Psychiatrie de l'enfant et de*

l'adolescent, 25(2), 87–96.

- Lafortuna, C. L., Tovar, A. R., Rastelli, F., Tabozzi, S. A., Caramenti, M., Orozco-Ruiz, X., ... Bertoli, G. (2017). Clinical, functional, behavioural and epigenomic biomarkers of obesity. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 22, 1655–1681.
- Lahey, B. B., Miller, T. L., Gordon, R. A., & Riley, A. W. (1999). Handbook of Disruptive Behavior Disorders. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4881-2>
- Laird, A. R., Eickhoff, S. B., Kurth, F., Fox, P. M., Uecker, A. M., Turner, J. A., ... Fox, P. T. (2009). ALE Meta-Analysis Workflows Via the Brainmap Database: Progress Towards A Probabilistic Functional Brain Atlas. *Frontiers in Neuroinformatics*, 3, 23. <https://doi.org/10.3389/neuro.11.023.2009>
- Laird, A. R., Fox, P. M., Price, C. J., Glahn, D. C., Uecker, A. M., Lancaster, J. L., ... Fox, P. T. (2005). ALE meta-analysis: Controlling the false discovery rate and performing statistical contrasts. *Human Brain Mapping*, 25(1), 155–164. <https://doi.org/10.1002/hbm.20136>
- Lam, R. W., Song, C., & Yatham, L. N. (2004). Does neuroimmune dysfunction mediate seasonal mood changes in winter depression? *Medical Hypotheses*, 63(4), 567–573. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2004.03.024>
- Lambek, R., Tannock, R., Dalsgaard, S., Trillingsgaard, A., Damm, D., & Thomsen, P. H. (2011). Executive dysfunction in school-age children with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 15(8), 646–655. <https://doi.org/10.1177/1087054710370935>
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., ... Szustakowki, J. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860–921. <https://doi.org/10.1038/35057062>
- Lange, K. W. (2017). Dietary factors in the etiology and therapy of attention deficit/hyperactivity disorder. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 20(6), 464–469. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000415>
- Lange, K. W., Reichl, S., Lange, K. M., Tucha, L., & Tucha, O. (2010). The history of attention deficit hyperactivity disorder. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 2(4), 241–255. <https://doi.org/10.1007/s12402-010-0045-8>
- Langseth, L., & Dowd, J. (1978). Glucose tolerance and hyperkinesia. *Food and Cosmetics Toxicology*, 16(2), 129–133. [https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(78\)80192-8](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(78)80192-8)
- Lansbergen, M. M., Kenemans, J. L., & van Engeland, H. (2007). Stroop interference and attention-deficit/hyperactivity disorder: A review and meta-analysis. *Neuropsychology*, 21(2), 251–262. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.21.2.251>

- Last, C. (2014). Human evolution, life history theory, and the end of biological reproduction. *Current Aging Science*, 7(1), 17–24.
- Latalova, K., Hajda, M., & Prasko, J. (2017). Can gut microbes play a role in mental disorders and their treatment? *Psychiatria Danubina*, 29(1), 28–30.
- Latimer, K., Wilson, P., Kemp, J., Thompson, L., Sim, F., Gillberg, C., ... Minnis, H. (2012). Disruptive behaviour disorders: A systematic review of environmental antenatal and early years risk factors. *Child: Care, Health and Development*, 38(5), 611–628. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2214.2012.01366.x>
- Laugesen, B., & Groenkjaer, M. (2015). Parenting experiences of living with a child with attention deficit hyperactivity disorder: A systematic review of qualitative evidence protocol. *JBI Database of Systematic Reviews and Implementation Reports*, 12(12), 41–53. <https://doi.org/10.11124/jbisrir-2015-2449>
- Laugesen, B., Lauritsen, M. B., Jørgensen, R., Sørensen, E. E., Rasmussen, P., & Grønkjær, M. (2016). Living with a child with attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review. *International Journal of Evidence-Based Healthcare*. <https://doi.org/10.1097/XEB.0000000000000079>
- Laurin, M. (2010). The subjective nature of Linnaean categories and its impact in evolutionary biology and biodiversity studies. *Contributions to Zoology*, 79(4), 131–146.
- Lautenberg Chemical Safety Act. (2017). Chemical Regulation for the 21st Century. Retrieved September 4, 2017, from <http://www.lautenbergchemicalsafetyact.com>
- Law, J., Plunkett, C., Taylor, J., & Gunning, M. (2009). Developing policy in the provision of parenting programmes: Integrating a review of reviews with the perspectives of both parents and professionals. *Child: Care, Health and Development*, 35(3), 302–312. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2214.2009.00939.x>
- Lawrence, R. A. (2014, June). The risks of not breastfeeding: new associations. *Breastfeeding Medicine : The Official Journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*. United States. <https://doi.org/10.1089/bfm.2014.9985>
- Lax, S., Smith, D. P., Hampton-Marcell, J., Owens, S. M., Handley, K. M., Scott, N. M., ... Gilbert, J. A. (2014). Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6200), 1048–1052. <https://doi.org/10.1126/science.1254529>
- Lazarevic, V., Whiteson, K., Hernandez, D., Francois, P., & Schrenzel, J. (2010). Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics*, 11, 523. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-523>

- Lazaro, C. P., Ponde, M. P., & Rodrigues, L. E. A. (2016). Opioid peptides and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorders. *Revista Brasileira de Psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)*, *38*(3), 243–246. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2015-1777>
- Lee, M. S., Choi, T. Y., Kim, J. I., Kim, L., & Ernst, E. (2011). Evidence-based integrative medicine : Acupuncture for treating attention deficit hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, *17*(4), 257–260. <https://doi.org/10.1007/s11655-011-0701-7>
- Lee, P., Niew, W., Yang, H., Chen, V. C., & Lin, K. (2012). A meta-analysis of behavioral parent training for children with attention deficit hyperactivity disorder. *Research in Developmental Disabilities*, *33*(6), 2040–9. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2012.05.011>
- Lee, S. S., Humphreys, K. L., Flory, K., Liu, R., & Glass, K. (2011). Prospective association of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and substance use and abuse/dependence: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, *31*(3), 328–341. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2011.01.006>
- Lee, Y. H., & Song, G. G. (2015a). BDNF 196 G/A and COMT Val158Met Polymorphisms and Susceptibility to ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715570389>
- Lee, Y. H., & Song, G. G. (2015b). Meta-Analysis of Case-Control and Family- Based Associations Between the 5-HTTLPR L / S Polymorphism and Susceptibility to ADHD. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715587940>
- Lee, Y., Yang, H.-J., Chen, V. C., Lee, W.-T., Teng, M.-J., Lin, C.-H., & Gossop, M. (2016). Meta-analysis of quality of life in children and adolescents with ADHD: By both parent proxy-report and child self-report using PedsQL™. *Research in Developmental Disabilities*, *51–52*, 160–172. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2015.11.009>
- Lei, D., Du, M., Wu, M., Chen, T., Huang, X., Du, X., ... Gong, Q. (2015). Functional MRI reveals different response inhibition between adults and children with ADHD. *Neuropsychology*, *29*(6), 874–881. <https://doi.org/10.1037/neu0000200>
- Leonard, B. E. (2010). The concept of depression as a dysfunction of the immune system. *Current Immunology Reviews*, *6*(3), 205–212. <https://doi.org/10.2174/157339510791823835>
- Leth-Steensen, C., Elbaz, K. Z., & Douglas, V. I. (2000). Mean response times, variability, and skew in the responding of ADHD children: a response time distributional approach. *Acta Psychologica*, *104*(2), 167–190. [https://doi.org/10.1016/S0001-6918\(00\)00019-6](https://doi.org/10.1016/S0001-6918(00)00019-6)
- Levinson, D. F. (2005). Meta-analysis in psychiatric genetics. *Current Psychiatry Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11920-005-0012-9>

- Levite, M. (2016). Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 216(1), 42–89. <https://doi.org/10.1111/apha.12476>
- Levy, E. R., Powell, J. F., Buckle, V. J., Hsu, Y. P., Breakefield, X. O., & Craig, I. W. (1989). Localization of human monoamine oxidase-A gene to Xp11.23-11.4 by in situ hybridization: implications for Norrie disease. *Genomics*, 5(2), 368–370.
- Levy, F., Barr, C., & Sunohara, G. (1998). Directions of aetiologic research on attention deficit hyperactivity disorder. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 32(1), 97–103. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1614.1998.00373.x>
- 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). *Human Molecular Genetics*, 15(14), 2276–2284. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl152>
- Li, K., Bihan, M., & Methe, B. A. (2013). Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PloS One*, 8(5), e63139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063139>
- Li, Q., Leung, Y. O., Zhou, I., Ho, L. C., Kong, W., Basil, P., ... McAlonan, G. M. (2015). Dietary supplementation with n-3 fatty acids from weaning limits brain biochemistry and behavioural changes elicited by prenatal exposure to maternal inflammation in the mouse model. *Translational Psychiatry*, 5, e641. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.126>
- Li, S., Yu, B., Zhou, D., He, C., Kang, L., Wang, X., ... Chen, X. Acupuncture for Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in children and adolescents. (B. Yu, Ed.), The Cochrane database of systematic reviews CD007839 (2011). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007839.pub2>
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gotzsche, P. C., Ioannidis, J. P. A., ... Moher, D. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 339, b2700.
- Liew, A. (2014). Eeg Biofeedback Therapy for Adhd: a Systematic Review. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-308883.34>
- Lijffijt, M., Kenemans, J. L., Verbaten, M. N., & van Engeland, H. (2005). A meta-analytic review of stopping performance in attention-deficit/hyperactivity disorder: deficient inhibitory motor control? *Journal of Abnormal Psychology*, 114(2), 216–222. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.2.216>
- Linnaei, C. (1788). *Systema naturae per regna tria naturae secundum classes, ordines, genera,*

species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Lipsiae: Impensis George Emanuel Beer.

- Linnet, K. M., Dalsgaard, S., Obel, C., Wisborg, K., Henriksen, T. B., Rodriguez, A., ... Jarvelin, M. R. (2003). Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am J Psychiatry*, *160*(6), 1028–1040. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.6.1028>
- List, B. A., & Barzman, D. H. (2011). Evidence-based recommendations for the treatment of aggression in pediatric patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatric Quarterly*, *82*(1), 33–42. <https://doi.org/10.1007/s11126-010-9145-z>
- Liu, A. H. (2015). Revisiting the hygiene hypothesis for allergy and asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *136*(4), 860–865. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.012>
- Liu, L.-L., Yang, J., Lei, G.-F., Wang, G.-J., Wang, Y.-W., & Sun, R.-P. (2008). Atomoxetine increases histamine release and improves learning deficits in an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder: the spontaneously hypertensive rat. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *102*(6), 527–532. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00230.x>
- Liu, L., Guan, L.-L., Chen, Y., Ji, N., Li, H.-M., Li, Z.-H., ... Wang, Y.-F. (2011). Association analyses of MAOA in Chinese Han subjects with attention-deficit/hyperactivity disorder: family-based association test, case-control study, and quantitative traits of impulsivity. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, *156B*(6), 737–748. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31217>
- Liu, Y.-S., Dai, X., Wu, W., Yuan, F., Gu, X., Chen, J.-G., ... Wu, J. (2016). The Association of SNAP25 Gene Polymorphisms in Attention Deficit/Hyperactivity Disorder: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Molecular Neurobiology*. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9810-9>
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine*, *8*(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
- Logan, G. D. (1994). On the ability to inhibit thought and action: A users guide to the stop-signal paradigm. *Inhibitory Processes in Attention, Memory, and Language*. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2006.09.008>
- Logan, G. D., & Burkell, J. (1986). Dependence and independence in responding to double stimulation: A comparison of stop, change, and dual-task paradigms. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, *12*(4), 549–563.

<https://doi.org/10.1037/0096-1523.12.4.549>

- Logan, G. D., & Cowan, W. B. (1984). On the ability to inhibit thought and action: A theory of an act of control. *Psychological Review*, *91*(3), 295–327. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.91.3.295>
- Logan, G. D., Van Zandt, T., Verbruggen, F., & Wagenmakers, E.-J. (2014). On the ability to inhibit thought and action: general and special theories of an act of control. *Psychological Review*, *121*(1), 66–95. <https://doi.org/10.1037/a0035230>
- Loo, S. K., Humphrey, L. A., Tapio, T., Moilanen, I. K., McGough, J. J., McCracken, J. T., ... Smalley, S. L. (2007). Executive functioning among Finnish adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, *46*(12), 1594–1604. <https://doi.org/10.1097/chi.0b013e3181575014>
- Loo, S. K., & Makeig, S. (2012). Clinical Utility of EEG in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Research Update. *Neurotherapeutics*, *9*(3), 569–587. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0131-z>
- Loreau, M., & de Mazancourt, C. (2013). Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecology Letters*, *16* Suppl 1, 106–115. <https://doi.org/10.1111/ele.12073>
- Lou, H. C. (1996). Etiology and pathogenesis of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): significance of prematurity and perinatal hypoxic-haemodynamic encephalopathy. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, *85*(11), 1266–1271.
- Lovell, A. M., & Susser, E. (2014, August). What might be a history of psychiatric epidemiology? Towards a social history and conceptual account. *International Journal of Epidemiology*. England. <https://doi.org/10.1093/ije/dyu147>
- Lowry, C. A., Smith, D. G., Siebler, P. H., Schmidt, D., Stamper, C. E., Hassell, J. E. J., ... Rook, G. A. W. (2016). The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health: Implications for Public Health. *Current Environmental Health Reports*, *3*(3), 270–286. <https://doi.org/10.1007/s40572-016-0100-5>
- Lozupone, C. A., & Knight, R. (2008). Species divergence and the measurement of microbial diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, *32*(4), 557–578. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x>
- Lu, P.-Y., Shu, L., Shen, S.-S., Chen, X.-J., & Zhang, X.-Y. (2017). Dietary Patterns and Pancreatic Cancer Risk: A Meta-Analysis. *Nutrients*, *9*(1). <https://doi.org/10.3390/nu9010038>
- Luby, J. L., Svrakic, D. M., McCallum, K., Przybeck, T. R., & Cloninger, C. R. (1999). The Junior

- Temperament and Character Inventory: preliminary validation of a child self-report measure. *Psychological Reports*, 84(3 Pt 2), 1127–1138. <https://doi.org/10.2466/pr0.1999.84.3c.1127>
- Lundahl, A., Kidwell, K. M., Van Dyk, T. R., & Nelson, T. D. (2015). A Meta-Analysis of the Effect of Experimental Sleep Restriction on Youth's Attention and Hyperactivity. *Developmental Neuropsychology*, 40(3), 104–121. <https://doi.org/10.1080/87565641.2014.939183>
- Lundahl, B., Risser, H. J., & Lovejoy, M. C. (2006). A meta-analysis of parent training: Moderators and follow-up effects. *Clinical Psychology Review*, 26(1), 86–104. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2005.07.004>
- Lunding, L., & Wegmann, M. (2015, August). NK cells in asthma exacerbation. *Oncotarget*. United States. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4841>
- MacArthur, R. H., & Wilson, E. O. (2010). *The Theory of Island Biogeography Revisited*. (J. B. Losos & R. E. Rickfelds, Eds.). Princeton University Press.
- MacKenzie, K. S. (2011). *An exploration of the technical, social and macro-societal pressures influencing the adoption of online social networking services by organisations*. School of Accountancy.
- Maćkowiak, K., Torlińska-Walkowiak, N., Torlińska, B., Mackowiak, K., Torlińska-Walkowiak, N., & Torlińska, B. (2016). Dietary fibre as an important constituent of the diet. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online)*, 70, 104–9. <https://doi.org/10.5604/17322693.1195842>
- Maher, B. S., Marazita, M. L., Ferrell, R. E., & Vanyukov, M. M. (2002). Dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychiatric Genetics*, 12(4), 207–15. <https://doi.org/10.1097/00041444-200212000-00003>
- Majewicz-Hefley, A., & Carlson, J. S. (2007). A meta-analysis of combined treatments for children diagnosed with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 10(3), 239–50. <https://doi.org/10.1177/1087054706289934>
- Mana, S., Paillere Martinot, M. L., & Martinot, J. L. (2010). Brain imaging findings in children and adolescents with mental disorders: A cross-sectional review. *European Psychiatry*, 25(6), 345–354. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2010.04.010>
- Mangiola, F., Ianiro, G., Franceschi, F., Fagiuoli, S., Gasbarrini, G., & Gasbarrini, A. (2016). Gut microbiota in autism and mood disorders. *World Journal of Gastroenterology*, 22(1), 361–368. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.361>
- Manka, S., & Majewska, E. (2016). Immunoregulatory action of melatonin. The mechanism of

- action and the effect on inflammatory cells. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, 70(0), 1059–1067.
- Marangoni, C., De Chiara, L., & Faedda, G. L. (2015). Bipolar Disorder and ADHD: Comorbidity and Diagnostic Distinctions. *Current Psychiatry Reports*, 17(8), 67. <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0604-y>
- Marshall, P. (1989). Attention deficit disorder and allergy: a neurochemical model of the relation between the illnesses. *Psychological Bulletin*, 106(3), 434–446.
- Marshall, P. S., O'Hara, C., & Steinberg, P. (2002). Effects of seasonal allergic rhinitis on fatigue levels and mood. *Psychosomatic Medicine*, 64(4), 684–691.
- Martel, M. M., Goth-Owens, T., Martinez-Torteya, C., & Nigg, J. T. (2010). A person-centered personality approach to heterogeneity in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Journal of Abnormal Psychology*, 119(1), 186–196. <https://doi.org/10.1037/a0017511>
- Martel, M. M., Gremillion, M., Roberts, B., von Eye, A., & Nigg, J. T. (2010). The structure of childhood disruptive behaviors. *Psychological Assessment*, 22(4), 816–826. <https://doi.org/10.1037/a0020975>
- Martel, M. M., von Eye, A., & Nigg, J. (2012). Developmental differences in structure of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) between childhood and adulthood. *International Journal of Behavioral Development*, 36(4), 279–292. <https://doi.org/10.1177/0165025412444077>
- Martel, M. M., von Eye, A., & Nigg, J. T. (2010). Revisiting the latent structure of ADHD: is there a “g” factor? *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 51(8), 905–914. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2010.02232.x>
- Martin, W. F., & Sousa, F. L. (2015). Early Microbial Evolution: The Age of Anaerobes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(2), a018127. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018127>
- Martinez de Tejada, B. (2014). Antibiotic use and misuse during pregnancy and delivery: benefits and risks. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(8), 7993–8009. <https://doi.org/10.3390/ijerph110807993>
- Martinussen, R., Hayden, J., Hogg-Johnson, S., & Tannock, R. (2005). A Meta-Analysis of Working Memory Impairments in Children With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 44(4), 377–384. <https://doi.org/10.1097/01.chi.0000153228.72591.73>
- Matthews, M., Nigg, J. T., & Fair, D. A. (2013). Attention deficit hyperactivity disorder. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 16, 235–266.

https://doi.org/10.1007/7854_2013_249

- Maughan, D. R., Christiansen, E., Jenson, W. R., Olympia, D., & Clark, E. (2005). Behavioral parent training as a treatment for externalizing behaviors and disruptive behavior disorders: A meta-analysis. *School Psychology Review*, *34*(3), 267–286.
- Mayer, E. A., Padua, D., & Tillisch, K. (2014). Altered brain-gut axis in autism: comorbidity or causative mechanisms? *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, *36*(10), 933–939. <https://doi.org/10.1002/bies.201400075>
- Mayer, E. a. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nature Reviews. Neuroscience*, *12*(8), 453–466. <https://doi.org/10.1038/nrn3071>
- McCarthy, H., Skokauskas, N., & Frodl, T. (2014). Identifying a consistent pattern of neural function in attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychol Med*, *44*(4), 869–880. <https://doi.org/10.1017/S0033291713001037>
- McCracken, J. T. (1991). A two-part model of stimulant action on attention-deficit hyperactivity disorder in children. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, *3*(2), 201–209. <https://doi.org/10.1176/jnp.3.2.201>
- McCrae, R. R. (1991). The five-factor model and its assessment in clinical settings. *Journal of Personality Assessment*, *57*(3), 314–399. https://doi.org/10.1207/s15327752jpa5703_2
- McFall-Ngai, M. (2008). Host-microbe symbiosis: the squid-Vibrio association--a naturally occurring, experimental model of animal/bacterial partnerships. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *635*, 102–112. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09550-9_9
- Meija, J., Coplen, T. B., Berglund, M., Brand, W. A., De Bièvre, P., Gröning, M., ... Prohaska, T. (2016). Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, *88*(3), 265–291. <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0305>
- Meinzer, M. C., Pettit, J. W., & Viswesvaran, C. (2014). The co-occurrence of attention-deficit/hyperactivity disorder and unipolar depression in children and adolescents: A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, *34*(8), 595–607. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2014.10.002>
- Melamed, I., & Heffron, M. (2016). Attention Deficit Disorder and Allergic Rhinitis: Are They Related? *Journal of Immunology Research*, *2016*, 1596828. <https://doi.org/10.1155/2016/1596828>
- Melby-Lervåg, M., & Hulme, C. (2013). Is working memory training effective? A meta-analytic review. *Developmental Psychology*, *49*(2), 270–291. <https://doi.org/10.1037/a0028228>

- Mendeley Ltd. (2016). Mendeley desktop [Computer program] Version 1.17.6. Mendeley Ltd.
- Meneghini, F., Vatta, F., Esposito, F., Mininel, S., & Di Salle, F. (2010). Comparison between realistic and spherical approaches in EEG forward modelling. *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*, *55*(3), 133–146. <https://doi.org/10.1515/bmt.2010.010>
- Menkes, M. M., Rowe, J. S., & Menkes, J. H. (1967). A twenty-five year follow-up study on the hyperkinetic child with minimal brain dysfunction. *Pediatrics*, *39*(3), 393–399.
- Mészáros, A., Czobor, P., Bálint, S., Komlósi, S., Simon, V., & Bitter, I. (2009). Pharmacotherapy of adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a meta-analysis. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, *12*(8), 1137–1147. <https://doi.org/10.1017/S1461145709990198>
- Meszaros, A., Czobor, P., Balint, S., Simon, V., & Bitter, I. (2007). [Pharmacotherapy of adult Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): a systematic review]. *Psychiatria Hungarica : A Magyar Pszichiatriai Tarsasag tudomanyos folyoirata*, *22*(4), 259–270.
- Metin, B., Roeyers, H., Wiersema, J. R., Van Der Meere, J., & Sonuga-Barke, E. (2012). A meta-analytic study of event rate effects on Go/No-Go performance in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, *72*(12), 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.08.023>
- Metin, B., Wiersema, J. R., Verguts, T., Gasthuys, R., van Der Meere, J. J., Roeyers, H., & Sonuga-Barke, E. (2016). Event rate and reaction time performance in ADHD: Testing predictions from the state regulation deficit hypothesis using an ex-Gaussian model. *Child Neuropsychology : A Journal on Normal and Abnormal Development in Childhood and Adolescence*, *22*(1), 99–109.
- Mezulis, A. H., Abramson, L. Y., Hyde, J. S., & Hankin, B. L. (2004). Is there a universal positivity bias in attributions? A meta-analytic review of individual, developmental, and cultural differences in the self-serving attributional bias. *Psychological Bulletin*, *130*(5), 711–747. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.5.711>
- Mick, E., Biederman, J., Pandina, G., & Faraone, S. V. (2003). A preliminary meta-analysis of the child behavior checklist in pediatric bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, *53*(11), 1021–1027. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(03\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(03)00234-8)
- Micoulaud-Franchi, J.-A. J.-A., Geoffroy, P. A., Fond, G., Lopez, R., Bioulac, S., & Philip, P. (2014). EEG neurofeedback treatments in children with ADHD: An updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Human Neuroscience*, *8*(November), 906. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00906>
- Miettinen, R., Hermansson, H., Merikukka, M., Gissler, M., & Isolauri, E. (2015, November).

