

## Original Article

# Association between *DRD4* rs1800955 polymorphism and Attention Deficit Hyperactivity Disorder susceptibility among children from Northwest of Iran: a case-control study

Nava Khalilinejad<sup>1</sup>, Leila Mehdizadeh Fanid<sup>1,2</sup>, Narges Zeinalzadeh<sup>1\*</sup>, Maedeh Alizadeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Division of Cognitive Neuroscience, Department of Psychology, Faculty of Education and Psychology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Department of Nursing, Faculty of Nursing and Allied Medical Sciences, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran

\*Corresponding author; E-mail: nzeinalzadeh@gmail.com

Received: 15 Sep 2019 Accepted: 4 Dec 2019 First Published online: 23 Jun 2021  
Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):260-266

## Abstract

**Background:** Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is the most common and highly heritable psychiatric disorder among children which affects 3-7% of them all around the world. ADHD characterized by some symptoms such as extreme and inappropriate levels of motor activity, impulsivity and inattentiveness. Several studies have reported the association between dopaminergic pathway and ADHD. Dopamine D4 receptor gene and its variants is one of the major candidates that have been studied for ADHD. Here we investigated the genetic association between *DRD4* rs1800955 polymorphism and ADHD among children from Northwest of Iran.

**Methods:** This case-control study includes 200 ADHD children and 157 controls aged 6-12 years. ADHD children were diagnosed according to DSM-IV and Conners scale and were genotyped by PCR-Restriction fragment length polymorphism (RFLP) technique.

**Results:** Frequencies of genotypes CC, TT and CT were 48 (24%), 15 (7.5%) and 137 (68.5%) in patient group and 50 (31.85% ), 7 (4.46%) and 100 (63.69 %) in control group respectively. According to results, there was no significant association between case and control groups ( $p>0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study indicate that there is no significant association between *DRD4* rs1800955 polymorphism and attention deficit hyperactivity disorder among children from Northwest of Iran.

**Keywords:** Attention deficit hyperactivity disorder, rs1800955, *DRD4* gene, Genetic association, Iran

**How to cite this article:** Khalilinejad N, Mehdizadeh Fanid L, Zeinalzadeh N, Alizadeh M. [Association between *DRD4* rs1800955 polymorphism and Attention Deficit Hyperactivity Disorder susceptibility among children from Northwest of Iran: a case-control study]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3):260-266. Persian.

## مقاله پژوهشی

# پیوستگی چندشکلی rs1800955 ژن DRD4 و استعداد ابتلا به اختلال نقص توجه/ بیش فعالی در بین کودکان منطقه شمال غرب ایران: یک مطالعه مورد-شاهدی

نوا خلیلی نژاد<sup>۱</sup>، لیلی مهدی زاده فانید<sup>۱\*</sup>، نرگس زینال زاده<sup>۱\*</sup>، مائده علیزاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۲</sup>بخش علوم اعصاب شناختی، گروه روانشناسی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۳</sup>گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران  
 \*نویسنده مسئول؛ ایمیل: nzeinalzadeh@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۸/۶/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۳ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۴/۲  
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳): ۲۶۰-۲۶۶

## چکیده

**زمینه:** اختلال نقص توجه/بیش فعالی (ADHD) شایع‌ترین اختلال روانی در میان کودکان است که وراثت‌پذیری بالایی دارد و حدود ۳ تا ۷ درصد کودکان در سراسر جهان را درگیر می‌کند. این اختلال با نشانه‌هایی همچون سطوح بالا و نامناسب فعالیت فیزیکی، رفتارهای تکانشی و نقص توجه شناخته می‌شود. بسیاری از مطالعات ارتباط میان مسیرهای دوپامینرژیک و اختلال مذکور را گزارش کرده‌اند و ژن گیرنده دوپامین D4 (DRD4) و واریانت‌های آن به‌عنوان یکی از کاندیدهای اصلی در مطالعه‌ی این بیماری شناخته شده‌اند. در مطالعه حاضر پیوستگی ژنتیکی میان چندشکلی rs1800955 ژن DRD4 و اختلال نقص توجه/بیش فعالی در کودکان شمال غرب ایران مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار:** افراد مورد بررسی در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی، شامل ۲۰۰ کودک مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش فعالی و ۱۵۷ کودک شاهد در دامنه سنی ۶ تا ۱۲ ساله بودند. کودکان مبتلا از طریق متن بازنگری شده‌ی پنجمین راهنمای تشخیصی و آماری ناهنجاری‌های روانی و آزمون کانرز تشخیص داده شدند و ژنوتیپ آنها با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی گردید.