- Mode of delivery--impact on risk of noncommunicable diseases. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. United States. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.05.032>
- Mihandoost, Z. (2015). Treatment Programs for Students With Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Meta-Analysis Study. *Iranian Journal of Psychiatry and Behavioral Sciences*, 9(3), e1840. <https://doi.org/10.17795/ijpbs-1840>
- Miller, A. H., Haroon, E., Raison, C. L., & Felger, J. C. (2013). Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depression and Anxiety*, 30(4), 297–306. <https://doi.org/10.1002/da.22084>
- Miller, R. D. (2015). *Miller's Anesthesia*. (R. D. Miller, Ed.) (8th editio). Philadelphia, USA: Elsevier.
- Miller, R. L., James-Kracke, M., Sun, G. Y., & Sun, A. Y. (2009). Oxidative and inflammatory pathways in Parkinson's disease. *Neurochemical Research*, 34(1), 55–65. <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9656-2>
- Miller, R. R., Uyaguari-Diaz, M., McCabe, M. N., Montoya, V., Gardy, J. L., Parker, S., ... Patrick, D. M. (2016). Metagenomic Investigation of Plasma in Individuals with ME/CFS Highlights the Importance of Technical Controls to Elucidate Contamination and Batch Effects. *PloS One*, 11(11), e0165691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165691>
- Miller, S., Wampold, B., & Varhely, K. (2008). Direct comparisons of treatment modalities for youth disorders: a meta-analysis. *Psychother Res*, 18(1), 5–14. <https://doi.org/10.1080/10503300701472131>
- Millon, T. (2004). *Masters of the Mind - Exploring the story of mental illness from ancient times to the new millennium*. John Wiley & Sons, Inc.
- Milte, C. M., Sinn, N., & Howe, P. R. C. (2009). Polyunsaturated fatty acid status in attention deficit hyperactivity disorder, depression, and Alzheimer's disease: Towards an omega-3 index for mental health? *Nutrition Reviews*, 67(10), 573–590. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00229.x>
- Mitchell, R. H. ., & Goldstein, B. I. (2014). Inflammation in Children and Adolescents with Neuropsychiatric Disorders: A Systematic Review. *Journal of The American College of Child & Adolescent Psychiatry*, 53(3), 274–296. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jaac.2013.11.013>
- Miyata, S. (2015). New aspects in fenestrated capillary and tissue dynamics in the sensory circumventricular organs of adult brains. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 390. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00390>
- Miyazaki, C., Koyama, M., Ota, E., Swa, T., Mlunde, L. B., Amiya, R. M., ... Mori, R. (2017).

- Allergic diseases in children with attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis. *BMC Psychiatry*, 17(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12888-017-1281-7>
- Mizrahi-Man, O., Davenport, E. R., & Gilad, Y. (2013). Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: evaluation of effective study designs. *PloS One*, 8(1), e53608. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053608>
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ... Stewart, L. A. (2015). Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis Protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>
- Mohr-Jensen, C., Steen-Jensen, T., Bang-Schnack, M., & Thingvad, H. (2015). What Do Primary and Secondary School Teachers Know About ADHD in Children? Findings From a Systematic Review and a Representative, Nationwide Sample of Danish Teachers. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715599206>
- Mohr-Jensen, C., & Steinhausen, H.-C. (2016). A meta-analysis and systematic review of the risks associated with childhood attention-deficit hyperactivity disorder on long-term outcome of arrests, convictions, and incarcerations. *Clinical Psychology Review*, 48, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2016.05.002>
- Mold, J. E., Michaelsson, J., Burt, T. D., Muench, M. O., Beckerman, K. P., Busch, M. P., ... McCune, J. M. (2008). Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science (New York, N.Y.)*, 322(5907), 1562–1565. <https://doi.org/10.1126/science.1164511>
- Monastero, R. N., & Pentyla, S. (2017). Cytokines as Biomarkers and Their Respective Clinical Cutoff Levels. *International Journal of Inflammation*, 2017, 4309485. <https://doi.org/10.1155/2017/4309485>
- Montori, V. M., Wilczynski, N. L., Morgan, D., & Haynes, R. B. (2005). Optimal search strategies for retrieving systematic reviews from Medline: analytical survey. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 330(7482), 68. <https://doi.org/10.1136/bmj.38336.804167.47>
- Montoya, A., Colom, F., & Ferrin, M. (2011). Is psychoeducation for parents and teachers of children and adolescents with ADHD efficacious? A systematic literature review. *European Psychiatry*, 26(3), 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2010.10.005>
- Moon, J.-H., & Lee, J.-H. (2016). Probing the diversity of healthy oral microbiome with bioinformatics approaches. *BMB Reports*, 49(12), 662–670.
- Moreira, D., & Lopez-Garcia, P. (2015). Evolution of viruses and cells: do we need a fourth domain of life to explain the origin of eukaryotes? *Philosophical Transactions of the Royal*

Society of London. Series B, Biological Sciences, 370(1678), 20140327.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0327>

Morgan, A. B., & Lilienfeld, S. O. (2000). A meta-analytic review of the relation between antisocial behavior and neuropsychological measures of executive function. *Clinical Psychology Review*, 20(1), 113–136. [https://doi.org/10.1016/S0272-7358\(98\)00096-8](https://doi.org/10.1016/S0272-7358(98)00096-8)

Morgan, D. L. (2018). Themes, Theories, and Models. *Qualitative Health Research*, 28(3), 339–345. <https://doi.org/10.1177/1049732317750127>

Morgan, X. C., Segata, N., & Huttenhower, C. (2013). Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in Genetics: TIG*, 29(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.09.005>

Moriyama, T. S., Polanczyk, G., Caye, A., Banaschewski, T., Brandeis, D., & Rohde, L. A. (2012). Evidence-Based Information on the Clinical Use of Neurofeedback for ADHD. *Neurotherapeutics*, 9(3), 588–598. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0136-7>

Moriyama, T. S., Polanczyk, G. V, Terzi, F. S., Faria, K. M., & Rohde, L. a. (2013). Psychopharmacology and psychotherapy for the treatment of adults with ADHD-a systematic review of available meta-analyses. *CNS Spectrums*, 18(6), 296–306. <https://doi.org/10.1017/S109285291300031X>

Morris, A., & Flores, S. C. (2017). Study of the Lung Microbiome. Have We Reached the End of the Beginning? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 195(1), 15–16. <https://doi.org/10.1164/rccm.201608-1635ED>

Morris, M. C. (2016). Nutrition and risk of dementia: overview and methodological issues. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1367(1), 31–37. <https://doi.org/10.1111/nyas.13047>

Morse, N. L. (2009). A meta-analysis of blood fatty acids in people with learning disorders with particular interest in arachidonic acid. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 81(5–6), 373–389. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2009.09.001>

Mosser, C.-A., Baptista, S., Arnoux, I., & Audinat, E. (2017). Microglia in CNS development: Shaping the brain for the future. *Progress in Neurobiology*, 149–150, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2017.01.002>

Mowinckel, A. M., Pedersen, M. L., Eilertsen, E., & Biele, G. (2015). A meta-analysis of decision-making and attention in adults with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 19(5), 355–367. <https://doi.org/10.1177/1087054714558872>

Mukherjee, A., Biswas, A., & Das, S. K. (2016). Gut dysfunction in Parkinson's disease. *World Journal of Gastroenterology*, 22(25), 5742–5752.

<https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i25.5742>

Mullane, J. C., Corkum, P. V., Klein, R. M., & McLaughlin, E. (2009). Interference Control in Children with and without ADHD: A Systematic Review of Flanker and Simon Task Performance. *Child Neuropsychology: A Journal on Normal and Abnormal Development in Childhood and Adolescence*, 15(4), 321–342. <https://doi.org/10.1080/09297040802348028>

Mullane, J. C., & Klein, R. M. (2008). Literature review: visual search by children with and without ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 12(1), 44–53. <https://doi.org/10.1177/1087054707305116>

Mulqueen, J. M., Bartley, C. A., & Bloch, M. H. (2015). Meta-analysis: parental interventions for preschool ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 19(2), 118–124. <https://doi.org/10.1177/1087054713504135>

Munn, Z., Stern, C., Aromataris, E., Lockwood, C., & Jordan, Z. (2018, January). What kind of systematic review should I conduct? A proposed typology and guidance for systematic reviewers in the medical and health sciences. *BMC Medical Research Methodology*. England. <https://doi.org/10.1186/s12874-017-0468-4>

Myles, I. A. (2014). Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutrition Journal*, 13, 61. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-61>

Nadal, A., Quesada, I., Tuduri, E., Nogueiras, R., & Alonso-Magdalena, P. (2017). Endocrine-disrupting chemicals and the regulation of energy balance. *Nature Reviews. Endocrinology*, 13(9), 536–546. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.51>

Nakao, T., Radua, J., Rubia, K., & Mataix-Cols, D. (2011). Gray matter volume abnormalities in ADHD: Voxel-based meta-analysis exploring the effects of age and stimulant medication. *American Journal of Psychiatry*, 168(11), 1154–1163. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11020281>

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (1988). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information.

Natural Resources Defense Council. (2017). Toxic Chemicals. Retrieved September 4, 2017, from <https://www.nrdc.org>

Navas-Molina, J. A., Peralta-Sanchez, J. M., Gonzalez, A., McMurdie, P. J., Vazquez-Baeza, Y., Xu, Z., ... Knight, R. (2013). Advancing our understanding of the human microbiome using QIIME. *Methods in Enzymology*, 531, 371–444. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407863-5.00019-8>

Nazni, P. (2014). Association of western diet & lifestyle with decreased fertility. *The Indian*

- Neale, B. M., Medland, S. E., Ripke, S., Asherson, P., Franke, B., Lesch, K.-P., ... Nelson, S. (2010). Meta-Analysis of Genome-Wide Association Studies of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 49(9), 884–897. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2010.06.008>
- Nemoda, Z., Szekely, A., & Sasvari-Szekely, M. (2011). Psychopathological aspects of dopaminergic gene polymorphisms in adolescence and young adulthood. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(8), 1665–1686. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.04.002>
- Neudecker, C., Mewes, N., Reimers, A. K., & Woll, A. (2015). Exercise Interventions in Children and Adolescents With ADHD: A Systematic Review. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715584053>
- Ni, X., Zhang, J. Y., Han, X., & Yin, D. (2015). [A Meta-analysis on Acupuncture Treatment of Attention Deficit/Hyperactivity Disorder]. *Zhen ci yan jiu = Acupuncture research / [Zhongguo yi xue ke xue yuan Yi xue qing bao yan jiu suo bian jii]*, 40(4), 319–325.
- Nicoll, R., Howard, J. M., & Henein, M. Y. (2015). A review of the effect of diet on cardiovascular calcification. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8861–8883. <https://doi.org/10.3390/ijms16048861>
- Nigg, J. T. (2010). Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Endophenotypes, Structure, and Etiological Pathways. *Current Directions in Psychological Science*, 19(1), 24–29. <https://doi.org/10.1177/0963721409359282>
- Nigg, J. T., & Casey, B. J. (2005). An integrative theory of attention-deficit/ hyperactivity disorder based on the cognitive and affective neurosciences. *Development and Psychopathology*, 17(3), 785–806. <https://doi.org/10.1017/S0954579405050376>
- Nigg, J. T., Johnstone, J., Musser, E. D., Long, H. G., Willoughby, M., & Shannon, J. (2015). Attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and overweight/obesity: New data and meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, 43, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2015.11.005>
- Nigg, J. T., Lewis, K., Edinger, T., & Falk, M. (2012). Meta-analysis of attention-deficit/hyperactivity disorder or attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms, restriction diet, and synthetic food color additives. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 51(1), 86–97.e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2011.10.015>
- Nijmeijer, J. S., Minderaa, R. B., Buitelaar, J. K., Mulligan, A., Hartman, C. A., & Hoekstra, P. J. (2008). Attention-deficit/hyperactivity disorder and social dysfunctioning. *Clinical*

Psychology Review, 28(4), 692–708. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2007.10.003>

Nikkelen, S. W. C., Valkenburg, P. M., Huizinga, M., & Bushman, B. J. (2014). Media use and ADHD-related behaviors in children and adolescents: A meta-analysis. *Developmental Psychology*, 50(9), 2228–2241. <https://doi.org/10.1037/a0037318>

Nikolaidis, A., & Gray, J. R. (2010). ADHD and the DRD4 exon III 7-repeat polymorphism: An international meta-analysis. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 5(2–3), 188–193. <https://doi.org/10.1093/scan/nsp049>

Nikolas, M. a, & Burt, S. A. (2010). Genetic and environmental influences on ADHD symptom dimensions of inattention and hyperactivity: a meta-analysis. *Journal of Abnormal Psychology*, 119(1), 1–17. <https://doi.org/10.1037/a0018010>

Noordermeer, S. D. S., Luman, M., & Oosterlaan, J. (2016). A Systematic Review and Meta-analysis of Neuroimaging in Oppositional Defiant Disorder (ODD) and Conduct Disorder (CD) Taking Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) Into Account. *Neuropsychology Review*. <https://doi.org/10.1007/s11065-015-9315-8>

Noreika, V., Falter, C. M., & Rubia, K. (2013). Timing deficits in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Evidence from neurocognitive and neuroimaging studies. *Neuropsychologia*, 51(2), 235–266. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2012.09.036>

Nymberg, C., Jia, T., Lubbe, S., Ruggeri, B., Desrivieres, S., Barker, G., ... Schumann, G. (2013). Neural mechanisms of attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms are stratified by MAOA genotype. *Biological Psychiatry*, 74(8), 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.027>

Oades, R. D., Myint, A.-M., Dauvermann, M. R., Schimmelmann, B. G., & Schwarz, M. J. (2010). Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and glial integrity: an exploration of associations of cytokines and kynurenine metabolites with symptoms and attention. *Behavioral and Brain Functions : BBF*, 6, 32. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-6-32>

Oades, R. D., Sadile, A. G., Sagvolden, T., Viggiano, D., Zuddas, A., Devoto, P., ... Russell, V. A. (2005). The control of responsiveness in ADHD by catecholamines: evidence for dopaminergic, noradrenergic and interactive roles. *Developmental Science*, 8(2), 122–131. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2005.00399.x>

Oak Ridge National Laboratory. (2017). Retrieved September 4, 2017, from <https://www.ornl.gov>

Ochman, H., Lerat, E., & Daubin, V. (2005). Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102 Suppl, 6595–6599.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0502035102>

- Odamaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Hashikura, N., Takahashi, S., Xiao, J.-Z., ... Osawa, R. (2016). Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiology*, *16*, 90. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0708-5>
- Oh, J., Byrd, A. L., Deming, C., Conlan, S., Kong, H. H., & Segre, J. A. (2014). Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*, *514*(7520), 59–64. <https://doi.org/10.1038/nature13786>
- Ojeda, P., Bobe, A., Dolan, K., Leone, V., & Martinez, K. (2016). Nutritional modulation of gut microbiota - the impact on metabolic disease pathophysiology. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *28*, 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.013>
- Oortmerssen, K. van Emmerik-van; Crunelle, C.L.; Carpentier, P. J. (2013). Substance use disorders and ADHD: an overview of recent Dutch research. *Tijdschrift voor psychiatrie*, *55*(11), 861–866.
- Oosterlaan, J., Logan, G. D., & Sergeant, J. A. (1998). Response inhibition in AD/HD, CD, comorbid AD/HD + CD, anxious, and control children: a meta-analysis of studies with the stop task. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, *39*(3), 411–425. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00336>
- Ortal, S., Geurt, G., Johan, F., Itai, B., Nir, Y., Iliyan, I., & Wim, B. (2015). The role of different aspects of impulsivity as independent risk factors for substance use disorders in patients with ADHD: A review. *Curr Drug Abuse Rev*. Bentham Science Publishers B.V.
- Owen, J., Punt, J., & Stranford, S. (2013). *Kuby Immunology*. (Macmillan Higher Education, Ed.) (Macmillan). Susan Winslow.
- Pabst, O., & Mowat, A. M. (2012). Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunology*, *5*(3), 232–239. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.4>
- Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A., & Brown, P. O. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biology*, *5*(7), e177. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>
- Paloyelis, Y., Mehta, M. A., Kuntsi, J., & Asherson, P. (2007). Functional MRI in ADHD: a systematic literature review. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *7*(10), 1337–1356. <https://doi.org/10.1586/14737175.7.10.1337>
- Pammi, M., O'Brien, J. L., Ajami, N. J., Wong, M. C., Versalovic, J., & Petrosino, J. F. (2017). Development of the cutaneous microbiome in the preterm infant: A prospective longitudinal study. *PloS One*, *12*(4), e0176669.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176669>

- Pan, Y. Q., Qiao, L., Xue, X. D., & Fu, J. H. (2015). Association between ANKK1 (rs1800497) polymorphism of DRD2 gene and attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis. *Neuroscience Letters*, *590*, 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.01.076>
- Pannaraj, P. S., Li, F., Cerini, C., Bender, J. M., Yang, S., Rollie, A., ... Aldrovandi, G. M. (2017). Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. *JAMA Pediatrics*, *171*(7), 647–654. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.0378>
- Pappa, I., Mileva-Seitz, V. R., Bakermans-Kranenburg, M. J., Tiemeier, H., & van IJzendoorn, M. H. (2015). The magnificent seven: A quantitative review of dopamine receptor d4 and its association with child behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *57*, 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.08.009>
- Parashar, A., & Udayabanu, M. (2017). Gut microbiota: Implications in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, *38*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.02.002>
- Pardo, C. A., Vargas, D. L., & Zimmerman, A. W. (2005). Immunity, neuroglia and neuroinflammation in autism. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, *17*(6), 485–495. <https://doi.org/10.1080/02646830500381930>
- Park, J.-E., Seo, J.-E., Lee, J.-Y., & Kwon, H. (2015). Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicological Research*, *31*(3), 279–288. <https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.3.279>
- Park, S., Kim, B.-N., Kim, J.-W., Shin, M.-S., Yoo, H. J., & Cho, S.-C. (2014). Protective effect of breastfeeding with regard to children's behavioral and cognitive problems. *Nutrition Journal*, *13*(1), 111. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-111>
- Park, W. J., Park, S. J., & Hwang, S. D. (2015). [Effects of Cognitive Behavioral Therapy on Attention Deficit Hyperactivity Disorder among School-aged Children in Korea: A Meta-Analysis]. *Journal of Korean Academy of Nursing*, *45*(2), 169–182. <https://doi.org/10.4040/jkan.2015.45.2.169>
- Parker, J., Wales, G., Chalhoub, N., & Harpin, V. (2013). The long-term outcomes of interventions for the management of attention-deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: A systematic review of randomized controlled trials. *Psychology Research and Behavior Management*, *6*, 87–99. <https://doi.org/10.2147/PRBM.S49114>
- Parker, R. B., & Snyder, M. L. (1961). Interactions of the oral microbiota. I. A system for the defined study of mixed cultures. *Proc Soc Exp Biol Med*, *108*, 749–752. <https://doi.org/10.3181/00379727-108-27055>

- Passani, M. B., Bacciottini, L., Mannaioni, P. F., & Blandina, P. (2000). Central histaminergic system and cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *24*(1), 107–113.
- Patros, C. H. G., Alderson, R. M., Kasper, L. J., Tarle, S. J., Lea, S. E., & Hudec, K. L. (2016). Choice-impulsivity in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): A meta-analytic review. *Clinical Psychology Review*, *43*, 162–174. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2015.11.001>
- Paul, W. E. (2013). *Fundamental Immunology*. (W. E. Paul, Ed.). Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Paule, M. G., Rowland, A. S., Ferguson, S. A., Chelonis, J. J., Tannock, R., Swanson, J. M., & Castellanos, F. X. (2000). Attention deficit/hyperactivity disorder: Characteristics, interventions and models. *Neurotoxicology and Teratology*, *22*(5), 631–651. [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(00\)00095-7](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(00)00095-7)
- Pauli-Pott, U., & Becker, K. (2011). Neuropsychological basic deficits in preschoolers at risk for ADHD: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, *31*(4), 626–637. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2011.02.005>
- Pauli-Pott, U., & Becker, K. (2015). Time windows matter in ADHD-related developing neuropsychological basic deficits: A comprehensive review and meta-regression analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *55*, 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.04.011>
- Paulose, J. K., Wright, J. M., Patel, A. G., & Cassone, V. M. (2016). Human Gut Bacteria Are Sensitive to Melatonin and Express Endogenous Circadian Rhythmicity. *PloS One*, *11*(1), e0146643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146643>
- Pelham, W. E., & Fabiano, G. A. (2008). Evidence-Based Psychosocial Treatments for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. <https://doi.org/10.1080/15374410701818681>
- Pelsser, L. M. J., Buitelaar, J. K., & Savelkoul, H. F. J. (2009). ADHD as a (non) allergic hypersensitivity disorder: a hypothesis. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, *20*(2), 107–112. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3038.2008.00749.x>
- Pepper, J. W., & Herron, M. D. (2008). Does biology need an organism concept? *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *83*(4), 621–627. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00057.x>
- Perdan, K., Lipnik-Štangelj, M., & Kržan, M. (2009). The Impact of Astrocytes in the Clearance of Neurotransmitters by Uptake and Inactivation. *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes*, *9*, 211–235. [https://doi.org/10.1016/S1554-4516\(09\)09008-5](https://doi.org/10.1016/S1554-4516(09)09008-5)

- Perlov, E., Philipsen, A., Matthies, S., Drieling, T., Maier, S., Bubl, E., ... Tebartz Van Elst, L. (2009). Spectroscopic findings in attention-deficit/hyperactivity disorder: review and meta-analysis. *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 10(4 Pt 2), 355–365. <https://doi.org/10.1080/15622970802176032>
- Peshkova, I. O., Schaefer, G., & Koltsova, E. K. (2016). Atherosclerosis and aortic aneurysm - is inflammation a common denominator? *The FEBS Journal*, 283(9), 1636–1652. <https://doi.org/10.1111/febs.13634>
- Petersen, S. E., & Posner, M. I. (2012). The attention system of the human brain: 20 years after. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 73–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150525>
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Pfeffer-Gik, T., & Levine, A. (2014). Dietary clues to the pathogenesis of Crohn's disease. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, 32(4), 389–394. <https://doi.org/10.1159/000358143>
- Pham, A. V., & Riviere, A. (2015). Specific Learning Disorders and ADHD: Current Issues in Diagnosis Across Clinical and Educational Settings. *Current Psychiatry Reports*, 17(6), 38. <https://doi.org/10.1007/s11920-015-0584-y>
- Pistiner, M., Gold, D. R., Abdulkerim, H., Hoffman, E., & Celedon, J. C. (2008). Birth by cesarean section, allergic rhinitis, and allergic sensitization among children with a parental history of atopy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 122(2), 274–279. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.05.007>
- Pistollato, F., Cano, S. S., Elio, I. I., Vergara, M. M., Giampieri, F., Battino, M., ... Battino, M. (2016). Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutrition Reviews*, 74(10), 624–634. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw023>
- Platts-Mills, T. A. E. (2015). The allergy epidemics: 1870-2010. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 136(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.03.048>
- Plichta, M. M., & Scheres, A. (2014). Ventral-striatal responsiveness during reward anticipation in ADHD and its relation to trait impulsivity in the healthy population: A meta-analytic review of the fMRI literature. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 38, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.07.012>
- Pliszka, S. R. (2005). The neuropsychopharmacology of attention-deficit/hyperactivity disorder.

- Biological Psychiatry*, 57(11), 1385–1390. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.08.026>
- Pliszka, S. R., McCracken, J. T., & Maas, J. W. (1996). Catecholamines in attention-deficit hyperactivity disorder: current perspectives. *J.Am.Acad.Child Adolesc.Psychiatry*, 35(0890–8567 (Print)), 264–272. <https://doi.org/10.1097/00004583-199603000-00006>
- Polanczyk, G. B., Lima, S. De, Horta, B. L., Biederman, J., & Rohde, L. A. (2007). The Worldwide Prevalence of ADHD: A Systematic Review and Metaregression Analysis. *American Journal of Psychiatry*, 164(6), 942–948. <https://doi.org/10.1176/ajp.2007.164.6.942>
- Polanczyk, G., Bigarella, M. P., Hutz, M. H., & Rohde, L. A. (2010). Pharmacogenetic approach for a better drug treatment in children. *Current Pharmaceutical Design*, 16(22), 2462–73. <https://doi.org/BSP/CPD/E-Pub/000124> [pii]
- Polanczyk, G., & Jensen, P. (2008). Epidemiologic Considerations in Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Review and Update. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 17(2), 245–260. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2007.11.006>
- Polanczyk, G., Zeni, C., Genro, J. P., Roman, T., Hutz, M. H., & Rohde, L. A. (2005). Attention-deficit/hyperactivity disorder: advancing on pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*, 6(3), 225–34. <https://doi.org/10.1517/14622416.6.3.225>
- Polanczyk, G. V., Salum, G. A., Sugaya, L. S., Caye, A., & Rohde, L. A. (2015). Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 56(3), 345–365. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12381>
- Polanczyk, G. V., Willcutt, E. G., Salum, G. A., Kieling, C., & Rohde, L. A. (2014). ADHD prevalence estimates across three decades: An updated systematic review and meta-regression analysis. *International Journal of Epidemiology*, 43(2), 434–442. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt261>
- Polderman, T. J. C., Boomsma, D. I., Bartels, M., Verhulst, F. C., & Huizink, A. C. (2010). A systematic review of prospective studies on attention problems and academic achievement: Review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 122(4), 271–284. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2010.01568.x>
- Poole, P. S., & Tan, S. Y. (2013). Marie Curie (1867-1934): famed female face of science. *Singapore Medical Journal*, 54(3), 129–130.
- Poppitt, S. D. (2015). Beverage Consumption: Are Alcoholic and Sugary Drinks Tipping the Balance towards Overweight and Obesity? *Nutrients*, 7(8), 6700–6718. <https://doi.org/10.3390/nu7085304>

- Porterfield, W. (1993). Inorganic Chemistry, A Unified Approach. In *Inorganic Chemistry* (Academy Pr, pp. 3–60). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-562980-5.50005-1>
- Posadzki, P., Lee, M. S., & Ernst, E. (2013). Osteopathic manipulative treatment for pediatric conditions: a systematic review. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3959>
- Posner, J., Park, C., & Wang, Z. (2014). Connecting the dots: A review of resting connectivity MRI studies in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychology Review*, 24(1), 3–15. <https://doi.org/10.1007/s11065-014-9251-z>
- Posner, M., & Petersen, S. E. (1990). The Attention System of the Human Brain. *Annual Review of Neuroscience*, 13(1), 25–42. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.13.1.25>
- Poulin, R. (2013). Parasite manipulation of host personality and behavioural syndromes. *The Journal of Experimental Biology*, 216(Pt 1), 18–26. <https://doi.org/10.1242/jeb.073353>
- Priberam Informática, S. . (2017). Dicionário Priberam da Língua Portuguesa.
- Proctor, L. M. (2011). The Human Microbiome Project in 2011 and beyond. *Cell Host & Microbe*, 10(4), 287–291. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.001>
- Pubic Broadcasting Service. (2016). It could take centuries for EPA to test all the unregulated chemicals under a new landmark bill. Retrieved September 4, 2017, from <http://www.pbs.org/newshour/updates/it-could-take-centuries-for-epa-to-test-all-the-unregulated-chemicals-under-a-new-landmark-bill/>
- PubMed. (2008). MetaHit - Human Intestinal Tract Metagenomes. Retrieved March 11, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=32811>
- PubMed. (2010). NIH Human Microbiome Project (HMP) Roadmap Project. Retrieved March 11, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/43021>
- PubMed. (2014). Mesh Microbiota. Retrieved March 11, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68064307>
- PubMed. (2017a). Mesh Anti-Infective Agents. Retrieved August 27, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68000890>
- PubMed. (2017b). Mesh Western Diet. Retrieved September 7, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68066273>
- Purdie, N., Hattie, J., & Carroll, A. (2002). A Review of the Research on Interventions for Attention Deficit Hyperactivity Disorder: What Works Best? *Review of Educational Research*, 72(1), 61–99. <https://doi.org/10.2307/3516074>

- Puri, B. K., & Martins, J. G. (2014). Which polyunsaturated fatty acids are active in children with attention-deficit hyperactivity disorder receiving PUFA supplementation? A fatty acid validated meta-regression analysis of randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *90*(5), 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.01.004>
- Purper-Ouakil, D., Wohl, M., Mouren, M. C., Verpillat, P., Adès, J., & Gorwood, P. (2005). Meta-analysis of family-based association studies between the dopamine transporter gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatric Genetics*, *15*(1), 53–9. <https://doi.org/10.1097/00041444-200503000-00009>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A.-S., & White, L. E. (2012). *Neuroscience* (5th ed.). Sunderland, USA: Sinauer Associates, Inc.
- Pyndt Jorgensen, B., Hansen, J. T., Krych, L., Larsen, C., Klein, A. B., Nielsen, D. S., ... Sorensen, D. B. (2014). A possible link between food and mood: dietary impact on gut microbiota and behavior in BALB/c mice. *PLoS One*, *9*(8), e103398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103398>
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., ... Wang, J. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, *464*(7285), 59–65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
- Quay, H. C. (1965). Psychopathic Personality As Pathological Stimulation-Seeking. *The American Journal of Psychiatry*, *122*, 180–183. <https://doi.org/10.1176/ajp.122.2.180>
- Quay, H. C. (1997). Inhibition and attention deficit hyperactivity disorder. *Journal of Abnormal Child Psychology*, *25*(1), 7–13.
- Queller, D. C., & Strassmann, J. E. (2009). Beyond society: the evolution of organismality. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *364*(1533), 3143–3155. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0095>
- Quin, C. E. (1997). The ideas of Thomas Kuhn in relation to medical advances in the sixteenth and seventeenth centuries. *Journal of the Royal Society of Medicine*, *90*(4), 225–228.
- Quitkin, F., & Klein, D. F. (1969). Two behavioral syndromes in young adults related to possible minimal brain dysfunction. *Journal of Psychiatric Research*, *7*(2), 131–142.
- Racicka, E. (2013). [Correlations between attention deficit hyperactivity disorder and obesity - a systematic review of the literature]. *Psychiatr Pol*, *47*(1), 89–102.
- Radua, J. (2015). AES-SDM tutorial. Retrieved from <https://www.sdmproject.com>
- Rajeh, A., Amanullah, S., Shivakumar, K., & Cole, J. (2017). Interventions in ADHD: A

- comparative review of stimulant medications and behavioral therapies. *Asian Journal of Psychiatry*, 25, 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2016.09.005>
- Rajilic-Stojanovic, M., & de Vos, W. M. (2014). The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(5), 996–1047. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12075>
- Ramos-Quiroga, J. J. A., Vidal-Estrada, R., Bosch-Munso, R., Nogueira-Morais, M., Casas-Brugue, M., & Ramos-Quiroga, J. J. A. (2012). Psychological treatment of attention deficit hyperactivity disorder in adults: a systematic review. *Actas Esp Psiquiatr*, 40(3), 147–154.
- Raoult, D. (2013). TRUC or the need for a new microbial classification. *Intervirology*, 56(6), 349–353. <https://doi.org/10.1159/000354269>
- Rapoport, J. L., Castellanos, F. X., Gogate, N., Janson, K., Kohler, S., & Nelson, P. (2001). Imaging normal and abnormal brain development: new perspectives for child psychiatry. *The Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 35(3), 272–281. [https://doi.org/10.1016/S1566-2772\(01\)00014-7](https://doi.org/10.1016/S1566-2772(01)00014-7)
- Rappoport, M. D., Alderson, R. M., Kofler, M. J., Sarver, D. E., Bolden, J., & Sims, V. (2008). Working memory deficits in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): the contribution of central executive and subsystem processes. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 36(6), 825–837. <https://doi.org/10.1007/s10802-008-9215-y>
- Rappoport, M. D., Chung, K. M., Shore, G., & Isaacs, P. (2001). A conceptual model of child psychopathology: implications for understanding attention deficit hyperactivity disorder and treatment efficacy. *Journal of Clinical Child Psychology*, 30(1), 48–58. https://doi.org/10.1207/S15374424JCCP3001_6
- Rappoport, M. D., Orban, S. A., Kofler, M. J., & Friedman, L. M. (2013). Do programs designed to train working memory, other executive functions, and attention benefit children with ADHD? A meta-analytic review of cognitive, academic, and behavioral outcomes. *Clinical Psychology Review*, 33(8), 1237–1252. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.08.005>
- Rash, J. A., & Aguirre-Camacho, A. (2012). Attention-deficit hyperactivity disorder and cardiac vagal control: a systematic review. *Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 4(4), 167–177. <https://doi.org/10.1007/s12402-012-0087-1>
- Rautava, S., Luoto, R., Salminen, S., & Isolauri, E. (2012). Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 9(10), 565–576. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.144>
- Ravel, J., Gajer, P., Abdo, Z., Schneider, G. M., Koenig, S. S. K., McCulle, S. L., ... Forney, L. J. (2011). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl, 4680–4687.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>

- Raz, R., & Gabis, L. (2009). Essential fatty acids and attention-deficit-hyperactivity disorder: A systematic review. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 51(8), 580–592. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2009.03351.x>
- Realo, A., Koido, K., Ceulemans, E., & Allik, J. (2002). Three Components of Individualism. *European Journal of Personality*, 16(3), 163–184. <https://doi.org/10.1002/per.437>
- Reardon, S. (2014, November). Gut-brain link grabs neuroscientists. *Nature*. England. <https://doi.org/10.1038/515175a>
- Reddy, B. L., & Saier, M. H. (2015). Autism and our intestinal microbiota. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. Switzerland. <https://doi.org/10.1159/000375303>
- Reitz, C., Brayne, C., & Mayeux, R. (2011). Epidemiology of Alzheimer disease. *Nature Reviews. Neurology*, 7(3), 137–152. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2011.2>
- Richardson, M., Moore, D. A., Gwernan-Jones, R., Thompson-Coon, J., Ukoumunne, O., Rogers, M., ... Ford, T. J. (2015). Non-pharmacological interventions for attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) delivered in school settings: systematic reviews of quantitative and qualitative research. *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, 19(45), 1–470. <https://doi.org/10.3310/hta19450>
- Riken Nishina Center. (2017). Retrieved September 4, 2017, from <http://www.rarf.riken.go.jp/Eng/index.html>
- Rimestad, M. L., Lambek, R., Zacher Christiansen, H., & Hougaard, E. (2016). Short- and Long-Term Effects of Parent Training for Preschool Children With or at Risk of ADHD: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054716648775>
- Ring, J. (2014). History of allergy in antiquity. *Chemical Immunology and Allergy*, 100, 2–14. <https://doi.org/10.1159/000358422>
- Ritson-Williams, R., Yotsu-Yamashita, M., & Paul, V. J. (2006). Ecological functions of tetrodotoxin in a deadly polyclad flatworm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(9), 3176–3179. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506093103>
- Rivero, T. S., Herrera Nunez, L. M., Pires, E. U., & Amodeo Bueno, O. F. (2016). Corrigendum: ADHD Rehabilitation through Video Gaming: A Systematic Review Using PRISMA Guidelines of the Current Findings and the Associated Risk of Bias. *Frontiers in Psychiatry*. Switzerland. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2016.00173>

- Rivero, T. S., Nuñez, L. M. H., Pires, E. U., & Bueno, O. F. A. (2015). ADHD rehabilitation through video gaming: A systematic review using PRISMA guidelines of the current findings and the associated risk of bias. *Frontiers in Psychiatry*, 6(OCT), 151. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2015.00151>
- Robinson, K. E., Kaizar, E., Catroppa, C., Godfrey, C., & Yeates, K. O. (2014). Systematic review and meta-analysis of cognitive interventions for children with central nervous system disorders and neurodevelopmental disorders. *Journal of Pediatric Psychology*, 39(8), 846–865. <https://doi.org/10.1093/jpepsy/jsu031>
- Robles-Alonso, V., & Guarner, F. (2014). From basic to applied research: lessons from the human microbiome projects. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 48 Suppl 1, S3-4. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000242>
- Rodríguez-Barranco, M., Lacasaña, M., Aguilar-Garduño, C., Alguacil, J., Gil, F., González-Alzaga, B., & Rojas-García, A. (2013). Association of arsenic, cadmium and manganese exposure with neurodevelopment and behavioural disorders in children: A systematic review and meta-analysis. *Science of the Total Environment*, 454–455, 562–577. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.047>
- Rodríguez-Monforte, M., Sanchez, E., Barrio, F., Costa, B., & Flores-Mateo, G. (2017). Metabolic syndrome and dietary patterns: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 925–947. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1305-y>
- Rogers, J. C., & Brito, S. A. De. (2015). Cortical and Subcortical Gray Matter Volume in Youths With Conduct Problems A Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, i, 1–9. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.2423>
- Rohde, L. A., Zeni, C., Polanczyk, G., & Hutz, M. H. (2004). New insights on attention-deficit/hyperactivity disorder pharmacogenomics. *Drug Development Research*, 62(3), 172–179. <https://doi.org/10.1002/ddr.10380>
- Rommelse, N. N. J., Altink, M. E., Arias-Vásquez, A., Buschgens, C. J. M., Fliers, E., Faraone, S. V., ... Oosterlaan, J. (2008). A review and analysis of the relationship between neuropsychological measures and DAT1 in ADHD. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 147(8), 1536–1546. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30848>
- Rommelse, N. N. J., Altink, M. E., Arias-Vasquez, A., Buschgens, C. J. M., Fliers, E., Faraone, S. V., ... Franke, B. (2008). Differential association between MAOA, ADHD and neuropsychological functioning in boys and girls. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 147B(8), 1524–1530. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30845>

- Rommelse, N. N. J., Geurts, H. M., Franke, B., Buitelaar, J. K., & Hartman, C. A. (2011). A review on cognitive and brain endophenotypes that may be common in autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder and facilitate the search for pleiotropic genes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *35*(6), 1363–1396. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.02.015>
- Rook, G. A. (2013). Regulation of the immune system by biodiversity from the natural environment: an ecosystem service essential to health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(46), 18360–18367. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313731110>
- Rook, G. A. W., & Lowry, C. A. (2008). The hygiene hypothesis and psychiatric disorders. *Trends in Immunology*, *29*(4), 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.01.002>
- Rook, G. A. W., Raison, C. L., & Lowry, C. A. (2014). Microbiota, immunoregulatory old friends and psychiatric disorders. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *817*, 319–356. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_15
- Rosato, A., Valasatava, Y., & Andreini, C. (2016). Minimal Functional Sites in Metalloproteins and Their Usage in Structural Bioinformatics. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(5). <https://doi.org/10.3390/ijms17050671>
- Rosello-Miranda, B., Berenguer-Forner, C., Baixauli-Fortea, I., & Miranda-Casas, A. (2016). [Integrating model of the social adaptation of children with attention deficit hyperactivity disorder]. *Revista de neurologia*, *62 Suppl 1*, S85-91.
- Rosenfeld, C. S. (2015). Microbiome Disturbances and Autism Spectrum Disorders. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, *43*(10), 1557–1571. <https://doi.org/10.1124/dmd.115.063826>
- Rosindell, J., Hubbell, S. P., & Etienne, R. S. (2011). The unified neutral theory of biodiversity and biogeography at age ten. *Trends in Ecology & Evolution*, *26*(7), 340–348. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.024>
- Rostain, A. L. (1991). Attention deficit disorders in children and adolescents. *Pediatric Clinics of North America*, *38*(3), 607–635.
- Rostain, A. L. (2008). Attention-deficit/hyperactivity disorder in adults: evidence-based recommendations for management. *Postgraduate Medicine*, *120*(3), 27–38. <https://doi.org/10.3810/pgm.2008.09.1905>
- Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., & Kujirai, T. (2009). Short latency intracortical inhibition: one of the most popular tools in human motor neurophysiology. *The Journal of Physiology*, *587*(1), 11–12. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.162461>

- Royal Society of Chemistry. (2017). Oganesson. Retrieved from <http://www.rsc.org/periodic-table/element/118/oganesson>
- Royal Society of Chemistry. (2017b). Plutonium. Retrieved September 5, 2017, from <http://www.rsc.org/periodic-table/element/94/plutonium>
- Rubenstein, J. L., Johnston, K., Elliott, G. R., & Brusilow, S. W. (1990). Haloperidol-induced hyperammonaemia in a child with citrullinaemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *13*(5), 754–755.
- Rubia, K. (2002). The dynamic approach to neurodevelopmental psychiatric disorders: Use of fMRI combined with neuropsychology to elucidate the dynamics of psychiatric disorders, exemplified in ADHD and schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, *130*(1–2), 47–56. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00437-5](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00437-5)
- Rubia, K. (2011). “Cool” inferior frontostriatal dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder versus “hot” ventromedial orbitofrontal-limbic dysfunction in conduct disorder: A review. *Biological Psychiatry*, *69*(12), e69–87. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.09.023>
- Rubia, K., Alegria, A. A., & Brinson, H. (2014a). Brain abnormalities in attention-deficit hyperactivity disorder: a review. *Rev Neurol*, *58*, S3–S18.
- Rubia, K., Alegria, A. A., Cubillo, A. I., Smith, A. B., Brammer, M. J., & Radua, J. (2014). Effects of stimulants on brain function in attention-deficit/hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis. *Biological Psychiatry*, *76*(8), 616–628. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.10.016>
- Rubia, K., Alegria, A., & Brinson, H. (2014b). Imaging the ADHD brain: disorder-specificity, medication effects and clinical translation. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *14*(5), 519–538. <https://doi.org/10.1586/14737175.2014.907526>
- Rubia, K., Halari, R., Christakou, A., & Taylor, E. (2009). Impulsiveness as a timing disturbance: neurocognitive abnormalities in attention-deficit hyperactivity disorder during temporal processes and normalization with methylphenidate. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *364*(1525), 1919–1931. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0014>
- Rubinstein, S., Malone, M. A., Roberts, W., & Logan, W. J. (2006). Placebo-controlled study examining effects of selegiline in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, *16*(4), 404–415. <https://doi.org/10.1089/cap.2006.16.404>
- Rudo-Hutt, A. S. (2015). Electroencephalography and externalizing behavior: A meta-analysis. *Biological Psychology*, *105*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.12.005>

- Russell, A. E., Ford, T., Williams, R., & Russell, G. (2015). The Association Between Socioeconomic Disadvantage and Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD): A Systematic Review. *Child Psychiatry and Human Development*. <https://doi.org/10.1007/s10578-015-0578-3>
- Russell, V. A., Oades, R. D., Tannock, R., Killeen, P. R., Auerbach, J. G., Johansen, E. B., & Sagvolden, T. (2006). Response variability in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: a neuronal and glial energetics hypothesis. *Behavioral and Brain Functions: BBF*, 2, 30. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-2-30>
- Russo, M. W. (2007). How to Review a Meta-analysis. *Gastroenterology & Hepatology*, 3(8), 637–42.
- Sackett, D. L. (1997). Evidence-based medicine. *Seminars in Perinatology*, 21(1), 3–5. [https://doi.org/10.1016/S0146-0005\(97\)80013-4](https://doi.org/10.1016/S0146-0005(97)80013-4)
- Sadeh, A., Pergamin, L., & Bar-Haim, Y. (2006). Sleep in children with attention-deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis of polysomnographic studies. *Sleep Medicine Reviews*, 10(6), 381–398. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2006.03.004>
- Saeed, Y., & Abbott, S. M. (2017). Circadian Disruption Associated with Alzheimer's Disease. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 17(4), 29. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0745-y>
- Sagvolden, T., Johansen, E. B., Aase, H., & Russell, V. A. (2005). A dynamic developmental theory of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) predominantly hyperactive/impulsive and combined subtypes. *The Behavioral and Brain Sciences*, 28(3), 368–397. <https://doi.org/10.1017/S0140525X05000075>
- Sakita, J. Y., Gasparotto, B., Garcia, S. B., Uyemura, S. A., & Kannen, V. (2017). A critical discussion on diet, genomic mutations and repair mechanisms in colon carcinogenesis. *Toxicology Letters*, 265, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.11.020>
- Saleem, S. N., & Hawass, Z. (2013). Variability in brain treatment during mummification of royal Egyptians dated to the 18th-20th dynasties: MDCT findings correlated with the archaeological literature. *AJR. American Journal of Roentgenology*, 200(4), W336-44. <https://doi.org/10.2214/AJR.12.9405>
- Salomao, R. P. A., Pedroso, J. L., Gama, M. T. D., Dutra, L. A., Maciel, R. H., Godeiro-Junior, C., ... Barsottini, O. G. P. (2016). A diagnostic approach for neurodegeneration with brain iron accumulation: clinical features, genetics and brain imaging. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 74(7), 587–596. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160080>
- Salter, S. J., Cox, M. J., Turek, E. M., Calus, S. T., Cookson, W. O., Moffatt, M. F., ... Walker, A. W. (2014). Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based

- microbiome analyses. *BMC Biology*, 12, 87. <https://doi.org/10.1186/s12915-014-0087-z>
- Samnani, S. S., Vaska, M., Ahmed, S., & Turin, T. C. (2017). Review Typology: The Basic Types of Reviews for Synthesizing Evidence for the Purpose of Knowledge Translation. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*, 27(10), 635–641. <https://doi.org/2724>
- Sampson, M., McGowan, J., Cogo, E., Grimshaw, J., Moher, D., & Lefebvre, C. (2009). An evidence-based practice guideline for the peer review of electronic search strategies. *Journal of Clinical Epidemiology*, 62(9), 944–952. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2008.10.012>
- Sampson, T. R., Debelius, J. W., Thron, T., Janssen, S., Shastri, G. G., Ilhan, Z. E., ... Mazmanian, S. K. (2016). Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*, 167(6), 1469–1480.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.018>
- Sánchez-Mora, C., Ribasés, M., Ramos-Quiroga, J. A., Casas, M., Bosch, R., Boreatti-Hümmer, A., ... Cormand, B. (2010). Meta-analysis of brain-derived neurotrophic factor p.Val66Met in adult ADHD in four European populations. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 153(2), 512–523. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31008>
- Sandau, U. S., Alderman, Z., Corfas, G., Ojeda, S. R., & Raber, J. (2012). Astrocyte-specific disruption of SynCAM1 signaling results in ADHD-like behavioral manifestations. *PLoS One*, 7(4), e36424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036424>
- Sandberg, J., & Alvensson, M. (2011). Ways of constructing research questions: gap-spotting or problematization? *Organization*, 18(1), 23–44. <https://doi.org/10.1177/1350508410372151>
- Sandberg, S. (2002). *Hyperactivity and attention disorders of childhood*. (S. Sandberg, Ed.) (Cambridge). Cambridge: Press Syndicate of the University of Cambridge.
- Sanders, A. F. (1983). Towards a model of stress and human performance. *Acta Psychologica*, 53(1), 61–97.
- Sandhu, K. V., Sherwin, E., Schellekens, H., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. *Translational Research : The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 179, 223–244. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.10.002>
- Santisteban, M. M., Kim, S., Pepine, C. J., & Raizada, M. K. (2016). Brain-Gut-Bone Marrow Axis: Implications for Hypertension and Related Therapeutics. *Circulation Research*, 118(8), 1327–1336. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.307709>