**یافته‌ها:** فراوانی ژنوتیپ‌های TT، CT، CC در گروه بیمار به ترتیب ۴۸ (۲۴٪)، ۱۳۷ (۶۸٪) و ۱۵ (۷٪) و در گروه شاهد به ترتیب ۵۰ (۳۱/۸۵٪)، ۱۰۰ (۶۳/۶۹٪) و ۷ (۴/۴۶٪) محاسبه شد و بر اساس نتایج، تفاوت معناداری بین گروه‌های شاهد و بیمار مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج، بین چندشکلی rs1800955 ژن DRD4 و اختلال نقص توجه/بیش فعالی در کودکان شمال غرب ایران همراهی معنی‌داری وجود نداشت.

**کلیدواژه‌ها:** اختلال نقص توجه/بیش فعالی، rs1800955 ژن DRD4، پیوستگی ژنتیکی، ایران

**نحوه استناد به این مقاله:** خلیلی نژاد ن، مهدی زاده فانید ل، زینال زاده ن، علیزاده م. پیوستگی چندشکلی rs1800955 ژن DRD4 و استعداد ابتلا به اختلال نقص توجه/بیش فعالی در بین کودکان منطقه شمال غرب ایران: یک مطالعه مورد-شاهدی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳): ۲۶۰-۲۶۶

حق تألیف برای مؤلف محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر گردیده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

## مقدمه

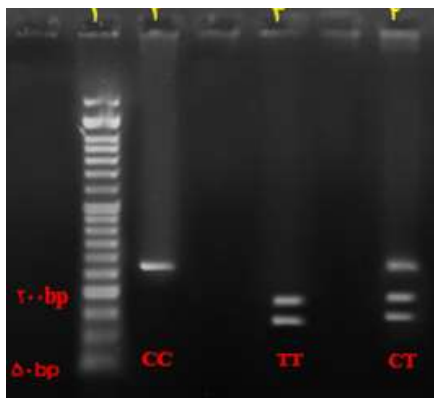
آغاز شد که این ژن را با صفت اشتیاق برای تجارب تازه مرتبط می‌کرد (۱۵)؛ به‌علاوه موش‌هایی که ژن مذکور در آن‌ها حذف شده بود، در مقایسه با گروه شاهد، پاسخ بالایی به کوکائین و متامفتامین از خود بروز دادند که با افزایش در رفتار تحرکی نمود پیدا کرد (۱۶). این موش‌ها همچنین اشتیاق کاهش‌یافته برای تجارب تازه از خود بروز دادند (۱۷). (*DRD4-521 C/T (rs1800955)*) یکی از رایج‌ترین چندشکلی‌های ژن *DRD4* است که در ۵۲۱ جفت باز بالادست محل شروع رونویسی قرار دارد (۱۸). تخمین زده می‌شود که این چندشکلی بر فعالیت پروموتور اثر می‌گذارد و بررسی‌های عملکردی نیز حاکی است که آل T آن در مقایسه با آل C سبب کاهش ۴۰ درصدی در فعالیت رونویسی ژن *DRD4* در سلول‌های ترانسفکت شده می‌شود (۱۹). هدف اصلی از انجام این مطالعه، بررسی مورد-شاهدی ارتباط میان چندشکلی - *C/T521* در ناحیه‌ی پروموتوری ژن *DRD4* و استعداد ابتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی در کودکان منطقه‌ی شمال غرب ایران می‌باشد.

## روش کار

این مطالعه مورد-شاهدی به صورت مقطعی و در دانشگاه تبریز انجام پذیرفت. نمونه‌ها شامل ۲۰۰ کودک مبتلا و ۱۵۷ کودک شاهد ۶ تا ۱۲ ساله از جمعیت شمال غرب ایران بودند. معیار ورود گروه بیمار، ابتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی نوع ترکیبی بود که توسط متخصص تشخیص داده‌شده و این تشخیص با استفاده از آزمون *Conners Scale* تأیید شده بود. معیار ورود گروه شاهد نیز عدم ابتلا به بیماری‌های عصبی و روانی و نیز اختلالات یادگیری بود. همچنین کودکان مورد مطالعه طبق مصاحبه‌ی حضوری با والدین، هیچ دارویی را در آن زمان مصرف نمی‌کردند. قبل از نمونه‌گیری، رضایت آگاهانه و کتبی از والدین تمامی کودکان شرکت‌کننده در این پژوهش دریافت شد. مطالعه حاضر قبلاً با کد ۱۳۸۴،۷۷۲ به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز رسیده بود. به‌منظور بررسی ژنوتیپ چندشکلی *rs1800955* ژن *DRD4*، نمونه‌های خونی تهیه و در لوله‌های خون‌گیری حاوی *EDTA* به‌عنوان ماده‌ی ضد انعقاد نگهداری شدند. سپس *DNA* ژنومی با استفاده از روش نمک اشباع استخراج گردید (۲۰). برای تعیین ژنوتیپ‌ها از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز-چندشکلی طولی قطعات برشی (*PCR-RFLP*) استفاده شد. توالی آغازگرهای پیشرو و معکوس مورد استفاده در این مطالعه به‌ترتیب ۵' - *AGAGGCTTGACATCATTGGCT-3'* و ۵' - *CGTGTACAAGTCTGGTCCT-3'* بودند که با استفاده از نرم‌افزار اولیگو آنالایزر نسخه ۷ طراحی شده و با مراجعه به ابزار بلاست اختصاصیت آن‌ها تأیید شده بود. برای واکنش *PCR*

اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD*) یک اختلال روانی با شیوع بالا است که به‌عنوان رایج‌ترین اختلال روانی تشخیص داده شده در میان کودکان شناخته می‌شود. بر اساس مطالعات مختلف، شیوع اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی در میان کودکان ۷-۳٪ و نسبت ابتلای پسران به دختران ۴ به ۱ گزارش شده است (۱). طبق ملاک‌های مطرح‌شده در نسخه‌ی بازنگری شده‌ی راهنمای تشخیصی-آماري اختلالات روانی (*DSM-IV-TR*)، اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی با خصوصياتی همچون سطوح بالا و نامناسب فعالیت فیزیکی، رفتارهای تکانشی و نقص توجه شناخته می‌شود. افراد مبتلا به اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی ممکن است به‌طور عمده نشانه‌های نقص توجه یا بیش‌فعالی و به‌صورت رایج‌تر ترکیبی از این دو (زیرگروه ترکیبی) را بروز دهند (۲). فرکانس شیوع این اختلال در شهرهای مختلف ایران ۵ تا ۲۰ درصد گزارش شده است، همچنین به‌صورت جزئی‌تر شیوع شکل همراه با نارسایی توجه در دختران ۴٪ درصد و در پسران ۲/۲۵ درصد و شکل همراه با بیش‌فعالی در دختران ۳/۴ درصد و در پسران ۴ درصد گزارش شده است (۳). علائم این اختلال مزمن هستند و بر اساس گزارش‌ها در ۲/۵ تا ۴/۹ درصد موارد تا بزرگسالی ادامه پیدا می‌کنند (۴). همچنین، بر اساس مطالعات مختلف، کودکان مبتلا با احتمال بالاتری به سوءمصرف مواد مخدر روی می‌آورند و در بزرگسالی ممکن است عملکرد تحصیلی پایین‌تری نسبت به همسالان غیرمبتلای خود داشته باشند (۵). اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی یک بیماری چندعاملی است و ژنتیک نقش مهمی در وراثت این بیماری ایفا می‌کند؛ به‌علاوه مطالعات دوقلوها، نرخ وراثت این اختلال را ۸۰-۷۰٪ تخمین زده‌اند (۶). مطالعات پیوستگی نیز حاکی از ارتباط میان اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی و ژن‌های کاندید از جمله *SNAP-25*، *GRIN2B*، *SLC9A9* و ژن‌های گیرنده‌ی دوپامین می‌باشند (۷-۱۰). اخیراً مطالعات دارویی، تصویربرداری از سیستم عصبی و مطالعات بر روی حیوانات مدل، عدم تعادل سیستم دوپامینرژیک را در این اختلال مشخص کرده‌اند (۱۱) و ژن گیرنده‌ی دوپامین *D4* (*DRD4*) و تنوعات آن، یکی از اصلی‌ترین ژن‌های مورد مطالعه در ارتباط با اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی می‌باشد (۱۲). این ژن، کدکننده‌ی یک گیرنده‌ی متصل شونده به *G* پروتئین است که به خانواده‌ی گیرنده‌های شبه *D2* تعلق دارد و در نقش بازدارنده‌ی آدنیلیل سیکلاز عمل کرده (۱۳) و به‌عنوان هدف داروهای ضد روان‌پریشی، نقش کلیدی در درمان اختلالات روانی ایفا می‌کند (۱۴). توجه بیشتر به ژن *DRD4* به‌عنوان ژن کاندید در اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی به وسیله‌ی مطالعات پیوستگی

بررسی قرار گرفت. فراوانی آللهای C و T در گروه بیمار به ترتیب ۵۸/۹۵، ۴۱/۰۵ درصد و در گروه کنترل ۶۳/۶۹، ۳۶/۳۱ درصد بود (جدول ۳). در توزیع آلی میان گروه‌های بیمار و کنترل نیز تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند ( $p=0/14$ ). تعادل هاردی واینبرگ نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست‌آمده نمایانگر برقرار نبودن تعادل مذکور در تمامی گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد (جدول ۳) ( $p=0/000$ ).