- Sarris, J., Kean, J., Schweitzer, I., & Lake, J. (2011). Complementary medicines (herbal and nutritional products) in the treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD): A systematic review of the evidence. *Complementary Therapies in Medicine*, 19(4), 216–227. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2011.06.007>
- Satone, H., Nonaka, S., Lee, J. M., Shimasaki, Y., Kusakabe, T., Kawabata, S.-I., & Oshima, Y. (2017). Tetrodotoxin- and tributyltin-binding abilities of recombinant pufferfish saxitoxin and tetrodotoxin binding proteins of Takifugu rubripes. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*, 125, 50–52. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.11.245>
- Satterfield, J. H., & Dawson, M. E. (1971). Electrodermal correlates of hyperactivity in children. *Psychophysiology*, 8(2), 191–197.
- Savill, N., & Bushe, C. J. (2012). A systematic review of the safety information contained within the Summaries of Product Characteristics of medications licensed in the United Kingdom for Attention Deficit Hyperactivity Disorder. how does the safety prescribing advice compare with national. *Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health*, 6(1), 2. <https://doi.org/10.1186/1753-2000-6-2>
- Scassellati, C., Bonvicini, C., Faraone, S. V., & Gennarelli, M. (2012). Biomarkers and attention-deficit/hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analyses. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 51(10), 1003–1019. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2012.08.015>
- Schab, D. W. (2004). Do Artificial Food Colors Promote Hyperactivity in Children with Hyperactive Syndromes? A Meta-Analysis of Double-Blind Placebo-Controlled Trials. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 25(6), 423–434. <https://doi.org/10.1097/00004703-200412000-00007>
- Schechter, M. S., & Section on Pediatric Pulmonology, S. on O. S. A. S. (2002). Technical Report: Diagnosis and Management of Childhood Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Pediatrics*, 109(4), e69-.
- Schecklmann, M., Schwenck, C., Taurines, R., Freitag, C., Warnke, A., Gerlach, M., & Romanos, M. (2013). A systematic review on olfaction in child and adolescent psychiatric disorders. *Journal of Neural Transmission*, 120(1), 121–130. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1007/s00702-012-0855-2>
- Scheperjans, F., Aho, V., Pereira, P. A. B., Koskinen, K., Paulin, L., Pekkonen, E., ... Auvinen, P. (2015). Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 30(3), 350–358. <https://doi.org/10.1002/mds.26069>

- Scheperjans, F., Pekkonen, E., Kaakkola, S., & Auvinen, P. (2015). Linking Smoking, Coffee, Urate, and Parkinson's Disease - A Role for Gut Microbiota? *Journal of Parkinson's Disease*, 5(2), 255–262. <https://doi.org/10.3233/JPD-150557>
- Schirmer, M., Smeekens, S. P., Vlamakis, H., Jaeger, M., Oosting, M., Franzosa, E. A., ... Xavier, R. J. (2016). Linking the Human Gut Microbiome to Inflammatory Cytokine Production Capacity. *Cell*, 167(4), 1125–1136.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.020>
- Schmitt, J., Buske-Kirschbaum, A., & Roessner, V. (2010). Is atopic disease a risk factor for attention-deficit/hyperactivity disorder? A systematic review. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 65(12), 1506–1524. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02449.x>
- Schulfer, A., & Blaser, M. J. (2015). Risks of Antibiotic Exposures Early in Life on the Developing Microbiome. *PLoS Pathogens*, 11(7), e1004903. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004903>
- Schunemann, H. J., Oxman, A. D., Higgins, J. P., Vist, G. E., Glasziou, P. P., & Guyatt, G. H. (2008). Presenting Results and “Summary of Findings” Tables. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions: Cochrane Book Series*, 335–357. <https://doi.org/10.1002/9780470712184.ch11>
- Schwartz, K., & Verhaeghen, P. (2008). ADHD and Stroop interference from age 9 to age 41 years: a meta-analysis of developmental effects. *Psychological Medicine*, 38(11), 1607–1616. <https://doi.org/10.1017/S003329170700267X>
- Schwedhelm, C., Boeing, H., Hoffmann, G., Aleksandrova, K., & Schwingshackl, L. (2016). Effect of diet on mortality and cancer recurrence among cancer survivors: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Nutrition Reviews*, 74(12), 737–748. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw045>
- Schweren, L. J. S., de Zeeuw, P., & Durston, S. (2013). MR imaging of the effects of methylphenidate on brain structure and function in Attention-Deficit / Hyperactivity Disorder. *European Neuropsychopharmacology*, 23(10), 1151–1164. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.10.014>
- Sciberras, E., Mulraney, M., Silva, D., & Coghill, D. (2017). Prenatal Risk Factors and the Etiology of ADHD-Review of Existing Evidence. *Current Psychiatry Reports*, 19(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s11920-017-0753-2>
- Science, J. M. E. C. for C. D. and C. (2012). Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Children and Adolescents. Rockville (MD).
- Scudellari, M. (2017). News Feature: Cleaning up the hygiene hypothesis. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America, 114(7), 1433–1436.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1700688114>

Sebastian, A., Jung, P., Krause-Utz, A., Lieb, K., Schmahl, C., & Tschacher, O. (2014). Frontal Dysfunctions of Impulse Control - A Systematic Review in Borderline Personality Disorder and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8, 698.
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00698>

Sedky, K., Bennett, D. S., & Carvalho, K. S. (2014). Attention deficit hyperactivity disorder and sleep disordered breathing in pediatric populations: A meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 18(4), 349–356. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2013.12.003>

SDM Project. (2016). Seed-based d Mapping [Computer program]. SDM Project.

Seidman, L. J., Valera, E. M., & Bush, G. (2004). Brain function and structure in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 27(2), 323–347. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2004.01.002>

Seidman, L. J., Valera, E. M., & Makris, N. (2005). Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1263–1272. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.019>

Seixas, M., Weiss, M., & Müller, U. (2012). Systematic review of national and international guidelines on attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 26(6), 753–65. <https://doi.org/10.1177/02698811111412095>

Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*, 14(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>

Sergeant, J. A. (2005). Modeling attention-deficit/hyperactivity disorder: a critical appraisal of the cognitive-energetic model. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1248–1255. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.09.010>

Serra-Pinheiro, M. A., Coutinho, E. S. F., Souza, I. S., Pinna, C., Fortes, D., Araújo, C., ... Mattos, P. (2013). Is ADHD a risk factor independent of conduct disorder for illicit substance use? A meta-analysis and metaregression investigation. *Journal of Attention Disorders*, 17(6), 459–469. <https://doi.org/10.1177/1087054711435362>

Sevelsted, A., Stokholm, J., Bonnelykke, K., & Bisgaard, H. (2015). Cesarean section and chronic immune disorders. *Pediatrics*, 135(1), e92-8. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-0596>

Seymour, K. E., Reinblatt, S. P., Benson, L., & Carnell, S. (2015). Overlapping neurobehavioral circuits in ADHD, obesity, and binge eating: evidence from neuroimaging research. *CNS*

Spectrums, 20(4), 401–411. <https://doi.org/10.1017/S1092852915000383>

- Shaddel, F., Ghazirad, M., & Bryant, M. (2014). What is the best available evidence for using homeopathy in patients with intellectual disabilities? *Iranian Journal of Pediatrics*, 24(4), 339–344.
- Shafquat, A., Joice, R., Simmons, S. L., & Huttenhower, C. (2014). Functional and phylogenetic assembly of microbial communities in the human microbiome. *Trends in Microbiology*, 22(5), 261–266. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.01.011>
- Shakersain, B., Santoni, G., Larsson, S. C., Faxen-Irving, G., Fastbom, J., Fratiglioni, L., & Xu, W. (2016). Prudent diet may attenuate the adverse effects of Western diet on cognitive decline. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 12(2), 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.08.002>
- Shannon, C. E., & Weaver, W. (1949). *The Mathematical Theory of Communication*. *The mathematical theory of communication*. The University of Illinois Press. <https://doi.org/10.2307/3611062>
- Sharma, A., & Couture, J. (2014). A Review of the Pathophysiology, Etiology, and Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). *Annals of Pharmacotherapy*, 48(2), 209–225. <https://doi.org/10.1177/1060028013510699>
- Sharon, G., Garg, N., Debelius, J., Knight, R., Dorrestein, P. C., & Mazmanian, S. K. (2014). Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metabolism*, 20(5), 719–730. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.016>
- Shaw, M., Hodgkins, P., Caci, H., Young, S., Kahle, J., Woods, A. G., & Arnold, L. E. (2012). A systematic review and analysis of long-term outcomes in attention deficit hyperactivity disorder: effects of treatment and non-treatment. *BMC Medicine*, 10(1), 99. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-99>
- Shaw, P., & Rabin, C. (2009). New insights into attention-deficit/hyperactivity disorder using structural neuroimaging. *Current Psychiatry Reports*, 11(5), 393–398. <https://doi.org/10.1007/s11920-009-0059-0>
- Shea, B., Boers, M., Grimshaw, J. M., Hamel, C., & Bouter, L. M. (2006). Does updating improve the methodological and reporting quality of systematic reviews? *BMC Medical Research Methodology*, 6(27), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-6-27>
- Shea, B. J., Grimshaw, J. M., Wells, G. a, Boers, M., Andersson, N., Hamel, C., ... Bouter, L. M. (2007). Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology*, 7, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-7-10>

- Shea, B. J., Hamel, C., Wells, G. A., Bouter, L. M., Kristjansson, E., Grimshaw, J., ... Boers, M. (2009). AMSTAR is a reliable and valid measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *Journal of Clinical Epidemiology*, *62*(10), 1013–1020. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2008.10.009>
- Shelley-Tremblay, J. F., & Rosen, L. A. (1996). Attention deficit hyperactivity disorder: an evolutionary perspective. *The Journal of Genetic Psychology*, *157*(4), 443–453. <https://doi.org/10.1080/00221325.1996.9914877>
- Shepherd, D. A., & Suddaby, R. (2016). Theory Building: A Review and Integration. *Journal of Management*, *43*(1), 59–86. <https://doi.org/10.1177/0149206316647102>
- Sherwin, E., Rea, K., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016). A gut (microbiome) feeling about the brain. *Current Opinion in Gastroenterology*, *32*(2), 96–102. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000244>
- Shiffrin, N. D., Gruber, J., Glatt, S. J., & Faraone, S. V. (2013). No association between MspI allele of the ADRA2A polymorphism and ADHD: meta-analysis of family-based studies. *Psychiatric Genetics*, *23*(4), 174–5. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3283631509>
- Shiner, R. L., Masten, A. S., & Tellegen, A. (2002). A developmental perspective on personality in emerging adulthood: childhood antecedents and concurrent adaptation. *Journal of Personality and Social Psychology*, *83*(5), 1165–1177.
- Shoostary, M. H., Chimeh, N., Najafi, M., Mohamadi, M. R., Yousefi-Nouraie, R., & Rahimi-Mvagher, A. (2010). The prevalence of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Iran: A systematic review. *Iranian Journal of Psychiatry*, *5*(3), 88–92.
- Shunsheng Han, C. (2016). A specific hygiene hypothesis. *Medical Hypotheses*, *93*, 146–149. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2016.05.029>
- Sibley, M. H., Kuriyan, A. B., Evans, S. W., Waxmonsky, J. G., & Smith, B. H. (2014). Pharmacological and psychosocial treatments for adolescents with ADHD: An updated systematic review of the literature. *Clinical Psychology Review*, *34*(3), 218–232. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2014.02.001>
- Sica, R. E., Caccuri, R., Quarracino, C., & Capani, F. (2016). Are astrocytes executive cells within the central nervous system? *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *74*(8), 671–678. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160101>
- Sigi Hale, T., Hariri, A. R., & McCracken, J. T. (2000). Attention-deficit/hyperactivity disorder: Perspectives from neuroimaging. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, *6*(3), 214–219. [https://doi.org/10.1002/1098-2779\(2000\)6:3<214::AID-MRDD9>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/1098-2779(2000)6:3<214::AID-MRDD9>3.0.CO;2-M)

- Simon, V., Czobor, P., Balint, S., Meszaros, A., & Bitter, I. (2009). Prevalence and correlates of adult Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: meta-analysis. *The British Journal of Psychiatry*, *194*(3), 204–211. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.107.048827>
- Simon, V., Czobor, P., Bálint, S., Mészáros, A., Murai, Z., & Bitter, I. (2007). [Detailed review of epidemiologic studies on adult Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD)]. *Psychiatria Hungarica : A Magyar Pszichiátriai Társaság tudományos folyóirata*, *22*(1), 4–19.
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, *163*(4148), 688–688. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Simpson, W. M. J., & Brock, C. D. (2003). Chemophobia, family medicine, and the doctor-patient relationship. *Journal of Agromedicine*. England. https://doi.org/10.1300/J096v09n01_02
- Skodzik, T., Holling, H., & Pedersen, A. (2013). Long-Term Memory Performance in Adult ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054713510561>
- Skypala, I., & Vlieg-Boerstra, B. (2014). Food intolerance and allergy: increased incidence or contemporary inadequate diets? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, *17*(5), 442–447. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000086>
- Sloan, S. A., & Barres, B. A. (2014). Mechanisms of astrocyte development and their contributions to neurodevelopmental disorders. *Current Opinion in Neurobiology*, *27*, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.03.005>
- Slon, V., Viola, B., Renaud, G., Gansauge, M.-T., Benazzi, S., Sawyer, S., ... Paabo, S. (2017). A fourth Denisovan individual. *Science Advances*, *3*(7), e1700186. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700186>
- Slykerman, R. F., Thompson, J., Waldie, K. E., Murphy, R., Wall, C., & Mitchell, E. A. (2017). Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, *106*(1), 87–94. <https://doi.org/10.1111/apa.13613>
- Smith, B. H., Waschbusch, D. A., Willoughby, M. T., & Evans, S. (2000). The efficacy, safety, and practicality of treatments for adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1023/A:1026477121224>
- 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. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *153*(6), 1189–1199. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31090>

- Smith, V., Devane, D., Begley, C. M., & Clarke, M. (2011). Methodology in conducting a systematic review of systematic reviews of healthcare interventions. *BMC Medical Research Methodology*, *11*(1), 15. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-11-15>
- Smith, V., Devane, D., Begley, C. M., Clarke, M., & Higgins, S. (2007). A systematic review and quality assessment of systematic reviews of fetal fibronectin and transvaginal length for predicting preterm birth. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2007.03.005>
- Smith, V., Devane, D., Begley, C. M., Clarke, M., & Higgins, S. (2009). A systematic review and quality assessment of systematic reviews of randomised trials of interventions for preventing and treating preterm birth. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2008.09.008>
- Snyder, S. M., & Hall, J. R. (2006). A meta-analysis of quantitative EEG power associated with attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Clinical Neurophysiology*, *23*(5), 440–55. <https://doi.org/10.1097/01.wnp.0000221363.12503.78>
- Socransky, S. S., Gibbons, R. J., Dale, A. C., Bortnick, L., Rosenthal, E., & Macdonald, J. B. (1963). The microbiota of the gingival crevice area of man. I. Total microscopic and viable counts and counts of specific organisms. *Archives of Oral Biology*, *8*(3), 275–280.
- Socransky, S. S., Gibbons, R. J., Dale, A. C., Bortnick, L., Rosenthal, E., Macdonald, J. B., ... Macdonald, J. B. (1963). The microbiota of the gingival crevice area of man. II. The predominant cultivable organisms. *Archives of Oral Biology*, *8*(3), 281–289. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969\(63\)90019-0](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969(63)90019-0)
- Solanto, M. V., Abikoff, H., Sonuga-Barke, E., Schachar, R., Logan, G. D., Wigal, T., ... Turkel, E. (2001). The ecological validity of delay aversion and response inhibition as measures of impulsivity in AD/HD: a supplement to the NIMH multimodal treatment study of AD/HD. *Journal of Abnormal Child Psychology*, *29*(3), 215–228.
- Soliva-Vila, J. C., & Vilarroya-Oliver, O. (2009). Structural magnetic resonance imaging findings as an aid to explain the neurobiology of attention deficit hyperactivity disorder: towards the identification of a neuroanatomical phenotype. *Revista de neurologia*, *48*(11), 592–598.
- Sonnack, M., & Brennenman, A. (2014). Treatment strategies for ADHD in preschool and school-age children. *JAAPA : Official Journal of the American Academy of Physician Assistants*, *27*(10), 22–26. <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000453859.08958.31>
- Sonuga-Barke, E., Bitsakou, P., & Thompson, M. (2010). Beyond the dual pathway model: evidence for the dissociation of timing, inhibitory, and delay-related impairments in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Academy of Child and*

Adolescent Psychiatry, 49(4), 345–355.

Sonuga-Barke, E., Brandeis, D., Holtmann, M., & Cortese, S. (2014). Computer-based Cognitive Training for ADHD. A Review of Current Evidence. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 23(4), 807–824. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2014.05.009>

Sonuga-Barke, E. J. S. (2002). Psychological heterogeneity in AD/HD - A dual pathway model of behaviour and cognition. *Behavioural Brain Research*, 130(1–2), 29–36. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00432-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00432-6)

Sonuga-Barke, E. J. S. (2003). The dual pathway model of AD/HD: An elaboration of neuro-developmental characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(7), 593–604. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.08.005>

Sonuga-Barke, E. J. S. (2005). Causal models of attention-deficit/hyperactivity disorder: from common simple deficits to multiple developmental pathways. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1231–1238. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.09.008>

Sonuga-Barke, E. J. S., Brandeis, D., Cortese, S., Daley, D., Ferrin, M., Holtmann, M., ... Zuddas, A. (2013). Nonpharmacological interventions for ADHD: Systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials of dietary and psychological treatments. *American Journal of Psychiatry*, 170(3), 275–289. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12070991>

Sonuga-Barke, E. J. S., & Castellanos, F. X. (2007). Spontaneous attentional fluctuations in impaired states and pathological conditions: a neurobiological hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 31(7), 977–986. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.02.005>

Sonuga-Barke, E. J. S., Sergeant, J. A., Nigg, J., & Willcutt, E. (2008). Executive dysfunction and delay aversion in attention deficit hyperactivity disorder: nosologic and diagnostic implications. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 17(2), 367–84, ix. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2007.11.008>

Sonuga-Barke, E. J. S., Wiersema, J. R., van der Meere, J. J., & Roeyers, H. (2010). Context-dependent dynamic processes in attention deficit/hyperactivity disorder: differentiating common and unique effects of state regulation deficits and delay aversion. *Neuropsychology Review*, 20(1), 86–102. <https://doi.org/10.1007/s11065-009-9115-0>

Sonuga-Barke, E. J., Taylor, E., Sembi, S., & Smith, J. (1992). Hyperactivity and delay aversion--I. The effect of delay on choice. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 33(2), 387–398.

Sousa, A. M. M., Meyer, K. A., Santpere, G., Gulden, F. O., & Sestan, N. (2017). Evolution of

- the Human Nervous System Function, Structure, and Development. *Cell*, 170(2), 226–247. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.036>
- Speer, F. (1958). The allergic tension-fatigue syndrome in children. *International Archives of Allergy and Immunology*, 12(3–4), 207–214. <https://doi.org/10.1159/000228455>
- Spencer-Smith, M., & Klingberg, T. (2015). Benefits of a working memory training program for inattention in daily life: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 10(3), e0119522. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119522>
- Spencer, A. E., Uchida, M., Kenworthy, T., Keary, C. J., & Biederman, J. (2014). Glutamatergic Dysregulation in Pediatric Psychiatric Disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 75(11), 1226–1241. <https://doi.org/10.4088/JCP.13r08767>
- Spencer, A., & Faraone, S. (2015). Examining the Association Between Posttraumatic Stress Disorder and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical ...* <https://doi.org/10.4088/JCP.14r09479>
- Spies, M., Knudsen, G. M., Lanzenberger, R., & Kasper, S. (2015). The serotonin transporter in psychiatric disorders: Insights from PET imaging. *The Lancet Psychiatry*, 2(8), 743–755. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(15\)00232-1](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(15)00232-1)
- Staller, J. A., & Faraone, S. V. (2007). Targeting the dopamine system in the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 7(4), 351–362. <https://doi.org/10.1586/14737175.7.4.351>
- Stanley, J. A., Kipp, H., Greisenegger, E., MacMaster, F. P., Panchalingam, K., Pettegrew, J. W., ... Bukstein, O. G. (2006). Regionally specific alterations in membrane phospholipids in children with ADHD: An in vivo 31P spectroscopy study. *Psychiatry Research*, 148(2–3), 217–21. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2006.08.003>
- Stavrou, S., Nicolaidis, N. C., Critselis, E., Darviri, C., Charmandari, E., & Chrousos, G. P. (2017). Paediatric stress: from neuroendocrinology to contemporary disorders. *European Journal of Clinical Investigation*, 47(3), 262–269. <https://doi.org/10.1111/eci.12724>
- Stawicki, J. A., Nigg, J. T., & von Eye, A. (2006). Family psychiatric history evidence on the nosological relations of DSM-IV ADHD combined and inattentive subtypes: New data and meta-analysis. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 47(9), 935–945. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2006.01628.x>
- Stearns, J. C., Zulyniak, M. A., de Souza, R. J., Campbell, N. C., Fontes, M., Shaikh, M., ... Anand, S. S. (2017). Ethnic and diet-related differences in the healthy infant microbiome. *Genome Medicine*, 9(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0421-5>
- Steffen, W. (2006, June). The Anthropocene, global change and sleeping giants: where on

Earth are we going? *Carbon Balance and Management*. England.
<https://doi.org/10.1186/1750-0680-1-3>

Steinhausen, H. C. (2009). The heterogeneity of causes and courses of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 120(5), 392–399.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2009.01446.x>

Stevenson, J., Buitelaar, J., Cortese, S., Ferrin, M., Konofal, E., Lecendreux, M., ... Sonuga-Barke, E. (2014). Research Review: The role of diet in the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder - an appraisal of the evidence on efficacy and recommendations on the design of future studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 55(5), 416–427. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12215>

Stevenson, J., Sonuga-Barke, E., McCann, D., Grimshaw, K., Parker, K. M., Rose-Zerilli, M. J., ... Warner, J. O. (2010). The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. *The American Journal of Psychiatry*, 167(9), 1108–1115.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09101529>

Storebø, O. J., Skoog, M., Damm, D., Thomsen, P. H., Simonsen, E., & Glud, C. (2011). Social skills training for Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in children aged 5 to 18 years. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12(12), CD008223.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD008223.pub2>

Storebø, O., Ramstad, E., Krogh, H. B. H., Nilausen, T. D. T., Skoog, M., Holmskov, M., ... Glud, C. (2015). Methylphenidate for children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11(11), CD009885. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009885.pub2>

Stotz, K., & Griffiths, P. (2016). Epigenetics: ambiguities and implications. *History and Philosophy of the Life Sciences*, 38(4), 22. <https://doi.org/10.1007/s40656-016-0121-2>

Strachan, D. P. (1989). Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 299(6710), 1259–1260.

Strassmann, J. E., & Queller, D. C. (2010). The social organism: congresses, parties, and committees. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 64(3), 605–616.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00929.x>

Strauss, A. A., & Lehtinen, L. E. (1947). *Psychopathology and Education of the Brain-Injured Child*. *Journal of the American Medical Association* (Grune & St). New York, USA: American Medical Association. <https://doi.org/10.1001/jama.1948.02900040070024>

Suchert, V., Hanewinkel, R., & Isensee, B. (2015). Sedentary behavior and indicators of mental health in school-aged children and adolescents: A systematic review. *Preventive*

Medicine, 76, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.ypped.2015.03.026>

- Sulzer, D., Alcalay, R. N., Garretti, F., Cote, L., Kanter, E., Agin-Liebes, J., ... Sette, A. (2017). T cells from patients with Parkinson's disease recognize alpha-synuclein peptides. *Nature*, 546(7660), 656–661. <https://doi.org/10.1038/nature22815>
- Sun, G.-X., Wang, B.-H., & Zhang, Y.-F. (2015). [Relationship between serum zinc levels and attention deficit hyperactivity disorder in children]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics*, 17(9), 980–983. <https://doi.org/10.7499/j.issn.1008-8830.2015.09.019>
- Sun, H., Yuan, F., Shen, X., Xiong, G., & Wu, J. (2014). Role of COMT in ADHD: A systematic meta-analysis. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 251–261. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8516-5>
- Sun, Y., Hu, D., Liang, J., Bao, Y.-P., Meng, S.-Q., Lu, L., & Shi, J. (2015). Association between variants of zinc finger genes and psychiatric disorders: systematic review and meta-analysis. *Schizophrenia Research*, 162(1–3), 124–37. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.01.036>
- Swanson, J., Castellanos, F. X., Murias, M., LaHoste, G., & Kennedy, J. (1998). Cognitive neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. *Current Opinion in Neurobiology*, 8(2), 263–271. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(98\)80150-5](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(98)80150-5)
- Swanson, J. M., Kinsbourne, M., Nigg, J., Lanphear, B., Stefanatos, G. A., Volkow, N., ... Wadhwa, P. D. (2007). Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: Brain imaging, molecular genetic and environmental factors and the dopamine hypothesis. *Neuropsychology Review*, 17(1), 39–59. <https://doi.org/10.1007/s11065-007-9019-9>
- Swanson, J. M., Sergeant, J. A., Taylor, E., Sonuga-Barke, E. J. S., Jensen, P. S., & Cantwell, D. P. (1998). Attention-deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. *Lancet*, 351(9100), 429–433. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)11450-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)11450-7)
- Szasz, T. S. (1974). *The Myth of Mental Illness* (Harper & R). Perennial Library.
- Szasz, T. S. (2003). *Pharmacracy: Medicine and Politics in America*. Syracuse University Press.
- Szczesniak, O., Hestad, K. A., Hanssen, J. F., & Rudi, K. (2016). Isovaleric acid in stool correlates with human depression. *Nutritional Neuroscience*, 19(7), 279–283. <https://doi.org/10.1179/1476830515Y.0000000007>
- Szuromi, B., Czobor, P., Komlósi, S., & Bitter, I. (2011). P300 deficits in adults with attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analysis. *Psychological Medicine*, 41(OCTOBER), 1529–1538. <https://doi.org/10.1017/S0033291710001996>

- Tackett, J. L. (2006). Evaluating models of the personality-psychopathology relationship in children and adolescents. *Clinical Psychology Review*, 26(5), 584–599. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2006.04.003>
- Takouda, J., Katada, S., & Nakashima, K. (2017). Emerging mechanisms underlying astrogenesis in the developing mammalian brain. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 93(6), 386–398. <https://doi.org/10.2183/pjab.93.024>
- Talge, N. M., Allswede, D. M., & Holzman, C. (2016). Gestational Age at Term, Delivery Circumstance, and Their Association with Childhood Attention Deficit Hyperactivity Disorder Symptoms. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 30(2), 171–180. <https://doi.org/10.1111/ppe.12274>
- Tan, L. N., Wei, H. Y., Zhang, Y. D., Lu, A. L., & Li, Y. (2011). [Relationship between serum ferritin levels and susceptibility to attention deficit hyperactivity disorder in children: a Meta analysis]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 13(9), 722–724.
- Tannock, R. (1998). Attention deficit hyperactivity disorder: advances in cognitive, neurobiological, and genetic research. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 39(1), 65–99. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00304>
- Tarver, J., Daley, D., Lockwood, J., & Sayal, K. (2014). Are self-directed parenting interventions sufficient for externalising behaviour problems in childhood? A systematic review and meta-analysis. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 23(12), 1123–1137. <https://doi.org/10.1007/s00787-014-0556-5>
- Taylor, M. A. (1999). Attention-deficit hyperactivity disorder on the frontlines: management in the primary care office. *Comprehensive Therapy*, 25(6–7), 313–325.
- Thagaard, M. S., Faraone, S. V., Sonuga-Barke, E. J., & Ostergaard, S. D. (2016). Empirical tests of natural selection-based evolutionary accounts of ADHD: a systematic review. *Acta Neuropsychiatrica*, 28(5), 249–256. <https://doi.org/10.1017/neu.2016.14>
- Thaler, K., Kaminski, A., Chapman, A., Langley, T., & Gartlehner, G. (2009). Bach Flower Remedies for psychological problems and pain: a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(1), 16. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-16>
- Thanner, S., Drissner, D., & Walsh, F. (2016). Antimicrobial Resistance in Agriculture. *MBio*, 7(2), e02227-15. <https://doi.org/10.1128/mBio.02227-15>
- Thavagnanam, S., Fleming, J., Bromley, A., Shields, M. D., & Cardwell, C. R. (2008). A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical*

Immunology, 38(4), 629–633. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x>

The Cochrane Collaboration. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0*. (J. P. Higgins & S. Green, Eds.).

The Cochrane Collaboration. (2014). Review Manager (RevMan) [Computer program] Version 5.3. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre.

The European Chemical Industry Council. (2016). *Facts and Figures of the European Chemical Industry 2016*.

The European Chemical Industry Council. (2017). *EU chemicals output growth : good start to the year 2017*.

The Joanna Briggs Institute. (2014). *Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2014 edition / Supplement*. The Joanna Briggs Institute.

Theule, J., Hurl, K. E., Cheung, K., Ward, M., & Henrikson, B. (2016). Exploring the Relationships Between Problem Gambling and ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715626512>

Thibaut, F. (2017, March). Neuroinflammation: new vistas for neuropsychiatric research. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. France.

Thomas, R., Sanders, S., Doust, J., Beller, E., & Glasziou, P. (2015). Prevalence of Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatrics*, 135(4), e994–e1001. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-3482>

Thonard, J. C., & Scherp, H. W. (1958). Inhibition of a collagenase by the human gingival microbiota. *Journal of Bacteriology*, 76(4), 355–358.

Todd, R. D., & Botteron, K. N. (2001). Is attention-deficit/hyperactivity disorder an energy deficiency syndrome? *Biological Psychiatry*, 50(3), 151–158.

Toga, A. W., Thompson, P. M., & Sowell, E. R. (2006). Mapping brain maturation. *Trends in Neurosciences*, 29(3), 148–159. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.01.007>

Tomova, A., Husarova, V., Lakatosova, S., Bakos, J., Vlkova, B., Babinska, K., & Ostatnikova, D. (2015). Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiology & Behavior*, 138, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.033>

Tonhajzerova, I., Farsky, I., Mestanik, M., Visnovcova, Z., Mestanikova, A., Hrtanek, I., & Ondrejka, I. (2016). Symbolic dynamics of heart rate variability - a promising tool to investigate cardiac sympathovagal control in attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD)? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 94(6), 579–587. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0375>

- Topliss, J. G., Clark, A. M., Ernst, E., Hufford, C. D., Johnston, G. A. R., Rimoldi, J. M., ... Sciences, H. (2002). Natural and synthetic substances related to human health (IUPAC Technical Report). *International Union of Pure and Applied Chemistry Chemistry: Chemistry and Human Health Division Natural*, 74(10), 1957–1985. <https://doi.org/10.1351/pac200274101957>,
- Towbin, A. (1971). Organic causes of minimal brain dysfunction. Perinatal origin of minimal cerebral lesions. *JAMA*, 217(9), 1207–1214.
- Tripp, G., & Wickens, J. R. (2008). Research review: dopamine transfer deficit: a neurobiological theory of altered reinforcement mechanisms in ADHD. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 49(7), 691–704. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2007.01851.x>
- Trujillo-Orrego, N., Ibáñez, A., & Pineda, D. A. (2012a). [Diagnostic validity of attention deficit/hyperactivity disorder: from phenomenology to neurobiology (I)]. *Revista de Neurologia*, 54(6), 367–379.
- Trujillo-Orrego, N., Ibáñez, A., & Pineda, D. A. (2012b). [Diagnostic validity of attention deficit/hyperactivity disorder: from phenomenology to neurobiology (II)]. *Revista de neurologia*, 54(6), 367–79.
- Tsetsos, F., Padmanabhuni, S. S., Alexander, J., Karagiannidis, I., Tsifintaris, M., Topaloudi, A., ... Paschou, P. (2016). Meta-analysis of Tourette Syndrome and Attention Deficit Hyperactivity Disorder provides support for a shared genetic basis. *Frontiers in Neuroscience Section Child and Adolescent Psychiatry*, 10, 340. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00340>
- Tubby, C., Negm, O. H., Harrison, T., Tighe, P. J., Todd, I., & Fairclough, L. C. (2017). Peripheral killer cells do not differentiate between asthma patients with or without fixed airway obstruction. *The Journal of Asthma : Official Journal of the Association for the Care of Asthma*, 54(5), 456–466. <https://doi.org/10.1080/02770903.2016.1236941>
- Tun, H. M., Konya, T., Takaro, T. K., Brook, J. R., Chari, R., Field, C. J., ... Kozyrskyj, A. L. (2017). Exposure to household furry pets influences the gut microbiota of infant at 3-4 months following various birth scenarios. *Microbiome*, 5(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0254-x>
- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunencko, T., Cantarel, B. L., Duncan, A., Ley, R. E., ... Gordon, J. I. (2009). A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457(7228), 480–484. <https://doi.org/10.1038/nature07540>
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., & Gordon, J. I. (2007). The human microbiome project. *Nature*, 449(7164), 804–810.

<https://doi.org/10.1038/nature06244>

- Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009). The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science Translational Medicine*, 1(6), 6ra14. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000322>
- Tye, C., McLoughlin, G., Kuntsi, J., & Asherson, P. (2011). Electrophysiological markers of genetic risk for attention deficit hyperactivity disorder. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13(March), e9. <https://doi.org/10.1017/S1462399411001797>
- U.S. Department of Health and Human Services. (2017). National Toxicology Program. Retrieved September 4, 2017, from <https://ntp.niehs.nih.gov/about/index.html>
- U.S. Federal Legislative Information. (2016). H.R.2576 - Frank R. Lautenberg Chemical Safety for the 21st Century Act.
- U.S. Food & Drug Administration. (2010). Overview of Food Ingredients, Additives & Colors. Retrieved September 10, 2017, from <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm094211.htm#types>
- Uglietti, C., Gabrielli, P., Cooke, C. A., Vallelonga, P., & Thompson, L. G. (2015). Widespread pollution of the South American atmosphere predates the industrial revolution by 240 y. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(8), 2349–2354. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421119112>
- Umetsu, D. T. (2012). Early exposure to germs and the Hygiene Hypothesis. *Cell Research*, 22(8), 1210–1211. <https://doi.org/10.1038/cr.2012.65>
- United States Environmental Protection Agency. (2017a). Chemistry Dashboard. Retrieved September 4, 2017, from <https://www.epa.gov/chemical-research/chemistry-dashboard>
- United States Environmental Protection Agency. (2017b). EPA Safer Chemicals Research Downloadable Computational Toxicology Data.
- University of Colorado Boulder, University of Colorado System, & University of California San Diego. (2017). Gut Check: Exploring Your Microbiome [Online course]. Retrieved from <https://www.coursera.org/learn/microbiome/home/welcome>
- Urigüen, J. A., & Garcia-Zapirain, B. (2015). EEG artifact removal-state-of-the-art and guidelines. *Journal of Neural Engineering*, 12(3), 31001. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/12/3/031001>
- Ursell, L. K., Metcalf, J. L., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). Defining the human microbiome.

- Nutrition Reviews*, 70 Suppl 1, S38-44. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x>
- Valera, E. M., Faraone, S. V., Murray, K. E., & Seidman, L. J. (2007). Meta-Analysis of Structural Imaging Findings in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biological Psychiatry*, 61(12), 1361–1369. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.06.011>
- Van der Oord, S., Prins, P. J. M., Oosterlaan, J., & Emmelkamp, P. M. G. (2008). Efficacy of methylphenidate, psychosocial treatments and their combination in school-aged children with ADHD: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*, 28(5), 783–800. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2007.10.007>
- van Emmerik-van Oortmerssen, K., van de Glind, G., van den Brink, W., Smit, F., Crunelle, C. L., Swets, M., & Schoevers, R. A. (2012). Prevalence of attention-deficit hyperactivity disorder in substance use disorder patients: A meta-analysis and meta-regression analysis. *Drug and Alcohol Dependence*, 122(1–2), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.12.007>
- van Ewijk, H., Heslenfeld, D. J., Zwiers, M. P., Buitelaar, J. K., & Oosterlaan, J. (2012). Diffusion tensor imaging in attention deficit/hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(4), 1093–1106. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.01.003>
- Van Lieshout, M., Luman, M., Buitelaar, J., Rommelse, N. N. J., & Oosterlaan, J. (2013). Does neurocognitive functioning predict future or persistence of ADHD? A systematic review. *Clinical Psychology Review*, 33(4), 539–560. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.02.003>
- Van Lieshout, R. J. (2013). Role of maternal adiposity prior to and during pregnancy in cognitive and psychiatric problems in offspring. *Nutrition Reviews*, 71(SUPPL1), S95–S101. <https://doi.org/10.1111/nure.12059>
- Van Lieshout, R. J., Taylor, V. H., & Boyle, M. H. (2011). Pre-pregnancy and pregnancy obesity and neurodevelopmental outcomes in offspring: A systematic review. *Obesity Reviews*, 12(501), e548–e559. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00850.x>
- van Mourik, R., Oosterlaan, J., & Sergeant, J. A. (2005). The Stroop revisited: A meta-analysis of interference control in AD/HD. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 46(2), 150–165. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2004.00345.x>
- van Nunen, S. A. (2018). Tick-induced allergies: mammalian meat allergy and tick anaphylaxis. *The Medical Journal of Australia*, 208(7), 316–321.
- Van Spaendonk, H., Ceuleers, H., Witters, L., Patteet, E., Joossens, J., Augustyns, K., ... De Winter, B. Y. (2017). Regulation of intestinal permeability: The role of proteases. *World Journal of Gastroenterology*, 23(12), 2106–2123. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i12.2106>

- Velő, S., Keresztény, Á., Szentiványi, D., & Balázs, J. (2013). [Quality of life of patients with attention-deficit/hyperactivity disorder: systematic review of the past 5 years]. *Neuropsychopharmacologia Hungarica : a Magyar Pszichofarmakológiai Egyesület lapja = official journal of the Hungarian Association of Psychopharmacology*, *15*(2), 73–82.
- Verbruggen, F., & Logan, G. D. (2008). Response inhibition in the stop-signal paradigm. *Trends in Cognitive Sciences*, *12*(11), 418–424. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2008.07.005>
- Vieira de Melo, B. B., Trigueiro, M. J., & Rodrigues, P. P. (2018). Systematic overview of neuroanatomical differences in ADHD: Definitive evidence. *Developmental Neuropsychology*, *43*(1), 52–68. <https://doi.org/10.1080/87565641.2017.1414821>
- Vizcarra, J. A., Wilson-Perez, H. E., & Espay, A. J. (2015, March). The power in numbers: gut microbiota in Parkinson's disease. *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*. United States. <https://doi.org/10.1002/mds.26116>
- Vlainic, J. V., Suran, J., Vlainic, T., & Vukorep, A. L. (2016). Probiotics as an Adjuvant Therapy in Major Depressive Disorder. *Current Neuropharmacology*, *14*(8), 952–958.
- Vollebregt, M. A., Van Dongen-Boomsma, M., Buitelaar, J. K., & Slaats-Willemse, D. (2014). Does EEG-neurofeedback improve neurocognitive functioning in children with attention-deficit/hyperactivity disorder? A systematic review and a double-blind placebo-controlled study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, *55*(5), 460–472. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12143>
- Volpe, J. J. (1997). Brain injury in the premature infant--from pathogenesis to prevention. *Brain & Development*, *19*(8), 519–534.
- Volynets, V., Louis, S., Pretz, D., Lang, L., Ostaff, M. J., Wehkamp, J., & Bischoff, S. C. (2017). Intestinal Barrier Function and the Gut Microbiome Are Differentially Affected in Mice Fed a Western-Style Diet or Drinking Water Supplemented with Fructose. *The Journal of Nutrition*, *147*(5), 770–780. <https://doi.org/10.3945/jn.116.242859>
- Von Sydow, K., Beher, S., Schweitzer-Rothers, J., & Retzlaff, R. (2006). Systemische familientherapie bei storungen des kindes- und jugendalters. Eine metainhaltsanalyse von 47 randomisierten primarstudien. *Psychotherapeut*, *51*(2), 107–143. <https://doi.org/10.1007/s00278-006-0480-3>
- Von Sydow, K., Retzlaff, R., Beher, S., Haun, M. W., & Schweitzer, J. (2013). The Efficacy of Systemic Therapy for Childhood and Adolescent Externalizing Disorders: A Systematic Review of 47 RCT. *Family Process*, *52*(4), 576–618. <https://doi.org/10.1111/famp.12047>
- Vossel, S., Geng, J. J., & Fink, G. R. (2014). Dorsal and ventral attention systems: distinct neural circuits but collaborative roles. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *20*(2), 150–159.

<https://doi.org/10.1177/1073858413494269>

- Vysniauske, R., Verburgh, L., Oosterlaan, J., & Molendijk, M. L. (2016). The Effects of Physical Exercise on Functional Outcomes in the Treatment of ADHD: A Meta-Analysis. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054715627489>
- Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
- Wadhwa, P. D. (2005). Psychoneuroendocrine processes in human pregnancy influence fetal development and health. *Psychoneuroendocrinology*, 30(8), 724–743. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.02.004>
- Walshaw, P. D., Alloy, L. B., & Sabb, F. W. (2010). Executive function in pediatric bipolar disorder and attention-deficit hyperactivity disorder: in search of distinct phenotypic profiles. *Neuropsychology Review*, 20(1), 103–20. <https://doi.org/10.1007/s11065-009-9126-x>
- Wang, D., Ho, L., Faith, J., Ono, K., Janle, E. M., Lachcik, P. J., ... Pasinetti, G. M. (2015). Role of intestinal microbiota in the generation of polyphenol-derived phenolic acid mediated attenuation of Alzheimer's disease beta-amyloid oligomerization. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(6), 1025–1040. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400544>
- Wang, E., Ding, Y.-C., Flodman, P., Kidd, J. R., Kidd, K. K., Grady, D. L., ... Moyzis, R. K. (2004). The genetic architecture of selection at the human dopamine receptor D4 (DRD4) gene locus. *American Journal of Human Genetics*, 74(5), 931–944. <https://doi.org/10.1086/420854>
- Wang, H.-X., & Wang, Y.-P. (2016). Gut Microbiota-brain Axis. *Chinese Medical Journal*, 129(19), 2373–2380. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>
- Wang, L., Conlon, M. A., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., & Angley, M. T. (2014). Gastrointestinal microbiota and metabolite biomarkers in children with autism spectrum disorders. *Biomarkers in Medicine*, 8(3), 331–344. <https://doi.org/10.2217/bmm.14.12>
- Wang, S., & Loreau, M. (2016). Biodiversity and ecosystem stability across scales in metacommunities. *Ecology Letters*, 19(5), 510–518. <https://doi.org/10.1111/ele.12582>
- Wang, Y., & Kasper, L. H. (2014). The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 38, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.12.015>
- Warinner, C., Speller, C., Collins, M. J., & Lewis, C. M. J. (2015). Ancient human microbiomes. *Journal of Human Evolution*, 79, 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2014.10.016>
- Waschbusch, D. a. (2002). A meta-analytic examination of comorbid hyperactive-impulsive-

- attention problems and conduct problems. *Psychological Bulletin*, 128(1), 118–150. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.128.1.118>
- Watkins, R. R., & Bonomo, R. A. (2016). Overview: Global and Local Impact of Antibiotic Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.001>
- Watson, S. M. R., Richels, C., Michalek, A. P., & Raymer, A. (2015). Psychosocial treatments for ADHD: a systematic appraisal of the evidence. *Journal of Attention Disorders*, 19(1), 3–10. <https://doi.org/10.1177/1087054712447857>
- Watson, N. V., & Breedlove, S. M. (2015). The Mind's Machine. Retrieved May 23, 2016, from <https://2e.mindsmachine.com>
- Weber, H., Kittel-Schneider, S., Heupel, J., Weißflog, L., Kent, L., Freudenberg, F., ... Reif, A. (2015). On the role of NOS1 ex1f-VNTR in ADHD-allelic, subgroup, and meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 168(6), 445–458. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32326>
- Weinberg, W. a, Emslie, G. J., & Warren, A. (1991). Attention deficit hyperactivity disorder: the differential diagnosis. *Journal of Child Neurology*, 6 Suppl, S23–S36. <https://doi.org/10.1177/0883073891006001041>
- Weiss, S., Amir, A., Hyde, E. R., Metcalf, J. L., Song, S. J., & Knight, R. (2014). Tracking down the sources of experimental contamination in microbiome studies. *Genome Biology*, 15(12), 564. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0564-2>
- Weiss, S. T., & Litonjua, A. A. (2015, March). Vitamin D, the gut microbiome, and the hygiene hypothesis. How does asthma begin? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. United States. <https://doi.org/10.1164/rccm.201501-0117ED>
- Weisz, J. R., Hawley, K. M., & Jensen Doss, A. (2004). Empirically tested psychotherapies for youth internalizing and externalizing problems and disorders. *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America*, 13(4), 729–815. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2004.05.006>
- Weisz, J. R., Kuppens, S., Ng, M. Y., Eckshtain, D., Ugueto, A. M., Vaughn-Coaxum, R., ... Fordwood, S. R. (2017). What five decades of research tells us about the effects of youth psychological therapy: A multilevel meta-analysis and implications for science and practice. *The American Psychologist*, 72(2), 79–117. <https://doi.org/10.1037/a0040360>
- Welcome to the Anthropocene. (2003, August). *Nature*. England. <https://doi.org/10.1038/424709b>
- West, M. L. (Ed.). (1971). *Iambi et Elegi Graeci Ante Alexandrum Cantati: Archilochus*,

Hipponax, Theognidea (Volume 1). New York, USA: Oxford University Press Inc.