تصویر ۱: بررسی تنوعات ژنوتیپی و آلی چندشکلی rs1800955 ژن DRD4. محصولات PCR بعد از هضم توسط آنزیم محدودگر *FspI* الکتروفورز شدند. ستون ۱. نشانگر وزن مولکولی ۵۰ جفت بازی، ستون ۲. هموزیگوت برش نخورده (CC)، ستون ۳. هموزیگوت برش خورده (TT)، ستون ۴. هتروزیگوت (CT).

جدول ۱: فراوانی دختران و پسران در گروه مبتلا به اختلال نقص توجه/ بیش فعالی و گروه کنترل.

جنسیت	اختلال نقص توجه/ بیش فعالی تعداد (درصد)	کنترل تعداد (درصد)	مربع کای	P
مؤنث	۳۹ (۱۹/۵)	۷۶ (۴۸/۴۱)	۳۳/۶۶	<0/00001
مذکر	۱۶۱ (۸۰/۵)	۸۱ (۵۱/۵۹)		
جمع	۲۰۰	۱۵۷		

جدول ۲: توزیع ژنوتیپی چندشکلی rs1800955 ژن DRD4 در بین گروه مبتلا به اختلال نقص توجه/ بیش فعالی و گروه کنترل

گروه	جمع	ژنوتیپ CC تعداد (درصد)	ژنوتیپ CT تعداد (درصد)	ژنوتیپ TT تعداد (درصد)	p آزمون
بیمار	۲۰۰	۴۸ (۲۴)	۱۳۷ (۶۸/۵)	۱۵ (۷/۵)	
کنترل	۱۵۷	۵۰ (۳۱/۵۸)	۱۰۰ (۶۳/۶۹)	۷ (۴/۴۶)	0/17
مذکر	۱۶۱	۸۹ (۵۸/۵۵)	۵۸ (۳۸/۱۶)	۵ (۳/۲۹)	0/1
بیمار	۸۱	۲۶ (۳۲/۱)	۵۳ (۶۵/۴۳)	۲ (۲/۴۷)	
کنترل	۳۹	۱۱ (۲۸/۲۱)	۲۶ (۶۶/۶۷)	۲ (۵/۱۳)	0/17
بیمار	۷۶	۲۴ (۳۱/۵۸)	۴۷ (۶۱/۸۴)	۵ (۶/۵۸)	0/17

در مجموع ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰ پیکومول از هر کدام از آغازگرهای پیشرو و معکوس با ۱۰ میکرو لیتر مستر میکس PCR (Ampliqon، دانمارک) مخلوط شده و حجم آن با آب دو بار تقطیر به ۲۰ میکرو لیتر رسانده شد. مراحل PCR نیز شامل ۵ دقیقه حرارت اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس ۳۵ چرخه شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای واسرشت سازی، ۶۴ درجه سانتی‌گراد برای اتصال به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط، به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه برای بسط نهایی بود که با دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad، آمریکا) انجام شد. بعد از انجام واکنش PCR برای تعیین ژنوتیپ از آنزیم *FspI* (Thermo Scientific، آمریکا) استفاده شد و نمونه‌های PCR در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه تحت تیمار با آنزیم مذکور قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در ژل آگارز ۲ درصد بارگذاری و با استفاده از نشانگر وزن مولکولی (SMOBio، تایوان) تعیین ژنوتیپ شدند. در ادامه، بررسی‌های آماری با استفاده از ویرایش ۲۲ نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و معنی‌دار بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کای دو محاسبه شد. مقدار  $p \leq 0.05$  به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. همچنین تعادل هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون کای دو مورد بررسی قرار گرفت.

## یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش شامل ۲۰۰ کودک مبتلا به اختلال نقص توجه/ بیش فعالی و ۱۵۷ کودک کنترل بودند. گروه بیمار، شامل ۱۶۱ پسر و ۳۹ دختر و گروه کنترل شامل ۸۱ پسر و ۷۶ دختر بودند (جدول ۱). بررسی آماری بر اساس جنسیت حاکی از معنادار بودن اختلاف تعداد پسران و دختران در دو گروه کنترل و مبتلا بود ( $p < 0/00001$ ). بر این اساس فراوانی پسران در گروه بیمار ۸۰/۵ درصد در مقابل ۵۱/۷۵۲ درصد در گروه کنترل بود. فراوانی دختران نیز در گروه بیمار ۱۹/۵ درصد در مقابل ۴۸/۴۱ درصد در گروه کنترل بود. محصول واکنش PCR ۲۷۲ جفت باز بود که آنزیم *FspI* در حضور آلل T قطعه مذکور را برش داده و به قطعات ۱۱۴ و ۱۵۸ جفت بازی تبدیل می‌کند ولی در حضور آلل C برش صورت نگرفته و قطعه‌ی ۲۷۲ جفت باز باقی می‌ماند (تصویر ۱). فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در گروه بیمار به ترتیب ۲۴، ۶۸/۵، ۷/۵ درصد و در گروه کنترل به ترتیب ۳۱/۸۵، ۶۳/۶۹، ۴/۴۶ درصد محاسبه شدند (جدول ۲) اما بررسی آماری نشان داد که این اختلاف در فراوانی ژنوتیپی میان گروه‌های بیمار و کنترل معنادار نمی‌باشد ( $p=0/17$ ). فراوانی ژنوتیپها همچنین در هر کدام از گروه‌های دختران و پسران مورد مطالعه بررسی گردید ولی در این مورد نیز تفاوت آماری معناداری مشاهده نگردید (در گروه پسران،  $p=0/1$  و در گروه دختران،  $p=0/17$ ) (جدول ۲). فراوانی آلی در گروه بیمار و کنترل نیز مورد

جدول ۳: توزیع آللی چندشکلی rs1800955 در *DRD4* در بین گروه مبتلا به اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی و گروه کنترل

گروه	جمع	آلل C تعداد (درصد)	آلل T تعداد (درصد)	P کای دو تعادل هاردی- واینبرگ*
بیمار	۴۰۰	۲۳۳ (۵۸/۹۵)	۱۶۷ (۴۱/۰۵)	۰/۰۰۰
کنترل	۳۱۴	۲۰۰ (۶۳/۶۹)	۱۱۴ (۳۶/۳۱)	۰/۰۰۰
مذکر بیمار	۳۲۲	۲۳۶ (۷۳/۵۵)	۸۶ (۲۶/۴۵)	۰/۰۰۰
کنترل	۱۶۲	۱۰۵ (۶۴/۶۹)	۵۷ (۳۵/۳۱)	۰/۰۰۰
مؤنث بیمار	۷۸	۴۸ (۶۱/۵۴)	۳۰ (۳۸/۴۶)	۰/۰۱۱
کنترل	۱۵۲	۹۵ (۶۲/۵۰)	۵۷ (۳۷/۵۰)	۰/۰۰۵

\* P آزمون کای دو

## بحث

بر اساس اطلاعات به دست آمده از تصویربرداری سیستم عصبی مرکزی و مطالعات بر روی حیوانات مدل، عدم تعادل سیستم دوپامینرژیک ممکن است نقش کلیدی در پاتوفیزیولوژی اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی داشته باشد (۱۱)، همچنین شواهد حاکی از ارتباط میان چندشکلی‌های مختلف ژن‌های کد کننده‌ی مسیرهای پیام‌رسانی دوپامین به ویژه ژن *DRD4* (کد کننده‌ی پروتئین گیرنده‌ی دوپامین *D4*) و اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی می باشد (۱۲)؛ در مطالعات قبلی تنوعات مختلف ژن *DRD4* به عنوان عوامل خطر اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی معرفی شده‌اند (۲۱). چندشکلی مورد مطالعه، *DRD4* -521 C/T (rs1800955)، یک تنظیم کننده‌ی رونویسی می باشد که در ارتباط با اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی و سایر اختلالات روانی مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۹). بر اساس گزارش‌ها، آلل T این چندشکلی آلل اجدادی محسوب می گردد و بررسی عملکردی آن نشان می دهد که این آلل در مقایسه با آلل C سبب کاهش فعالیت رونویسی ژن *DRD4* می شود (۱۸). نتایج حاصل از برخی مطالعات حاکی از این است که برهم کنش میان چندشکلی‌های مختلف می تواند بر فعالیت‌های رونویسی و ترجمه اثر بگذارد (۲۲). از آنجایی که چندشکلی مورد بررسی ممکن است در عدم تعادل پیوستگی با سایر چندشکلی‌های ژن *DRD4* باشد، این مسئله می تواند استعداد ابتلا به اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی را تحت تأثیر قرار دهد. به منظور دستیابی به نتایج دقیق‌تر در مطالعه حاضر، کودکان مبتلا به اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی از طریق علائم اختصاصی تشخیص داده شده و این تشخیص توسط آزمون کانرز تأیید شد. در نهایت و بر طبق نتایج بدست آمده، در مطالعه حاضر ارتباط معناداری میان چندشکلی *DRD4* -521 C/T و استعداد ابتلا به اختلال نقص