- West, S. A., & Kiers, E. T. (2009). Evolution: what is an organism? *Current Biology : CB*, *19*(23), R1080-2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.10.048>
- Weston, B., Fogal, B., Cook, D., & Dhurjati, P. (2015). An agent-based modeling framework for evaluating hypotheses on risks for developing autism: effects of the gut microbial environment. *Medical Hypotheses*, *84*(4), 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.01.027>
- Weyandt, L., Swentosky, A., & Gudmundsdottir, B. G. (2013). Neuroimaging and ADHD: fMRI, PET, DTI findings, and methodological limitations. *Developmental Neuropsychology*, *38*(4), 211–25. <https://doi.org/10.1080/87565641.2013.783833>
- Whitford, T. J., Rennie, C. J., Grieve, S. M., Clark, C. R., Gordon, E., & Williams, L. M. (2007). Brain maturation in adolescence: concurrent changes in neuroanatomy and neurophysiology. *Human Brain Mapping*, *28*(3), 228–237. <https://doi.org/10.1002/hbm.20273>
- Whittaker, R. H. (1972). Evolution and Measurement of Species Diversity. *Taxon*, *21*(2/3), 213. <https://doi.org/10.2307/1218190>
- Wilczynski, N. L., & Haynes, R. B. (2007). EMBASE search strategies achieved high sensitivity and specificity for retrieving methodologically sound systematic reviews. *Journal of Clinical Epidemiology*, *60*(1), 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2006.04.001>
- Willcutt, E. G. (2012). The Prevalence of DSM-IV Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Meta-Analytic Review. *Neurotherapeutics*, *9*(3), 490–499. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0135-8>
- Willcutt, E. G., Doyle, A. E., Nigg, J. T., Faraone, S. V., & Pennington, B. F. (2005). Validity of the executive function theory of attention-deficit/hyperactivity disorder: a meta-analytic review. *Biological Psychiatry*, *57*(11), 1336–1346. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.02.006>
- Willcutt, E. G., Nigg, J. T., Pennington, B. F., Solanto, M. V, Rohde, L. a, Tannock, R., ... Lahey, B. B. (2012). Validity of DSM-IV attention deficit/hyperactivity disorder symptom dimensions and subtypes. *Journal of Abnormal Psychology*, *121*(4), 991–1010. <https://doi.org/10.1037/a0027347>
- Williams, C., Brunskill, S., Altman, D., Briggs, A., Campbell, H., Clarke, M., ... Lodge, M. (2006). Cost-effectiveness of using prognostic information to select women with breast cancer for adjuvant systemic therapy. *Health Technology Assessment*, *10*(34), 1–153. <https://doi.org/98-36-02> [pii]

- Williams, D. W. (1871). The Germ-Theory. *British Medical Journal*, 1(536), 368.
- Williams, P. A. (2005). Native Elements. *Encyclopedia of Geology*, 553–555. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B0-12-369396-9/00287-2>
- Williams, R. J., & Kalita, D. K. (2016). Treatment of learning disabilities. In Elsevier (Ed.), *A Physician's Handbook on Orthomolecular Medicine* (Revised Ed, p. 222).
- Williams, R. J. P. (2007). A system's view of the evolution of life. *Journal of the Royal Society, Interface*, 4(17), 1049–1070. <https://doi.org/10.1098/rsif.2007.0225>
- Willis, W. G., & Weiler, M. D. (2005). Neural Substrates of Childhood Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Electroencephalographic and Magnetic Resonance Imaging Evidence. *Developmental Neuropsychology*, 27(1), 135–182. https://doi.org/10.1207/s15326942dn2701_6
- Wilmes, P., Simmons, S. L., Deneff, V. J., & Banfield, J. F. (2009). The dynamic genetic repertoire of microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(1), 109–132. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00144.x>
- Wingo, A. P., & Ghaemi, S. N. (2007). A Systematic Review of Rates and Diagnostic Validity of Comorbid Adult Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Bipolar Disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 68(11), 1776–1784. <https://doi.org/10.4088/JCP.v68n1118>
- Wolraich, M. L. (1995). The Effect of Sugar on Behavior or Cognition in Children. *Jama*. <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03530200053037>
- Wong, Y. W., Kim, D. G., & Lee, J. Y. (2012). Traditional oriental herbal medicine for children and adolescents with ADHD: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 520198. <https://doi.org/10.1155/2012/520198>
- Wood, A. C., Buitelaar, J., Rijdsdijk, F., Asherson, P., & Kuntsi, J. (2010). Rethinking shared environment as a source of variance underlying attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms: Comment on Burt (2009). *Psychological Bulletin*, 136(3), 331–340. <https://doi.org/10.1037/a0019048>
- Woods, D., Wolraich, M., Pierce, K., Dimarco, L., Muller, N., & Sachdeva, R. (2014). Considerations and evidence for an ADHD outcome measure. *Academic Pediatrics*, 14(5 SUPPL.), S54–601. Woods D, Wolraich M, Pierce K, Dimarco L. <https://doi.org/10.1016/j.acap.2014.06.011>
- Worathumrong, N., & Grimes, A. J. (1975). The effect of o-salicylate upon pentose phosphate pathway activity in normal and G6PD-deficient red cells. *British Journal of Haematology*, 30(2), 225–31. <https://doi.org/10.2307/1943563>

- World Health Organization; United Nations Environment Programme. (2013). *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals - 2012*. World Health Organization.
- World Health Organization. (2016a). International Classification of Diseases ICD-10. Retrieved June 7, 2016, from <http://www.who.int/classifications/icd/en/>
- World Health Organization. (2016b). *International classification of functioning, disability and health: ICF* (Vol. 18). Geneva. <https://doi.org/10.1097/01.pep.0000245823.21888.71>
- World Health Organization. (2017a). Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs). Retrieved September 6, 2017, from <http://www.who.int/ceh/risks/cehemerging2/en/>
- World Health Organization. (2017b). WHO Disability Assessment Schedule 2.0 (WHODAS 2.0). Retrieved from <http://www.who.int/classifications/icf/whodasii/en/>
- Wu, E. Q., Hodgkins, P., Ben-Hamadi, R., Setyawan, J., Xie, J., Sikirica, V., ... Erder, M. H. (2012). Cost effectiveness of pharmacotherapies for attention-deficit hyperactivity disorder: A systematic literature review. *CNS Drugs*, 26(7), 581–600. <https://doi.org/10.2165/11633900-000000000-00000>
- Wu, J., Xiao, H., Sun, H., Zou, L., & Zhu, L. Q. (2012). Role of dopamine receptors in ADHD: A systematic meta-analysis. *Molecular Neurobiology*, 45(3), 605–620. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8278-5>
- Yamamoto-Hanada, K., Yang, L., Narita, M., Saito, H., & Ohya, Y. (2017). Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 119(1), 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2017.05.013>
- Yamamoto, K., E, S., Hatakeyama, Y., Sakamoto, Y., Honma, T., Jibu, Y., ... Tsuduki, T. (2016). The Japanese diet from 1975 delays senescence and prolongs life span in SAMP8 mice. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 32(1), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.07.002>
- Yang, B., Chan, R. C. K., Jing, J., Li, T., Sham, P., & Chen, R. Y. L. (2007). A meta-analysis of association studies between the 10-repeat allele of a VNTR polymorphism in the 3' UTR of dopamine transporter gene and attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 144(4), 541–550. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30453>
- Yang, J. Y., Karr, J. R., Watrous, J. D., & Dorrestein, P. C. (2011). Integrating '-omics' and natural product discovery platforms to investigate metabolic exchange in microbiomes. *Current Opinion in Chemical Biology*, 15(1), 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.10.025>

- Yang, I. V., Lozupone, C. A., & Schwartz, D. A. (2017). The environment, epigenome, and asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *140*(1), 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.011>
- Yannone, S. M., Hartung, S., Menon, A. L., Adams, M. W. W., & Tainer, J. A. (2012). Metals in biology: defining metalloproteomes. *Current Opinion in Biotechnology*, *23*(1), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.11.005>
- Ye, C., Hu, Z., Wu, E., Yang, X., Buford, U. J., Guo, Z., & Saveanu, R. V. (2016). Two SNAP-25 genetic variants in the binding site of multiple microRNAs and susceptibility of ADHD: A meta-analysis. *Journal of Psychiatric Research*, *81*, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.06.007>
- Yeargin-Allsopp, M., & Boyle, C. (2002). Overview: the epidemiology of neurodevelopmental disorders. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, *8*(3), 113–116. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10030>
- Yeo, B. T. T., Krienen, F. M., Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Lashkari, D., Hollinshead, M., ... Buckner, R. L. (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *Journal of Neurophysiology*, *106*(3), 1125–1165. <https://doi.org/10.1152/jn.00338.2011>
- Young, S., Sedgwick, O., Fridman, M., Gudjonsson, G., Hodgkins, P., Lantigua, M., ... Gonzalez, R. A. (2015). Co-morbid psychiatric disorders among incarcerated ADHD populations: a meta-analysis. *Psychological Medicine*, *45*(12), 2499–2510. <https://doi.org/10.1017/S0033291715000598>
- Young, V. B. (2016). Therapeutic manipulation of the microbiota: past, present, and considerations for the future. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *22*(11), 905–909. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.09.001>
- Young, Z., Moghaddam, N., & Tickle, A. (2016). The Efficacy of Cognitive Behavioral Therapy for Adults With ADHD: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Attention Disorders*. <https://doi.org/10.1177/1087054716664413>
- Yu, M., Jia, H., Zhou, C., Yang, Y., Zhao, Y., Yang, M., & Zou, Z. (2017). Variations in gut microbiota and fecal metabolic phenotype associated with depression by 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *138*, 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.02.008>
- Yu, Z., Gunn, L., Wall, P., & Fanning, S. (2017). Antimicrobial resistance and its association with tolerance to heavy metals in agriculture production. *Food Microbiology*, *64*, 23–32.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.009>

- Zacà, D., Agarwal, S., Gujar, S. K., Sair, H. I., & Pillai, J. J. (2014). Special Considerations/technical limitations of blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging. *Neuroimaging Clinics of North America*, *24*(4), 705–715. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2014.07.006>
- Zaganas, I., Kapetanaki, S., Mastorodemos, V., Kanavouras, K., Colosio, C., Wilks, M. F., & Tsatsakis, A. M. (2013). Linking pesticide exposure and dementia: what is the evidence? *Toxicology*, *307*, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.02.002>
- Zanolli, C., Hourset, M., Esclassan, R., & Mollereau, C. (2017). Neanderthal and Denisova tooth protein variants in present-day humans. *PLoS One*, *12*(9), e0183802. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183802>
- Zaso, M. J., Park, A., & Antshel, K. M. (2015). Treatments for Adolescents With Comorbid ADHD and Substance Use Disorder: A Systematic Review. *Journal of Attention Disorders*, *1087054715569280*-. <https://doi.org/10.1177/1087054715569280>
- Zhan, J. S., Gao, K., Chai, R. C., Jia, X. H., Luo, D. P., Ge, G., ... Yu, A. C. H. (2017). Astrocytes in Migration. *Neurochemical Research*, *42*(1), 272–282. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2089-4>
- Zhang, Y.-F., & Sun, G.-X. (2015). [A Meta analysis of family risk factors for attention deficit hyperactivity disorder]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics*, *17*(7), 721–725.
- Zheng, X., Zhang, X., Kang, A., Ran, C., Wang, G., & Hao, H. (2015). Thinking outside the brain for cognitive improvement: Is peripheral immunomodulation on the way? *Neuropharmacology*, *96*(Pt A), 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.06.020>
- Zhou, K., Dempfle, A., Arcos-Burgos, M., Bakker, S. C., Banaschewski, T., Biederman, J., ... Asherson, P. (2008). Meta-analysis of genome-wide linkage scans of attention deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *147*(8), 1392–1398. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30878>
- Zhou, Y., Gao, H., Mihindukulasuriya, K. A., La Rosa, P. S., Wylie, K. M., Vishnivetskaya, T., ... Weinstock, G. M. (2013). Biogeography of the ecosystems of the healthy human body. *Genome Biology*, *14*(1), R1. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-1-r1>
- Zhu, J., Qu, C., Lu, X., & Zhang, S. (2014). Activation of microglia by histamine and substance P. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, *34*(3), 768–780. <https://doi.org/10.1159/000363041>

- Zimmer, L. (2009). Positron emission tomography neuroimaging for a better understanding of the biology of ADHD. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 601–607. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.08.001>
- Zimmerman, M. R., Brier, B., & Wade, R. S. (1998). Brief communication: twentieth-century replication of an Egyptian mummy: implications for paleopathology. *American Journal of Physical Anthropology*, 107(4), 417–420. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199812\)107:4<417::AID-AJPA4>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199812)107:4<417::AID-AJPA4>3.0.CO;2-B)
- Zirkelback, E. A., & Reese, R. J. (2010). A review of psychotherapy outcome research: Considerations for school-based mental health providers. *Psychology in the Schools*, 47(10), 1084–1100. <https://doi.org/10.1002/pits.20526>
- Zuckerman, M. K., Harper, K. N., Barrett, R., & Armelagos, G. J. (2014). The evolution of disease: anthropological perspectives on epidemiologic transitions. *Global Health Action*, 7, 23303.
- Zwi, M., Jones, H., Thorgaard, C., York, A., & Dennis, J. A. (2011). Parent training interventions for Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) in children aged 5 to 18 years. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12), CD003018. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003018.pub3>

10 Anexos

- *Systematic overview of neuroanatomical differences in ADHD: Definitive evidence*



Systematic overview of neuroanatomical differences in ADHD: Definitive evidence

Bruno Bastos Vieira de Melo ^{a,c}, Maria João Trigueiro^a, and Pedro Pereira Rodrigues^b

^aOccupational Therapy Department, Higher School of Health, Polytechnic Institute of Porto, Porto, Portugal; ^bCINTESIS & Community Medicine, Information and Health Decision Sciences Department, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal; ^cFaculty of Education Sciences, University of Vigo

ABSTRACT

Objectives: This article seeks to identify neuroanatomical differences in ADHD through an overview of systematic reviews that report encephalic differences compared to a control group in volume, area, activation likelihood or chemical composition.

Methods: We conducted a systematic search using Cochrane guidelines and PRISMA criteria in PubMed, Scopus, Web of Science, Cochrane Database of Systematic Reviews and Database of Abstracts of Reviews of Effects.

Results: Results revealed broad encephalic involvement that includes a functional frontal and cingulate hypoactivation and structural differences in corpus callosum, cerebellum and basal nuclei.

Conclusions: ADHD symptoms might be due to a multi-network unbalanced functioning hypothesis.

Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) is one of the most common neurodevelopmental disorders (Polanczyk, Salum, Sugaya, Caye, & Rohde, 2015). Although no biomarkers have been linked, neuroanatomical differences have been one of the most investigated topics for several decades (Tannock, 1998), providing support for several, yet inconclusive large-scale brain network implications (Castellanos & Proal, 2012) and models (Kofler et al., 2013; Sonuga-Barke, 2005). Neuroimaging developments and new methods have increased our understanding of the underlying neurobiology of ADHD (Rubia, Alegria, & Brinson, 2014a). We have identified 94 reviews related to ADHD neuroanatomy: 54 qualitative reviews and 40 systematic reviews (26 with meta-analysis). Given this volume of scientific information, we aimed to identify the neuroanatomical differences in ADHD through an overview of systematic reviews that report encephalic differences in terms of volume, area, activation likelihood or chemical composition.

Materials and methods

This review was conducted following the guidelines from the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (The Cochrane Collaboration, 2011). Other suggestions were also considered (Booth et al., 2011; Smith, Devane, Begley, & Clarke, 2011; The Joanna Briggs Institute, 2014). The search method was systematic and sought to minimize the exclusion of relevant reviews (Montori, Wilczynski, Morgan, & Haynes, 2005; Sampson et al., 2009; Smith et al., 2011; The Cochrane Collaboration, 2011; Wilczynski & Haynes, 2007). Reviewed abstracts and full-text articles were selected against a set of inclusion criteria and quality criteria by PRISMA Statement (Moher et al., 2015). Discrepancies were

CONTACT Bruno Vieira de Melo  brunobvieirademelo@gmail.com  Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal.

Bruno Vieira de Melo PhD Student, Doctoral Program of Behavioural and Educational Sciences, University of Vigo.

 Supplemental data for this article can be access on the [publisher's website](#)

© 2017 Taylor & Francis

resolved by consensus among two investigators. No protocol or overview was identified to be similar to the methods applied in this overview.

Criteria for inclusion

Systematic reviews that used an imaging diagnostic technique to report functional or structural neuroanatomical differences between ADHD without comorbidity and normal controls, were included. English, Spanish, Italian, French, and Portuguese languages were included. No date restriction was applied.

Search methods for identification of reviews

An online systematic search was conducted on December 2015 in PubMed, Scopus, Web of Science, Cochrane Database of Systematic Reviews and Database of Abstracts of Reviews of Effects. Two queries were used: 1) “(((adhd[Title/Abstract] OR hyperactivity[Title/Abstract])) AND (“meta analysis”[Title/Abstract] OR “meta analytic”[Title/Abstract] OR “systematic review”[Title/Abstract])) NOT (rat[Title/Abstract] OR autism[Title/Abstract] OR “brain injury”[Title/Abstract] OR cardiac[Title/Abstract] OR stroke[Title/Abstract]))” and when mesh terms were available: 2) (“Review”[Publication Type] OR “Review Literature as Topic”[Mesh] OR “Meta-Analysis as Topic”[Mesh] OR “Meta-Analysis”[Publication Type])) AND “Attention Deficit Disorder with Hyperactivity”[Mesh]. This search was updated monthly and no additional reviews were found until the final search conducted on April 23, 2017.

Data collection, analysis and synthesis

Search results were imported to Mendeley (“Mendeley desktop,” 2016) and duplicates were excluded. Retrieved results were subject to two levels of screening: title/abstract and full text. Additional reviews identified in full text analysis were included. The PRISMA 27-item criteria checklist was applied to all reviews that met our inclusion criteria and information was extracted related to: author; year; objectives; search methods; comparability of included studies; assessment of publication bias and heterogeneity; reported brain differences; statistical outcomes; qualitative aggregated results. In functional magnetic resonance imaging (fMRI), results corrected for multiple comparison in the inference on activation likelihood estimation (ALE) data were extracted (Eickhoff, Bzdok, Laird, Kurth, & Fox, 2012; Laird et al., 2009).

Extracted data were organized in four tables: summary of characteristics of included systematic reviews (Table 1); summary of quality criteria of included systematic reviews (Table 2); major findings (Table 3); main recommendations (Table 4). Eight additional supplemental tables were also organized: assessment of reviews that met the inclusion criteria on the PRISMA statement checklist (Supplemental Table S1); summary of characteristics of excluded systematic reviews (Supplemental Table S2); summary of quality criteria of excluded systematic reviews (Supplemental Table S3); overlap trial calculation (Supplemental Table S4); overlap trial calculation in fMRI systematic reviews (Supplemental Table S5); overview of neuroanatomical differences in children with ADHD (Supplemental Table S6); overview of neuroanatomical differences in adults with ADHD (Supplemental Table S7); overview of neuroanatomical differences in children and adults with ADHD (Supplemental Table S8).

Although they had a common objective, the divergence in the type of results between systematic reviews did not allow for a quantitative analysis. A qualitative synthesis of neuroanatomical functional and structural differences in ADHD vs normal controls is provided (Schunemann et al., 2008; Smith et al., 2011; The Cochrane Collaboration, 2011).

Table 1. Summary of characteristics of included systematic reviews.

Author(s) of review and year published	Objective of review	Total number of studies included in this review (number of studies by technique)	Range of years of studies included in the review	Total number of participants (number of participants by technique)
Valera et al. (2007)	To identify structural volume/area differences between ADHD and normal controls	21 MRI	1990–2004	1163 MRI
Ellison-Wright et al. (2008)	To identify structural grey matter differences between ADHD and normal controls	6 MRI-VBM	2001–2007	257 MRI-VBM
Durston et al. (2009)	To identify structural, functional and genetic differences between ADHD and normal controls	86 (45 MRI; 41 fMRI)	1991–2009	Not reported
Samuele Cortese et al. (2012)	To identify functional differences between children/adults/children and adults with ADHD and normal controls in executive function, inhibitory control, attention and memory tasks	55 fMRI	2005–2011	1542 fMRI
Aoki et al. (2013)	To identify metabolite level differences between ADHD and normal controls and its age-related changes	16 MRS	2001–2010	505 MRS
Chen et al. (2016)	To identify white matter differences between ADHD and normal controls using MRI-DTI-TBSS	10 MRI-DTI-TBSS	2009–2015	947 MRI-DTI

Abbreviations: ADHD, Attention-deficit hyperactivity disorder; DTI, diffusion tensor imaging; fMRI, functional magnetic resonance imaging; MRI, magnetic resonance imaging; MRS, magnetic resonance spectroscopy; TBSS, tract-based spatial statistics; VBM, voxel-based morphometry.

Table 2. Summary of quality criteria of included systematic reviews.

Author(s) of review and year published	(i) Types of studies; (ii) types of participants	Database(s) searched: publication years searched: date the search was done	Comparability of included studies	Assessment of publication bias	Assessment of heterogeneity
Valera et al. (2007)	(i) Not reported; (ii) ADHD children vs controls	PubMed e PsycINFO: no limit: January 2005	Table comparing studies provided	Statistical assessment	Statistical assessment
Ellison-Wright et al. (2008)	(i) Not reported; (ii) ADHD children vs controls	PubMed: no limit: March 2008	ALE analysis	Not reported	Not reported
Durston et al. (2009)	(i) Not reported; (ii) ADHD children and adults vs controls	PubMed and ISI Web of Science: not reported: not reported	Table comparing studies provided	Not reported	Not reported
Samuele Cortese et al. (2012)	(i) Not reported; (ii) ADHD vs controls; ADHD children vs controls; ADHD adults vs controls	PubMed, PsycINFO, Ovid Medline®, Embase, Web of Science, Eric, Cinhal e "NeuroSynth": 2005–2011: June 2011	Table comparing studies provided; ALE analysis	Not reported	Not clearly reported
Aoki et al. (2013)	(i) Not reported; (ii) ADHD vs controls	Medline, Mebase and Web of Science: 1980–2012: not reported	Table comparing studies provided; effect size	Statistical assessment	Statistical assessment
Chen et al. (2016)	(i) Not reported; (ii) ADHD vs controls	PubMed, Web of Science, Embase, Ebsco, Clinical Key and Science Direct databases: October 2015: not reported	Table comparing studies provided; ALE analysis	Not clearly reported	Not reported

Abbreviations: ADHD, Attention-deficit hyperactivity disorder; ALE, activation likelihood estimation.

Results

As shown in [Figure 1](#), a total of 8,253 articles were initially retrieved. After removing duplicates and applying language restriction, 103 systematic reviews about ADHD were identified by

Table 3. Major findings.

Major findings
<ul style="list-style-type: none"> • Reduced overall cerebral volume and specifically in the right hemisphere, frontal and parietal lobe, basal nuclei, globus pallidus, corpus callosum and cerebellum • Frontal lobe hypoactivation, specifically in the precentral, middle and inferior frontal gyri • Middle prefrontal cortex with increased levels of N-acetylaspartate • Corpus callosum white matter with fractional anisotropy reduction • Other consistently reported brain regions with partially consistent activation patterns such as cingulate cortex, insula, basal nuclei, parietal, temporal and occipital lobes

Table 4. Main recommendations.

Main recommendations
<ul style="list-style-type: none"> • Despite the extensive literature, highly homogeneous trials with clearly reported participants and replicable methods are needed • ADHD is clearly suggested to go beyond the frontoparietal network and dopaminergic system • The hypothesis of an unbalanced multi-network neurofunctioning in ADHD indicates that a variety of skills could be compromised • A multidisciplinary assessment should be addressed for diagnostic and occupational performance treatment approaches • The broad encephalic involvement discussed could support ADHD models that conceptualize a systemic implication of the nervous system

reviewing title/abstract. A full-text analysis yielded 74 reviews about neuroanatomical differences of which 30 presented a systematic methodology including: computed axial tomography (CT); electroencephalography (EEG); event-related potential (ERP); fMRI; functional near-infrared spectroscopy (fNIRS); magnetic resonance imaging (MRI) with voxel-based morphometry (MRI-VBM), diffusion tensor imaging (MRI-DTI) and tract-based spatial statistics (MRI-DTI-TBSS); magnetic resonance spectroscopy (MRS); positron emission tomography (PET); resting state functional connectivity MRI (rs-fcMRI); single-photon emission computed tomography (SPECT); and transcranial magnetic stimulation (TMS). The consistency of structural and functional objectives allowed for the identification of 17 systematic reviews that aimed to identify the structural or functional neuroanatomical differences between ADHD and normal controls (Aoki, Inokuchi, Suwa, & Aoki, 2013; Chen et al., 2016; Cortese et al., 2012; Dickstein, Bannon, Xavier Castellanos, & Milham, 2006; Durston, de Zeeuw, & Staal, 2009; Ellison-Wright, Ellison-Wright, & Bullmore, 2008; Hart, Radua, Mataix-Cols, & Rubia, 2012; Hart, Radua, Nakao, Mataix-Cols, & Rubia, 2013; Hutchinson, Mathias, & Banich, 2008; Lei et al., 2015; McCarthy, Skokauskas, & Frodl, 2014; Paloyelis, Mehta, Kuntsi, & Asherson, 2007; Perlov et al., 2009; Spencer, Uchida, Kenworthy, Keary, & Biederman, 2014; Tannock, 1998; Valera, Faraone, Murray, & Seidman, 2007; van Ewijk, Heslenfeld, Zwiers, Buitelaar, & Oosterlaan, 2012).

Trials used in these 17 systematic reviews were pooled (Supplemental Table S4) so that the overlap could be analyzed and the PRISMA 27-item checklist was applied (Supplemental Table S1). We aimed not to repeat included trials and to prioritize higher PRISMA scores. If a partial or total overlap was identified, the following criteria were applied: 1) for the same imaging technique, reviews with exclusive trials were included; 2) for reviews with the same trials used, a quantitative analysis was preferred over a qualitative analysis; 3) for the same methodological analysis, reviews with higher PRISMA score were preferred.

Therefore, 6 systematic reviews were included in this review covering 145 individual trials (out of the total 191 pooled trials) using MRI; MRI-VBM; fMRI; MRS and MRI-DTI-TBSS, from 1990 to 2015, with over 4144 participants (Table 1 and Supplemental Table S4).

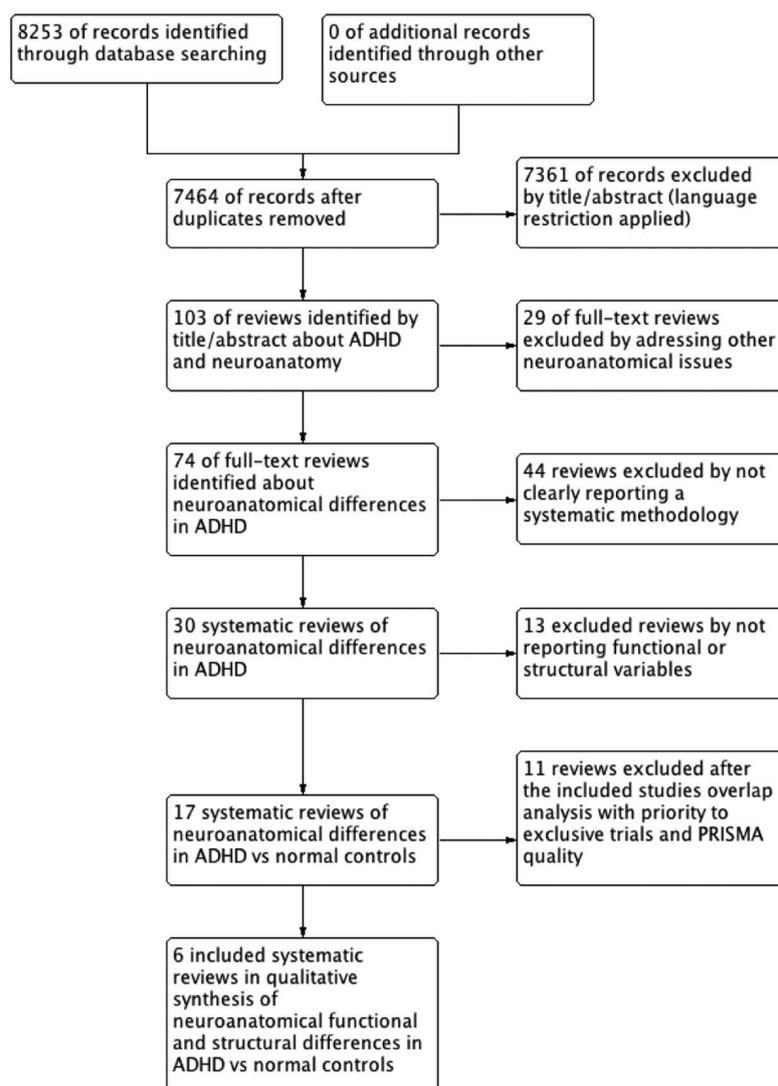


Figure 1. Flow diagram of included systematic reviews.

Overview of neuroanatomical differences in children with ADHD

Table 3 refers to the main findings of this overview. For detailed results, please refer to Supplemental Tables S6–S8.

Structural differences compared to controls

There was a reduction in the total cerebral volume (Durstun et al., 2009; Valera et al., 2007) and specific regions: right hemisphere (Valera et al., 2007); frontal lobe (Durstun et al., 2009); parietal lobe, possibly explained by a reduced cortical thickness (Durstun et al., 2009); basal nuclei in the right caudate (Durstun et al., 2009; Valera et al., 2007) and putamen (Ellison-Wright et al., 2008); right globus pallidus (Ellison-Wright et al., 2008); corpus callosum in the splenium (Valera et al., 2007); and cerebellum hemispheres and vermis (Valera et al., 2007).

Chemical neurometabolites compared to controls

One included review (Aoki et al., 2013) reported a combined result of both children and adults with ADHD. Therefore, these results will be included in the children and adults section below.

Functional differences compared to controls

Frontal lobe with hypoactivation in the supplementary motor area (BA 6), bilateral middle superior frontal gyrus (BA 6, 9 e 46), precentral gyrus and inferior frontal gyrus (Cortese et al., 2012). In the parietal lobe, there is a right frontal area and right postcentral gyrus hypoactivation (BA 40) with a hyperactivation in the right angular gyrus and right subparietal sulcus (Cortese et al., 2012). In the temporal lobe there is hypoactivation in the right superior temporal gyrus (BA 22) (Cortese et al., 2012) and in the occipital lobe hyperactivation of the right middle occipital gyrus (BA 19) (Cortese et al., 2012). These alternate patterns of activation were most frequently observed in the cingulate cortex, insula and basal nuclei. In the cingulate cortex, hypoactivation occurred in the bilateral paracingulate gyrus (BA 32) and hyperactivation in the right middle and posterior cingulate (Cortese et al., 2012). In the insula, hyperactivation occurred in the right sub-operculum white matter, and in the basal nuclei bilateral hypoactivation in the putamen was identified (Cortese et al., 2012).

Overview of neuroanatomical differences in adults with ADHD

Structural differences compared to controls

None of the 17 analyzed reviews reported structural differences specifically in adult ADHD.

Chemical neurometabolites compared to controls

One included review (Aoki et al., 2013) reported a combined result of both in children and adults with ADHD. Therefore, these results will be included in the children and adults section below.

Functional differences compared to controls

Different activation patterns in the frontal and parietal lobe were observed: frontal lobe hypoactivation in the precentral and right middle frontal gyri and central sulcus (BA 10) and parietal hyperactivation in the right angular gyrus (Cortese et al., 2012).

Overview of neuroanatomical differences in children and adults with ADHD

Structural differences compared to controls

Fractional anisotropy reduction was observed in the occipital lobe and corpus callosum (splenium and tapetum) (Chen et al., 2016). None of the remaining reviews reported quantitative MRI data about children and adults with ADHD.

Chemical neurometabolites compared to controls

Increased levels of N-acetylaspartate in the middle prefrontal cortex (Aoki et al., 2013). None of the remaining reviews reported quantitative MRS data about children and adults with ADHD.

Functional differences compared to controls

One included review (Cortese et al., 2012) reported aggregated results in both children and adult ADHD differences, but as the adult sample was significantly smaller, only results for children were included.

Discussion

Overall, these results revealed broad encephalic involvement that involves the functional frontal lobe and cingulate hypoactivation and structural differences in corpus callosum, cerebellum and basal nuclei (Figure 2).

areas, they may represent a possible unbalance in the default mode network and frontoparietal network which undergird attentional skills (Posner et al., 2014). Only by clearly converging similar methodological fMRI and MRS studies might it be possible to clarify these observed differences.

Additional analysis using resting state EEG might not be consistent with neurometabolites levels

EEG reviews were excluded as they did not report specific neuroanatomical regions as specified in the included methods. But as they were one of the first systematic methods used to measure resting-state and functional cortical activity, their main results may help interpret the previous NAA results. Apart from the technical limitations and some inconsistent results, the EEG results indicate an increased frontal theta wave pattern (Castellanos & Acosta, 2002; Sigi Hale, Hariri, & McCracken, 2000; Tannock, 1998; Willis & Weiler, 2005), a posterior increase of delta waves with decrease of alpha and beta activity (Willis & Weiler, 2005) and increased theta/beta ratio (Snyder & Hall, 2006).

These EEG results supported two previous ADHD interpretations: low cortical arousal and delayed cortical maturation. The low cortical arousal interpretation was supported by the frontal increase of slow wave pattern (delta and theta), decrease of fast wave pattern (alpha e beta) and increased theta/beta ratio (Castellanos & Acosta, 2002; Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Sigi Hale et al., 2000; Tannock, 1998; Tye, McLoughlin, Kuntsi, & Asherson, 2011; Willis & Weiler, 2005). In terms of coherence (calculated as the cross-correlation in the frequency domain between two EEG time points, measured simultaneously at different scalp locations), ADHD showed frontal hypercoherence (Sigi Hale et al., 2000; Tye et al., 2011) thought to indicate reduced cortical differentiation (Tye et al., 2011; Willis & Weiler, 2005). This fact supported both interpretations since this hypercoherence is relative to slow waves in the frontal region and this lower cortical differentiation tends to normalize with increasing age (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Tye et al., 2011; Willis & Weiler, 2005).

Different EEG frequencies have also been implicated in specific mental/physiological states consistent with ADHD: delta waves with deep sleep; theta with the intake of sensory information, spatial memory and positively associated with low arousal; alpha waves with wakeful relaxation, possibly with a synchronization of neuronal processes across the brain, negative association with arousal and positive association with externalizing behavior; beta waves with working memory, mental activation and focus; gamma waves with alertness and sensory stimulation; and theta/beta ratio with a negative association to reaction time (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015). The hippocampus has also been implicated with the theta rhythm and thalamo-cortical circuits with alpha rhythm (Willis & Weiler, 2005)

Therefore, the NAA findings indicating frontal hyperactivation are not consistent with previous EEG results. However, these EEG results are consistent with the fMRI results of a frontal hypoactivation and posterior hyperactivation tendency. EEG findings are mostly based on a resting state with eyes open and closed (Loo & Makeig, 2012; Rudo-Hutt, 2015; Tye et al., 2011), but functional state is also possible (Willis & Weiler, 2005), so it is expected that some EEG results might represent a combination of both states. This EEG/fMRI consistency might also be due to the fact that both techniques have decades of investigation and MRS results related to ADHD are in the early stages, which may explain the inconsistent findings. Therefore, it is not yet possible to draw firm conclusions about elevated NAA results in ADHD.

Combined analysis of EEG/ERP and fMRI results may confirm default mode and frontoparietal cognitive control network implication

The previous assumption has also been identified in simultaneous EEG/fMRI evaluation where a high arousal pattern (decreased delta and theta with increased alpha and beta) might be associated

with this brain network (Hlinka, Alexakis, Diukova, Liddle, & Auer, 2010; Rudo-Hutt, 2015) and other fMRI resting-state results (Konrad & Eickhoff, 2010; Paloyelis et al., 2007; Posner et al., 2014; Yeo et al., 2011).

Given the balanced functioning between the default mode and frontoparietal cognitive control networks, these EEG results might implicate both networks. ERP results might support this consideration as they report differences in stimulus or task response. ADHD showed a possible difference in central arousal patterns with subcortical hypoactivation (Castellanos & Acosta, 2002; Tannock, 1998) specially in the frontal (Sigi Hale et al., 2000) and dorsolateral and anterior cingulate regions (Swanson et al., 1998), with poorer performance on attentional and inhibition tasks (Tye et al., 2011). Once these results are reported in a functional state, the dorsal anterior cingulate cortex is expected to be more active through the frontoparietal cognitive control network functioning. So, this hypoactivation may also implicate this network. This argument is consistent with other results (Bush, Valera, & Seidman, 2005; Cherkasova & Hechtman, 2009; Cortese et al., 2012; Cubillo, Halari, Smith, Taylor, & Rubia, 2012; Durston, 2003; Emond, Joyal, & Poissant, 2009; Kelly, Margulies, & Castellanos, 2007; Paloyelis et al., 2007; Posner et al., 2014; Weyandt, Swentosky, & Gudmundsdottir, 2013) and may be supported by the combination of EEG/ERP and fMRI results, because of the possible relationship between alpha and theta waves with cognitive control networks (Carp & Compton, 2009; Cooper et al., 2015). Therefore, the attentional difficulties observed in ADHD might be due not only to the default mode network but also by the inconsistent activation/deactivation balance with the frontoparietal cognitive control network.

Functional fMRI differences may support other neural networks

Our fMRI overview results reported differences in other brain regions that are not as expressive as the frontal hypoactivation:

- Parietal lobe results are partially consistent with other reviews that reported a hypoactivation in the right inferior parietal lobe (McCarthy et al., 2014) and that also included the right superior parietal area, left precuneus (BA 3, 5 e 7) and extended to the fusiform gyrus (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015). A hyperactivation in this same area was not identified by one included review (Cortese et al., 2012) but was identified in other reviews on inhibitory motor task (Lei et al., 2015) along with the right postcentral gyrus (BA 2) (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015); - Temporal lobe hypoactivation in the right superior temporal gyrus (BA 22) (Cortese et al., 2012) is consistent with other findings, that also added the left superior temporal gyrus (BA 38) (Dickstein et al., 2006);
- Occipital lobe hyperactivation in the right middle occipital gyrus (BA 19) (Cortese et al., 2012) is not consistent with other findings that observed a hypoactivation in this same area (Dickstein et al., 2006), but is consistent with the adult results (Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014);
- Cingulate cortex, insula and basal nuclei are consistent as reported brain regions, but partially consistent in terms of activation pattern (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015).

Taken together, these results point to an extended network implication that goes beyond the frontal networks, and that are translated into changes in observable skills. This argument has also been considered in earlier fMRI reviews (Cherkasova & Hechtman, 2009; Durston, 2003; Kelly et al., 2007). Combining our results with the seven-network parcellation of the human cortex by Yeo et al. (2011), the other five-networks may also be implicated: dorsal attention, ventral attention, somato-motor, visual and limbic (Yeo et al., 2011).

Our results showed a hypoactivation pattern along the ventral attention network and a partial hypoactivation along the dorsal attention network. As these interconnected networks are respectively responsible for monitoring salient stimuli and mediating goal-directed top-down executive control processes, its relationship to ADHD core symptoms is therefore relevant (Castellanos & Proal, 2012;

Hart et al., 2013; Paloyelis et al., 2007). These frontal hypoactivation results are implied in inhibitory control tasks (Dickstein et al., 2006; Lei et al., 2015; McCarthy et al., 2014) and are consistent with previous results that also identified a hypoactivation pattern in the frontal and precentral gyrus bilateral (BA 6, 8, 9, 10 e 47) (Dickstein et al., 2006) and left middle frontal gyrus (McCarthy et al., 2014).

The somatomotor network, represented in our overview as a hypoactivation in the supplementary motor area and precentral, postcentral and right superior temporal gyri, is probably implicated in reported ADHD motor and body scheme skills (García Murillo, Cortese, Anderson, Di Martino, & Castellanos, 2015; Kaiser, Schoemaker, Albaret, & Geuze, 2015; Paloyelis et al., 2007).

The visual network, represented in our results as an occipital hyperactivation that along with the dorsal attentional network implication (which mediates goal-directed, top-down executive control processes, particularly in reorienting attention during visual attentional functioning) might influence both attention and visual skills (Brown, Roth, & Katz, 2015; Castellanos & Proal, 2012; Cortese et al., 2012; Germano, Pinheiro, Okuda, & Capellini, 2013; Mullane & Klein, 2008; Yeo et al., 2011).

The limbic network, represented in our results by a hyperactivation in the posterior cingulate cortex, the hippocampus implication (mentioned previously in EEG results) and splenium (mentioned later in MRI discussion), are probably associated with the ADHD emotional regulation skills (Graziano & Garcia, 2016; Rubia, 2011; Yeo et al., 2011).

Structural differences in the corpus callosum and striatum-cerebellar networks support a multiple neural network implication

Reported structural differences may support a multi-network hypothesis in ADHD, as they identified further regions regarding volumetric reductions in total and frontal brain, right hemisphere, striatum, caudate nucleus, putamen, globus pallidus, vermis, and cerebellar hemispheres. No increased volumetric results were reported. These MRI results are consistent with previous CT studies (Faraone & Biederman, 1998; Giedd, Blumenthal, Molloy, & Castellanos, 2001; Sigi Hale et al., 2000) and grey matter (soma, dendrite, synapse, glial cells) differences in the putamen and globus pallidus, which in turn are consistent with PET/SPECT results of reduced dopamine transporter levels in the basal nuclei (Rubia et al., 2014a; Zimmer, 2009). These differences might implicate the dopaminergic system through the representation of its regions (Ellison-Wright et al., 2008; Frodl & Skokauskas, 2012; Nakao, Radua, Rubia, & Mataix-Cols, 2011), functional pathways (Durstun et al., 2009; Swanson et al., 2007) and the reward system in the cortical-basal nuclei network, striatum and pre-frontal areas (Mowinckel, Pedersen, Eilertsen, & Biele, 2015; Paloyelis et al., 2007; Plichta & Scheres, 2014; Seymour, Reinblatt, Benson, & Carnell, 2015).

Specifically, the cerebellar and basal nuclei structural involvement may further support this hypothesis. Structural results are consistent with PET/SPECT results that, similarly to the fMRI results, reported changes in ADHD should go beyond the dopaminergic system (Rubia et al., 2014a; Spencer et al., 2014; Zimmer, 2009) and contribute to ADHD behaviors (Pappa, Mileva-Seitz, Bakermans-Kranenburg, Tiemeier, & van IJzendoorn, 2015; Rogers & De Brito, 2015). These structural results could represent an implication of the fronto-striatum-parietal-cerebellar networks (Paloyelis et al., 2007; Rubia et al., 2014a; Weyandt et al., 2013), as fronto-striato-cerebellar networks are related to the limbic system and emotional regulation (Graziano & Garcia, 2016; Herrmann, Biehl, Jacob, & Deckert, 2010; Seymour et al., 2015; Yeo et al., 2011), but also, cortico-striato-thalamic-cortical circuitry that mediates sensorimotor, cognitive and limbic functions (Posner et al., 2014), thalamo-cortical circuit that are thought to be the generators for the alpha rhythm (Willis & Weiler, 2005) and structural brain connectomics with regional changes distributed in the sensorimotor, attention, default-mode, striatum and cerebellum regions (Cao, Shu, Cao, Wang, & He, 2014).

Structural striatum and cerebellar differences, taken together with functional differences regarding frontal, cingulate and supplementary areas, are consistent with changes in the inhibitory control

networks (Aron & Poldrack, 2005; Hart et al., 2012, 2013; Noreika, Falter, & Rubia, 2013; Paloyelis et al., 2007; Rubia et al., 2014a), both in motor and impulsive behaviors (Boonstra, Oosterlaan, Sergeant, & Buitelaar, 2005; Kofler et al., 2013; Lansbergen, Kenemans, & van Engeland, 2007; Lei et al., 2015; Lijffijt, Kenemans, Verbaten, & van Engeland, 2005; McCarthy et al., 2014; Pauli-Pott & Becker, 2015; Rubia, Halari, Christakou, & Taylor, 2009; Schwartz & Verhaeghen, 2008; Seymour et al., 2015; van Mourik, Oosterlaan, & Sergeant, 2005). These inhibitory network differences are consistent with MRS results where ADHD showed lower cortical inhibition that may support GABAergic system compromise (Bunse et al., 2014; Dutra, Baltar, & Monte-Silva, 2016; Rothwell, Day, Thompson, & Kujirai, 2009).

White matter results, with fractional anisotropy reduction (that represent regional myelination levels, fiber crossing, axonal density and average axonal diameter) along the splenium, sagittal stratum and tapetum, implicate the largest white matter bundle that connects the bilateral cerebral hemispheres (Chen et al., 2016; van Ewijk et al., 2012) and thus might influence inter-hemispheres, anterior/posterior functioning such as limbic, attentional and visual networks through longitudinal and inferior fronto-occipital fasciculus. Other regions have been identified but qualitative methodology and study inclusion might account for the reported differences (Mana, Paillere Martinot, & Martinot, 2010; Matthews, Nigg, & Fair, 2013; Rubia, Alegria, & Brinson, 2014b; Van Ewijk et al., 2012; Weyandt et al., 2013). Our results are based on the largest (studies and participants) quantitative review (Chen et al., 2016).

Overall completeness and applicability of evidence

Our search method with two queries, full-text search of additional reviews and no limit on year of publication was an attempt to minimize any loss of relevant studies. Inevitably we missed any review that was not indexed in the reported databases. Once the criteria of reported neuroanatomical regions excluded methods such as EEG and PET/SPECT, we included the relevant qualitative results in our discussion. The overlap analysis with the top priority not to duplicate trials led to an exclusion of some individual trials (46 out of 191). We attempted to include them in our discussion when their qualitative results were separately reviewed.

With our criteria for inclusion, we have selected some of the most investigated imaging techniques in ADHD (MRI, MRI-DTI, fMRI and MRS) with a higher number of included studies and PRISMA criteria. To our knowledge, in this area of investigation, the present study is the only overview of systematic reviews to itself use a systematic methodology.

Quality of the evidence and potential biases in the overview process

Additional limitations should be noted: aggregated results of fMRI reviews are reported using trials with functional tasks that are not fully described making it impossible to identify different methods, variations and the individual contribution of each task to the final effect size. Brain regions and tasks that are previously selected might create an unbalanced focus on imaging studies and therefore reported neuroanatomical differences. Different nosological classifications might have led to unequal participants, both in terms of different versions of diagnostic classification systems and associated comorbidity. Medicated/medicated-naive participants were not always clearly reported. ALE fMRI results might create a different result in terms of whether a method of correcting for multiple comparison in the inference on ALE data is used or not (Cortese et al., 2012; Eickhoff et al., 2012; Laird et al., 2009). In the included trials, it was impossible to determine age, gender, and comorbidity tendencies that might account for asymmetrical participants' characteristics.

Authors' conclusion

ADHD and neurofunctional understanding combines two complex subjects with technical and conceptual limitations that despite extensive literature still requires intense debate. We tried to contribute by addressing this topic with a systematic approach that included the most consistent neuroanatomical imaging methods. Overall these results point to a broader neurofunctional implication in ADHD that clearly goes beyond the frontoparietal network and dopaminergic system. Thus, ADHD presents itself as a neurodevelopmental disorder with a multi-network/neurochemical implication. This hypothesis is consistent both in neuroimaging results and in behavior patterns, since this multi-network hypothesis is consistent with its translation to multiple implications in cognitive, emotional regulation, motor, sensory-perceptual, and social skills.