توجه/ بیش‌فعالی در کودکان شمال غرب ایران مشاهده نشد. از دلایل مختلف این مشاهده می توان به برهمکنش میان عوامل استعداد محیطی و ژنتیکی و همچنین تأثیر نژادهای مختلف بر برهمکنش‌های ژن-ژن و ژن-محیط اشاره کرد. به منظور جلوگیری از بروز مسئله دوم در این مطالعه، از یک گروه نژادی استفاده شد، باین حال، نتایج حاصل از تعادل هاردی- واینبرگ نشان می دهد که جمعیت مورد مطالعه ممکن است کاملاً همگن نبوده باشد. نتایج به دست آمده همچنین نشان می دهد که شیوع اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی با جنسیت در ارتباط بوده و این اختلال در جمعیت پسران بیمار حاضر در مطالعه، شایع‌تر از دختران می باشد. اولین مطالعه بر روی اثرات عملکردی چندشکلی *DRD4* -521 C/T در سال ۱۹۹۹ توسط Okuyama و همکاران انجام شد که با استفاده از ژن گزارشگر کلرامفنیکول استیل ترانسفراز با پروموتور رده‌ی سلولی رتینو بلاستوما Y79 صورت گرفت و نتایج حاصل نشان داد که آلل T فعالیت پروموتور را در مقایسه با آلل C تا ۴۰٪ کاهش می دهد (۱۹) آنها همچنین در مطالعه‌ی دیگری ارتباط میان ژنوتیپ CC چندشکلی *DRD4* -521 C/T و صفت اشتیاق برای کسب تجارب تازه در جمعیت ژاپن را گزارش کردند (۲۳)؛ نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه‌ای بر روی جمعیت مجارستان توسط Ronai و همکاران بر روی ۱۰۹ دانش آموز سالم تأیید شد (۲۴). در سال ۲۰۰۵ Hawi و همکاران با مطالعه‌ای روی جمعیت ایرلند ارتباطی میان ژن‌های کد کننده‌ی انتقال دهنده‌های دوپامین به خصوص *DRD4* و اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی یافتند (۲۵) در ادامه در سال ۲۰۰۸ Yang و همکاران در مطالعه‌ای روی ۹۵ پسر سالم و ۹۴ پسر مبتلای کره ای پیوستگی میان rs1800955 و اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی را گزارش کردند (۲۶). قبلاً نیز ارتباط مثبت ولی ضعیفی بین rs1800955 و استعداد ابتلا به نقص توجه/ بیش‌فعالی و یک ارتباط قویتر بین اختلال مذکور و چند شکلی *DRD4* -616 C/G توسط Lowe و همکاران گزارش شده بود (۲۷). با وجود این نتایج مثبت، در مطالعه‌ی دیگری بر روی جمعیت برزیل هیچ ارتباط معناداری میان این چندشکلی و اختلال مورد نظر یافت نشد (۲۸). همچنین ارتباط معناداری میان این چندشکلی و ماندگاری اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی در بزرگسالی در جمعیت چین نیز مشاهده نشد (۲۹). علی‌رغم اینکه مطالعه حاضر موفق به یافتن ارتباط معنادار میان چندشکلی *DRD4* -521 C/T و اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی نشد؛ بر اساس اطلاعات موجود، برای اولین بار ارتباط میان چندشکلی *DRD4* -521 C/T (rs1800955) و اختلال نقص توجه/ بیش‌فعالی در میان کودکان منطقه شمال غرب ایران در این مطالعه

مطالعه و نیز کارکنان بیمارستان کودکان تبریز جهت همکاری صمیمانه در انجام پروژه حاضر تشکر و قدردانی کنند.

### ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز با شماره مرجع ۱۳۸۴،۷۷۲ به تایید رسیده است.

### منابع مالی

این مطالعه با حمایت مالی نویسندگان دوم و سوم صورت گرفته است.

### منافع متقابل

مولفان اظهار می دارند که منافع متقابلی از تالیف یا انتشار این مقاله ندارند.

### مشارکت مولفان

ن خلیلی نژاد و ن زینال زاده و همکاران طراحی، اجرا و تحلیل نتایج مطالعه را برعهده داشته اند. ن خلیلی نژاد همچنین ویراست اولیه مقاله را تالیف نموده و ن زینال زاده نسخه نهایی آن را خوانده و تایید کرده است.

مورد بررسی قرار گرفته است. وجود نتایج متفاوت حاصل از مطالعات این چندشکلی در جمعیت‌های مختلف نشان‌دهنده‌ی این موضوع می باشد که تفاوت‌های نژادی و جغرافیایی می توانند بر این چندشکلی و همچنین چندشکلی‌های دیگر اثرگذار باشند. باوجود بررسی ۳۵۷ نمونه، به‌منظور تأیید نتایج به‌دست آمده مطالعه‌ی تعداد نمونه بیشتر و هم‌چنین برهم‌کنش میان چندشکلی‌های مختلف ژن مورد نظر پیشنهاد می‌شود.

### نتیجه‌گیری

مطالعات متعددی بر ارتباط بین ژن‌های مسیر دوپامینرژیک بویژه DRD4 و استعداد ابتلا به نقص توجه/بیش‌فعالی تاکید کرده‌اند. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مقایسه‌ی آن با نتایج مطالعات دیگر، می‌توان نتیجه گرفت که چندشکلی 521 C/T - DRD4 یک چندشکلی بهینه برای بررسی اختلال نقص توجه/بیش‌فعالی در جمعیت مورد بررسی نمی‌باشد و به نظر می‌رسد برای تأیید اهمیت ژن DRD4 بررسی سایر مناطق چند شکل این ژن حائز توجه باشد.

### قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از زحمات سرکار خانم مینا آدم پور و همچنین خانواده‌های کودکان مورد

## References

- Kirley A, Hawi Z, Daly G, McCarron M, Mullins C, Millar N, et al. Dopaminergic system genes in ADHD: toward a biological hypothesis. *Neuropsychopharmacology*. 2002 Oct;27(4):607-19. doi: 10.1016/S0893-133X(02)00315-9. PMID: 12377397.
- Singh A, Yeh CJ, Verma N, Das AK. Overview of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Young Children. *Health Psychol Res*. 2015 Apr 13;3(2):2115. doi: 10.4081/hpr.2015.2115. PMID: 26973960; PMCID: PMC4768532.
- Shoostary MH, Chimeh N, Najafi M, Mohamadi MR, Yousefi-Nourae R, Rahimi-Mvagher A. The prevalence of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in Iran: A systematic review. *Iran J Psychiatry*. 2010 Summer;5(3):88-92. PMID: 22952498; PMCID: PMC3430505.
- Simon V, Czobor P, Bálint S, Mészáros A, Bitter I. Prevalence and correlates of adult attention-deficit hyperactivity disorder: meta-analysis. *Br J Psychiatry*. 2009 Mar;194(3):204-11. doi: 10.1192/bjp.bp.107.048827. PMID: 19252145.
- Molina BS, Howard AL, Swanson JM, Stehli A, Mitchell JT, Kennedy TM, Epstein JN, Arnold LE, Hechtman L, Vitiello B, Hoza B. Substance use through adolescence into early adulthood after childhood - diagnosed ADHD: findings from the MTA longitudinal study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2018 Jun;59(6):692-702. doi: 10.1111/jcpp.12855.
- Chang Z, Lichtenstein P, Asherson PJ, Larsson H. Developmental twin study of attention problems: high heritabilities throughout development. *JAMA Psychiatry*. 2013 Mar;70(3):311-8. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2013.287. PMID: 23303526.
- Bobb AJ, Castellanos FX, Addington AM, Rapoport JL. Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005 Jan 5;132B(1):109-25. PMID: 15700344.
- Rohde LA, Szobot C, Polanczyk G, Schmitz M, Martins S, Tramontina S. Attention-deficit/hyperactivity disorder in a diverse culture: do research and clinical findings support the notion of a cultural construct for the disorder?. *Biological psychiatry*. 2005 Jun 1;57(11):1436-41.
- Dorval KM, Wigg KG, Crosbie J, Tannock R, Kennedy JL, Ickowicz A, et al. Association of the glutamate receptor subunit gene GRIN2B with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Genes Brain Behav*. 2007 Jul;6(5):444-52. doi:

- 10.1111/j.1601-183X.2006.00273.x. Epub 2006 Sep 8. PMID: 17010153; PMCID: PMC4833492.
10. Lasky-Su J, Neale BM, Franke B, Anney RJ, Zhou K, Maller JB, et al. Genome-wide association scan of quantitative traits for attention deficit hyperactivity disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2008 Dec 5;147B(8):1345-54. doi: 10.1002/ajmg.b.30867. PMID: 18821565.
  11. Kooij SJ, Bejerot S, Blackwell A, Caci H, Casas-Brugué M, Carpentier PJ, et al. European consensus statement on diagnosis and treatment of adult ADHD: The European Network Adult ADHD. *BMC Psychiatry*. 2010 Sep 3;10:67. doi: 10.1186/1471-244X-10-67. PMID: 20815868; PMCID: PMC2942810.
  12. LaHoste GJ, Swanson JM, Wigal SB, Glabe C, Wigal T, King N, et al. Dopamine D4 receptor gene polymorphism is associated with attention deficit hyperactivity disorder. *Mol Psychiatry*. 1996 May;1(2):121-4. PMID: 9118321.
  13. Woods AS. The dopamine D(4) receptor, the ultimate disordered protein. *J Recept Signal Transduct Res*. 2010 Oct;30(5):331-6. doi: 10.3109/10799893.2010.513842. PMID: 20836733; PMCID: PMC2953771.
  14. Sanyal S, Van Tol HH. Review the role of dopamine D4 receptors in schizophrenia and antipsychotic action. *Journal of psychiatric research*. 1997 Mar 1;31(2):219-32. doi: 10.1016/S0022-3956(96)00039-8.
  15. Ebstein RP, Novick O, Umansky R, Priel B, Osher Y, Blaine D, Bennett ER, Nemanov L, Katz M, Belmaker RH. Dopamine D4 receptor (D4DR) exon III polymorphism associated with the human personality trait of Novelty Seeking. *Nat Genet*. 1996 Jan;12(1):78-80. doi: 10.1038/ng0196-78. PMID: 8528256.
  16. Rubinstein M, Phillips TJ, Bunzow JR, Falzone TL, Dziewczapolski G, Zhang G, et al. Mice lacking dopamine D4 receptors are supersensitive to ethanol, cocaine, and methamphetamine. *Cell*. 1997 Sep 19;90(6):991-1001. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80365-7. PMID: 9323127.
  17. Dulawa SC, Grandy DK, Low MJ, Paulus MP, Geyer MA. Dopamine D4 receptor-knock-out mice exhibit reduced exploration of novel stimuli. *J Neurosci*. 1999 Nov 1;19(21):9550-6. doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-21-09550.1999. PMID: 10531457; PMCID: PMC6782928.
  18. Gizer IR, Ficks C, Waldman ID. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet*. 2009 Jul;126(1):51-90. doi: 10.1007/s00439-009-0694-x. Epub 2009 Jun 9. PMID: 19506906.
  19. Okuyama Y, Ishiguro H, Toru M, Arinami T. A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 May 10;258(2):292-5. doi: 10.1006/bbrc.1999.0630. PMID: 10329380.
  20. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988 Feb 11;16(3):1215. doi: 10.1093/nar/16.3.1215. PMID: 3344216; PMCID: PMC334765.
  21. Maitra S, Mukherjee K, Chatterjee M, Karmakar A, Sinha S, Mukhopadhyay K. Pilot study revealed association of DRD4 promoter variants with ADHD associated functional deficit in Indian probands. *Glob J Med Res* 2016.
  22. Das M, Bhowmik AD, Bhaduri N, Sarkar K, Ghosh P, Sinha S, et al. Role of gene-gene/gene-environment interaction in the etiology of eastern Indian ADHD probands. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2011;35(2):577-87. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.12.027.
  23. Okuyama Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T. Identification of a polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with the human novelty seeking personality trait. *Mol Psychiatry* 2000;5(1):64-9. doi: 10.1038/sj.mp.4000563.
  24. Ronai Z, Szekely A, Nemoda Z, Lakatos K, Gervai J, Staub M, et al. Association between Novelty Seeking and the -521 C/T polymorphism in the promoter region of the DRD4 gene. *Mol Psychiatry* 2001;6(1):35-8. doi: 10.1038/sj.mp.4000832.
  25. Hawi Z, Segurado R, Conroy J, Sheehan K, Lowe N, Kirley A, et al. Preferential Transmission of Paternal Alleles at Risk Genes in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Am J Hum Genet* 2005;77(6):958-65. doi: 10.1086/498174.
  26. Yang J-W, Jang W-S, Hong SD, Ji YI, Kim DH, Park J, et al. A case-control association study of the polymorphism at the promoter region of the DRD4 gene in Korean boys with attention deficit-hyperactivity disorder: evidence of association with the -521 C/T SNP. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32(1):243-8. doi: 10.1016/j.pnpbp.2007.08.016.
  27. Lowe N, Kirley A, Mullins C, Fitzgerald M, Gill M, Hawi Z. Multiple marker analysis at the promoter region of the DRD4 gene and ADHD: evidence of linkage and association with the SNP-616. *Am J Med Genet B Neuropsychiatric Genet* 2004;13:33-7. doi: 10.1002/ajmg.b.30071.
  28. Akutagava-Martins G, Ferraz G, Genro J, Guimarães A, Polanczyk G, Zeni C, et al. Dopamine D4 receptor gene: protective and risk alleles for ADHD in Brazilian population. *Eur. Child Adolesc Psychiatry* 2010;19(3): 237-57. doi: 10.1007/s00787-010-0090-z.
  29. Li Y, Baker-Ericzen M, Ji N, Chang W, Guan L, Qian Q, et al. Do SNPs of DRD4 gene predict adult persistence of ADHD in a Chinese sample? *Psychiatry Res* 2013;205(1-2):143-50. doi: 10.1016/j.psychres.2012.08.016.