Implications for practice

This broader multi-network neurofunctional concept, that possibly translates into a multi-skill compromise, highlights the importance of a first level multidisciplinary diagnostic and treatment approach followed by a second level multidisciplinary assessment of how these core symptoms impact functional and occupational performance.

Implications for research

Neurofunctional and anatomical differences in ADHD are one of the most studied topics in the past decades with hundreds of reviews and respective trials. This overview highlights the urgent need for highly homogeneous trials, with clearly reported participants and replicable methods, that in turn allow for the construction of systematic reviews that follow a homogeneous methodology. These reviews have identified solid constructs with several questions raised and limitations noted. We think that it is time to strictly aim for highly replicable and standardized trials/systematic reviews that ultimately will allow multi imaging techniques to be applied in the same conditions.

Acknowledgments

No funding or acknowledgments to report.

Any disclaimers

The views expressed are those of the authors.

ORCID

Bruno Bastos Vieira de Melo  <http://orcid.org/0000-0002-1543-6582>

References

- Aoki, Y., Inokuchi, R., Suwa, H., & Aoki, A. (2013). Age-related change of neurochemical abnormality in attention-deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1692–1701. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.04.019
- Aron, A. R., & Poldrack, R. A. (2005). The cognitive neuroscience of response inhibition: Relevance for genetic research in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1285–1292. doi:10.1016/j.biopsych.2004.10.026
- Boonstra, A. M., Oosterlaan, J., Sergeant, J. A., & Buitelaar, J. K. (2005). Executive functioning in adult ADHD: A meta-analytic review. *Psychological Medicine*, 35(8), 1097–1108. doi:10.1017/S003329170500499X
- Booth, A., Clarke, M., Gherzi, D., Moher, D., Petticrew, M., & Stewart, L. (2011). An international registry of systematic-review protocols. *The Lancet*, 377(9760), 108–109. doi:10.1016/S0140-6736(10)60903-8

- Brown, F. C., Roth, R. M., & Katz, L. J. (2015). Allocentric but not egocentric visual memory difficulties in adults with ADHD may represent cognitive inefficiency. *Psychiatry Research*, 228(3), 649–658. doi:10.1016/j.psychres.2015.04.051
- Bunse, T., Wobrock, T., Strube, W., Padberg, F., Palm, U., Falkai, P., & Hasan, A. (2014). Motor cortical excitability assessed by transcranial magnetic stimulation in psychiatric disorders: A systematic review. *Brain Stimulation*, 7(2), 158–169. doi:10.1016/j.brs.2013.08.009
- Bush, G., Valera, E. M., & Seidman, L. J. (2005). Functional neuroimaging of attention-deficit/hyperactivity disorder: A review and suggested future directions. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1273–1284. doi:10.1016/j.biopsych.2005.01.034
- Cao, M., Shu, N., Cao, Q., Wang, Y., & He, Y. (2014). Imaging functional and structural brain connectomics in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Molecular Neurobiology*, 50(3), 1111–1123. doi:10.1007/s12035-014-8685-x
- Carp, J., & Compton, R. J. (2009). Alpha power is influenced by performance errors. *Psychophysiology*, 46(2), 336–343. doi:10.1111/j.1469-8986.2008.00773.x
- Castellanos, F. X., & Acosta, M. T. (2002). El síndrome de déficit de atención con hiperactividad como expresión de un trastorno funcional orgánico. *Revista De Neurología*, 35(1), 1–11.
- Castellanos, F. X., & Proal, E. (2012). Large-scale brain systems in ADHD: Beyond the prefrontal-striatal model. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(1), 17–26. doi:10.1016/j.tics.2011.11.007
- Chen, L., Hu, X., Ouyang, L., He, N., Liao, Y., Liu, Q., ... Gong, Q. (2016). A systematic review and meta-analysis of tract-based spatial statistics studies regarding attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 68, 838–847. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.07.022
- Cherkasova, M. V., & Hechtman, L. (2009). Neuroimaging in attention-deficit hyperactivity disorder: Beyond the frontostriatal circuitry. *Canadian Journal of Psychiatry*, 54(10), 651–664. doi:10.1177/070674370905401002
- Cole, M. W., & Schneider, W. (2007). The cognitive control network: Integrated cortical regions with dissociable functions. *NeuroImage*, 37(1), 343–360. doi:10.1016/j.neuroimage.2007.03.071
- The Cochrane Collaboration. (2011). Cochrane handbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0. In J. P. Higgins, & S. Green (Eds.).
- Cooper, P. S., Wong, A. S. W., Fulham, W. R., Thienel, R., Mansfield, E., Michie, P. T., & Karayanidis, F. (2015). Theta frontoparietal connectivity associated with proactive and reactive cognitive control processes. *NeuroImage*, 108, 354–363. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.12.028
- Cortese, S., Kelly, C., Chabernaud, C., Proal, E., Di Martino, A., Milham, M. P., & Castellanos, F. X. (2012). Toward systems neuroscience of ADHD: A meta-analysis of 55 fMRI studies. *American Journal of Psychiatry*, 169(10), 1038–1055. doi:10.1176/appi.ajp.2012.11101521
- Cubillo, A., Halari, R., Smith, A., Taylor, E., & Rubia, K. (2012). A review of fronto-striatal and fronto-cortical brain abnormalities in children and adults with Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and new evidence for dysfunction in adults with ADHD during motivation and attention. *Cortex*, 48(2), 194–215. doi:10.1016/j.cortex.2011.04.007
- Dickstein, S. G., Bannon, K., Xavier Castellanos, F., & Milham, M. P. (2006). The neural correlates of attention deficit hyperactivity disorder: An ALE meta-analysis. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 47(10), 1051–1062. doi:10.1111/j.1469-7610.2006.01671.x
- Durston, S. (2003). A review of the biological bases of ADHD: What have we learned from imaging studies? *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 9(3), 184–195. doi:10.1002/mrdd.10079
- Durston, S., De Zeeuw, P., & Staal, W. G. (2009). Imaging genetics in ADHD: A focus on cognitive control. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(5), 674–689. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.08.009
- Dutra, T. G., Baltar, A., & Monte-Silva, K. K. (2016). Motor cortex excitability in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): A systematic review and meta-analysis. *Research in Developmental Disabilities*, 56, 1–9. doi:10.1016/j.ridd.2016.01.022
- Eickhoff, S. B., Bzdok, D., Laird, A. R., Kurth, F., & Fox, P. T. (2012). Activation likelihood estimation meta-analysis revisited. *NeuroImage*, 59(3), 2349–2361. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.09.017
- Ellison-Wright, I., Ellison-Wright, Z., & Bullmore, E. (2008). Structural brain change in attention deficit hyperactivity disorder identified by meta-analysis. *BMC Psychiatry*, 8, 51. doi:10.1186/1471-244X-8-51
- Emond, V., Joyal, C., & Poissant, H. (2009). Neuroanatomie structurelle et fonctionnelle du trouble déficitaire d'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH). *Encephale*, 35(2), 107–114. doi:10.1016/j.encep.2008.01.005
- Faraone, S. V., & Biederman, J. (1998). Neurobiology of attention-deficit hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 44(10), 951–958. doi:10.1016/S0006-3223(98)00240-6
- Frodl, T., & Skokauskas, N. (2012). Meta-analysis of structural MRI studies in children and adults with attention deficit hyperactivity disorder indicates treatment effects. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 125(2), 114–126. doi:10.1111/j.1600-0447.2011.01786.x
- García Murillo, L., Cortese, S., Anderson, D., Di Martino, A., & Castellanos, F. X. (2015). Locomotor activity measures in the diagnosis of attention deficit hyperactivity disorder: Meta-analyses and new findings. *Journal of Neuroscience Methods*, 252, 14–26. doi:10.1016/j.jneumeth.2015.03.001

- Germano, G. D., Pinheiro, F. H., Okuda, P. M. M., & Capellini, S. A. (2013). Visual-motor perception in students with attention deficit with hyperactivity disorder. *CoDAS*, 25(4), 337–341. doi:10.1590/S2317-17822013000400007
- Giedd, J. N., Blumenthal, J., Molloy, E., & Castellanos, F. X. (2001). Brain imaging of attention deficit/hyperactivity disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 931, 33–49. doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb05772.x
- Graziano, P. A., & Garcia, A. (2016). Attention-deficit hyperactivity disorder and children's emotion dysregulation: A meta-analysis. *Clinical Psychology Review*. doi:10.1016/j.cpr.2016.04.011
- Harding, I. H., Yücel, M., Harrison, B. J., Pantelis, C., & Breakspear, M. (2015). Effective connectivity within the frontoparietal control network differentiates cognitive control and working memory. *NeuroImage*, 106, 144–153. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.11.039
- Hart, H., Radua, J., Mataix-Cols, D., & Rubia, K. (2012). Meta-analysis of fMRI studies of timing in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(10), 2248–2256. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.08.003
- Hart, H., Radua, J., Nakao, T., Mataix-Cols, D., & Rubia, K. (2013). Meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies of inhibition and attention in attention-deficit/hyperactivity disorder: Exploring task-specific, stimulant medication, and age effects. *JAMA Psychiatry*, 70(2), 185–198. doi:10.1001/jamapsychiatry.2013.277
- Herrmann, M. J., Biehl, S. C., Jacob, C., & Deckert, J. (2010). Neurobiological and psychophysiological correlates of emotional dysregulation in ADHD patients. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 2(4), 233–239. doi:10.1007/s12402-010-0047-6
- Hlinka, J., Alexakis, C., Diukova, A., Liddle, P. F., & Auer, D. P. (2010). Slow EEG pattern predicts reduced intrinsic functional connectivity in the default mode network: An inter-subject analysis. *NeuroImage*, 53(1), 239–246. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.06.002
- Hutchinson, A. D., Mathias, J. L., & Banich, M. T. (2008). Corpus callosum morphology in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analytic review. *Neuropsychology*, 22(3), 341–349. doi:10.1037/0894-4105.22.3.341
- The Joanna Briggs Institute. (2014). *Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual: 2014 edition/Supplement*. Adelaide, Australia.
- Kaiser, M. L., Schoemaker, M. M., Albaret, J. M., & Geuze, R. H. (2015). What is the evidence of impaired motor skills and motor control among children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)? Systematic review of the literature. *Research in Developmental Disabilities*, 36, 338–357. doi:10.1016/j.ridd.2014.09.023
- Kelly, A. M. C., Margulies, D. S., & Castellanos, F. X. (2007). Recent advances in structural and functional brain imaging studies of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Current Psychiatry Reports*, 9(5), 401–407. doi:10.1007/s11920-007-0052-4
- Kofler, M. J., Rapport, M. D., Sarver, D. E., Raiker, J. S., Orban, S. A., Friedman, L. M., & Kolomeyer, E. G. (2013). Reaction time variability in ADHD: A meta-analytic review of 319 studies. *Clinical Psychology Review*, 33(6), 795–811. doi:10.1016/j.cpr.2013.06.001
- Konrad, K., & Eickhoff, S. B. (2010). Is the ADHD brain wired differently? A review on structural and functional connectivity in attention deficit hyperactivity disorder. *Human Brain Mapping*, 31(6), 904–916. doi:10.1002/hbm.21058
- Laird, A. R., Eickhoff, S. B., Kurth, F., Fox, P. M., Uecker, A. M., Turner, J. A., ... Fox, P. T. (2009). ALE meta-analysis workflows via the brainmap database: Progress towards a probabilistic functional brain atlas. *Frontiers in Neuroinformatics*, 3, 23. doi:10.3389/neuro.11.023.2009
- Lansbergen, M. M., Kenemans, J. L., & Van Engeland, H. (2007). Stroop interference and attention-deficit/hyperactivity disorder: A review and meta-analysis. *Neuropsychology*, 21(2), 251–262. doi:10.1037/0894-4105.21.2.251
- Lei, D., Du, M., Wu, M., Chen, T., Huang, X., Du, X., ... Gong, Q. (2015). Functional MRI reveals different response inhibition between adults and children with ADHD. *Neuropsychology*, 29(6), 874–881. doi:10.1037/neu0000200
- Lijffijt, M., Kenemans, J. L., Verbaten, M. N., & Van Engeland, H. (2005). A meta-analytic review of stopping performance in attention-deficit/hyperactivity disorder: Deficient inhibitory motor control? *Journal of Abnormal Psychology*, 114(2), 216–222. doi:10.1037/0021-843X.114.2.216
- Loo, S. K., & Makeig, S. (2012). Clinical utility of EEG in attention-deficit/hyperactivity disorder: A research update. *Neurotherapeutics*, 9(3), 569–587. doi:10.1007/s13311-012-0131-z
- Mendeley Ltd. (2016). *Mendeley desktop*. Version, 1.17.6. Elsevier/Amsterdam, The Netherlands.
- Mana, S., Paillere Martinot, M. L., & Martinot, J. L. (2010). Brain imaging findings in children and adolescents with mental disorders: A cross-sectional review. *European Psychiatry*, 25(6), 345–354. doi:10.1016/j.eurpsy.2010.04.010
- Matthews, M., Nigg, J. T., & Fair, D. A. (2013). Attention deficit hyperactivity disorder. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 16, 235–266. doi:10.1007/7854_2013_249
- McCarthy, H., Skokauskas, N., & Frodl, T. (2014). Identifying a consistent pattern of neural function in attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis. *Psychological Medicine*, 44(4), 869–880. doi:10.1017/S0033291713001037
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ... Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, 4(1), 1. doi:10.1186/2046-4053-4-1

- Montori, V. M., Wilczynski, N. L., Morgan, D., & Haynes, R. B. (2005). Optimal search strategies for retrieving systematic reviews from Medline: Analytical survey. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 330(7482), 68. doi:10.1136/bmj.38336.804167.47
- Mowinckel, A. M., Pedersen, M. L., Eilertsen, E., & Biele, G. (2015). A meta-analysis of decision-making and attention in adults with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 19(5), 355–367. doi:10.1177/1087054714558872
- Mullane, J. C., & Klein, R. M. (2008). Literature review: Visual search by children with and without ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 12(1), 44–53. doi:10.1177/1087054707305116
- Nakao, T., Radua, J., Rubia, K., & Mataix-Cols, D. (2011). Gray matter volume abnormalities in ADHD: Voxel-based meta-analysis exploring the effects of age and stimulant medication. *American Journal of Psychiatry*, 168(11), 1154–1163. doi:10.1176/appi.ajp.2011.11020281
- Noreika, V., Falter, C. M., & Rubia, K. (2013). Timing deficits in attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD): Evidence from neurocognitive and neuroimaging studies. *Neuropsychologia*, 51(2), 235–266. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2012.09.036
- Paloyelis, Y., Mehta, M. A., Kuntsi, J., & Asherson, P. (2007). Functional MRI in ADHD: A systematic literature review. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 7(10), 1337–1356. doi:10.1586/14737175.7.10.1337
- Pappa, I., Mileva-Seitz, V. R., Bakermans-Kranenburg, M. J., Tiemeier, H., & Van IJzendoorn, M. H. (2015). The magnificent seven: A quantitative review of dopamine receptor d4 and its association with child behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 57, 175–186. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.08.009
- Pauli-Pott, U., & Becker, K. (2015). Time windows matter in ADHD-related developing neuropsychological basic deficits: A comprehensive review and meta-regression analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 55, 165–172. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.04.011
- Perlov, E., Philipsen, A., Matthies, S., Drieling, T., Maier, S., Bubl, E., ... Tebartz Van, E. L. (2009). Spectroscopic findings in attention-deficit/hyperactivity disorder: Review and meta-analysis. *The World Journal of Biological Psychiatry : the Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 10(4 Pt 2), 355–365. doi:10.1080/15622970802176032
- Plichta, M. M., & Scheres, A. (2014). Ventral-striatal responsiveness during reward anticipation in ADHD and its relation to trait impulsivity in the healthy population: A meta-analytic review of the fMRI literature. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 38, 125–134. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.07.012
- Polanczyk, G. V., Salum, G. A., Sugaya, L. S., Caye, A., & Rohde, L. A. (2015). Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 56(3), 345–365. doi:10.1111/jcpp.12381
- Posner, J., Park, C., & Wang, Z. (2014). Connecting the dots: A review of resting connectivity MRI studies in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychology Review*, 24(1), 3–15. doi:10.1007/s11065-014-9251-z
- Rogers, J. C., & De Brito, S. A. (2015). Cortical and subcortical gray matter volume in youths with conduct problems a meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 73, 1–9. doi:10.1001/jamapsychiatry.2015.2423
- Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., & Kujirai, T. (2009). Short latency intracortical inhibition: One of the most popular tools in human motor neurophysiology. *The Journal of Physiology*, 587(1), 11–12. doi:10.1113/jphysiol.2008.162461
- Rubia, K. (2011). “Cool” inferior frontostriatal dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder versus “hot” ventromedial orbitofrontal-limbic dysfunction in conduct disorder: A review. *Biological Psychiatry*, 69(12), e69–87. doi:10.1016/j.biopsych.2010.09.023
- Rubia, K., Alegria, A., & Brinson, H. (2014b). Imaging the ADHD brain: Disorder-specificity, medication effects and clinical translation. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 14(5), 519–538. doi:10.1586/14737175.2014.907526
- Rubia, K., Alegria, A. A., & Brinson, H. (2014a). Brain abnormalities in attention-deficit hyperactivity disorder: A review. *Rev Neurol*, 58, S3–S18.
- Rubia, K., Halari, R., Christakou, A., & Taylor, E. (2009). Impulsiveness as a timing disturbance: Neurocognitive abnormalities in attention-deficit hyperactivity disorder during temporal processes and normalization with methylphenidate. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1525), 1919–1931. doi:10.1098/rstb.2009.0014
- Rudo-Hutt, A. S. (2015). Electroencephalography and externalizing behavior: A meta-analysis. *Biological Psychology*, 105, 1–19. doi:10.1016/j.biopsycho.2014.12.005
- Sampson, M., McGowan, J., Cogo, E., Grimshaw, J., Moher, D., & Lefebvre, C. (2009). An evidence-based practice guideline for the peer review of electronic search strategies. *Journal of Clinical Epidemiology*, 62(9), 944–952. doi:10.1016/j.jclinepi.2008.10.012
- Schunemann, H. J., Oxman, A. D., Higgins, J. P., Vist, G. E., Glasziou, P. P., & Guyatt, G. H. (2008). Presenting results and “Summary of Findings” tables. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions: Cochrane Book Series*, 335–357. doi:10.1002/9780470712184.ch11
- Schwartz, K., & Verhaeghen, P. (2008). ADHD and Stroop interference from age 9 to age 41 years: A meta-analysis of developmental effects. *Psychological Medicine*, 38(11), 1607–1616. doi:10.1017/S003329170700267X
- Seymour, K. E., Reinblatt, S. P., Benson, L., & Carnell, S. (2015). Overlapping neurobehavioral circuits in ADHD, obesity, and binge eating: Evidence from neuroimaging research. *CNS Spectrums*, 20(4), 401–411. doi:10.1017/S1092852915000383

- Sigi Hale, T., Hariri, A. R., & McCracken, J. T. (2000). Attention-deficit/hyperactivity disorder: Perspectives from neuroimaging. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 6(3), 214–219. doi:10.1002/1098-2779(2000)6:3<214::AID-MRDD9>3.0.CO;2-M
- Smith, V., Devane, D., Begley, C. M., & Clarke, M. (2011). Methodology in conducting a systematic review of systematic reviews of healthcare interventions. *BMC Medical Research Methodology*, 11(1), 15. doi:10.1186/1471-2288-11-15
- Snyder, S. M., & Hall, J. R. (2006). A meta-analysis of quantitative EEG power associated with attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 23(5), 440–455. doi:10.1097/01.wnp.0000221363.12503.78
- Sonuga-Barke, E. J. S. (2005). Causal models of attention-deficit/hyperactivity disorder: From common simple deficits to multiple developmental pathways. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1231–1238. doi:10.1016/j.biopsych.2004.09.008
- Spencer, A. E., Uchida, M., Kenworthy, T., Keary, C. J., & Biederman, J. (2014). Glutamatergic dysregulation in pediatric psychiatric disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 75(11), 1226–1241. doi:10.4088/JCP.13r08767
- Stanley, J. A., Kipp, H., Greisenegger, E., MacMaster, F. P., Panchalingam, K., Pettegrew, J. W., ... Bukstein, O. G. (2006). Regionally specific alterations in membrane phospholipids in children with ADHD: An in vivo 31P spectroscopy study. *Psychiatry Research*, 148(2–3), 217–221. doi:10.1016/j.psychres.2006.08.003
- Swanson, J. M., Kinsbourne, M., Nigg, J., Lanphear, B., Stefanatos, G. A., Volkow, N., ... Wadhwa, P. D. (2007). Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: Brain imaging, molecular genetic and environmental factors and the dopamine hypothesis. *Neuropsychology Review*, 17(1), 39–59. doi:10.1007/s11065-007-9019-9
- Swanson, J. M., Sergeant, J. A., Taylor, E., Sonuga-Barke, E. J. S., Jensen, P. S., & Cantwell, D. P. (1998). Attention-deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. *Lancet*, 351(9100), 429–433. doi:10.1016/S0140-6736(97)11450-7
- Tannock, R. (1998). Attention deficit hyperactivity disorder: Advances in cognitive, neurobiological, and genetic research. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 39(1), 65–99. doi:10.1111/1469-7610.00304
- Tye, C., McLoughlin, G., Kuntsi, J., & Asherson, P. (2011). Electrophysiological markers of genetic risk for attention deficit hyperactivity disorder. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13(March), e9. doi:10.1017/S1462399411001797
- Valera, E. M., Faraone, S. V., Murray, K. E., & Seidman, L. J. (2007). Meta-analysis of structural imaging findings in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 61(12), 1361–1369. doi:10.1016/j.biopsych.2006.06.011
- Van Ewijk, H., Heslenfeld, D. J., Zwiers, M. P., Buitelaar, J. K., & Oosterlaan, J. (2012). Diffusion tensor imaging in attention deficit/hyperactivity disorder: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(4), 1093–1106. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.01.003
- Van Mourik, R., Oosterlaan, J., & Sergeant, J. A. (2005). The Stroop revisited: A meta-analysis of interference control in AD/HD. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 46(2), 150–165. doi:10.1111/j.1469-7610.2004.00345.x
- Weyandt, L., Swentosky, A., & Gudmundsdottir, B. G. (2013). Neuroimaging and ADHD: FMRI, PET, DTI findings, and methodological limitations. *Developmental Neuropsychology*, 38(4), 211–225. doi:10.1080/87565641.2013.783833
- Wilczynski, N. L., & Haynes, R. B. (2007). EMBASE search strategies achieved high sensitivity and specificity for retrieving methodologically sound systematic reviews. *Journal of Clinical Epidemiology*, 60(1), 29–33. doi:10.1016/j.jclinepi.2006.04.001
- Willis, W. G., & Weiler, M. D. (2005). Neural substrates of childhood attention-deficit/hyperactivity disorder: Electroencephalographic and magnetic resonance imaging evidence. *Developmental Neuropsychology*, 27(1), 135–182. doi:10.1207/s15326942dn2701_6
- Yeo, B. T. T., Krienen, F. M., Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Lashkari, D., Hollinshead, M., ... Buckner, R. L. (2011). The organization of the human cerebral cortex estimated by intrinsic functional connectivity. *Journal of Neurophysiology*, 106(3), 1125–1165. doi:10.1152/jn.00338.2011
- Zimmer, L. (2009). Positron emission tomography neuroimaging for a better understanding of the biology of ADHD. *Neuropharmacology*, 57(7–8), 601–607. doi:10.1016/j.neuropharm.2009.08.001