

11262



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE MEDICINA  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
MÉDICAS ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

L-TRIPTÓFANO LIBRE Y AMPLITUD DEL SEGMENTO N1/P2  
DEL POTENCIAL AUDITIVO EVOCADO DE LATENCIA  
LARGA EN LA PACIENTE DIABÉTICA TIPO 2 CON  
DEPRESIÓN MAYOR

# **T E S I S**

PARA LA OBTENCIÓN DE GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

P R E S E N T A :

MÉDICO PSIQUIATRA  
MARTÍN FELIPE VÁZQUEZ ESTUPIÑÁN

TUTOR: DR. GABRIEL MANJARREZ GUTIÉRREZ

MÉXICO, D. F. OCTUBRE 2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Este trabajo de investigación fue realizado bajo la dirección del Dr. Gabriel Manjarrez Gutiérrez, Investigador Titular "A" del Instituto Mexicano del Seguro Social e Investigador del SNI nivel I, Laboratorio de Neuroquímica del Desarrollo de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional, Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.*

**INDICE****pagina**

Agradecimientos	4
Dedicatoria	5
Abreviaturas	6
I. Antecedentes	7
II. Planteamiento del Problemas	17
III. Hipótesis	17
IV. Objetivo	17
V. Material y Métodos	18
VI. Consideraciones éticas	25
VII. Recursos para el estudio	26
VIII. Resultados	27
IX. Discusión	36
X. Conclusiones	43
XI. Referencias bibliográficas	44
XII. Anexos	53

## **AGRADECIMIENTOS**

*Esta tesis no hubiera sido posible sin la invaluable ayuda y asesoría de: Gabriel Manjarrez, Margarita Delgado, Rocío Herrera, Juan Garduño, Kathrine Jáuregui, Jorge Caraveo, Carlos Bertanga, Luis Ruiz, Liliana Toledo, Irma Cortay, Sergio Islas, Cristina Revilla, Elisa Junco, Sandra Campos, Misael González, Niels Wachter, Jesús Kumate, Miguel Cruz, Israel Grijalva, Jorge Escobedo, Guadalupe Castro, Rutila Castañeda, Dolores Mino, Alejandro Reyes, Alejandro Gómez, Adolfo Chávez, María Antonieta Araujo, Silvia Palomo, Lilia Degollada, Paula Hernández, Virgilia Soto, Juan José Guerrero, Abelardo Altamirano, Luis Felipe, Beto, Aurelia García, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Instituto Mexicano del Seguro Social, Eli Lilly y los pacientes que nos regalaron el privilegio de su confianza.*

**DEDICATORIA**  
**A Rosaura y Javier**

## Abreviaturas más frecuentemente usadas en el texto

<b>AAN</b>	Aminoácidos neutros (valina, leucina, isoleucina, tirosina y fenilalanina)
<b>FL</b>	Fracción libre del triptófano plasmático
<b>HbA<sub>1c</sub></b>	Hemoglobina glicada
<b>5-HIAA</b>	Ácido 5-hidroxi-indol-acético
<b>5-HT</b>	serotonina o 5-hidroxitriptamina
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>L-Trp</b>	Triptófano
<b>MADRS</b>	Escala de depresión de Montgomery-Åsberg
<b>mseg</b>	milisegundos
<b>μV</b>	microvolt
<b>PAELL</b>	Potencial auditivo evocado de latencia larga ó larga latencia
<b>N1/P2</b>	Componente formado por una onda negativa a los 100 mseg (N1) y una onda positiva a los 200 mseg (P2) en los potenciales evocados auditivos
<b>TrpOH</b>	Enzima triptófano hidroxilasa

## **I. Antecedentes Científicos**

### **I. A Relación diabetes mellitus-depresión mayor**

#### **1.A.1. Epidemiología**

La depresión mayor en México<sup>1-3</sup> y en otros países<sup>4-5</sup> es dos a tres veces más frecuente en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (diabetes tipo 2) comparados con controles de la misma edad y sexo. La asociación de diabetes mellitus y depresión se ha relacionado con el descontrol metabólico y deterioro en su calidad de vida.<sup>6-8</sup> En nuestro medio, el sexo femenino y tener 15 años después del diagnóstico de la diabetes tipo 2 son factores asociados a la presencia de depresión.<sup>1</sup> La elevada prevalencia de depresión mayor ha sido atribuida a diversos factores de riesgo; como los cambios en el estilo de vida, la presencia de complicaciones crónicas de la diabetes tipo 2, falla en los mecanismos defensivos y de afrontamiento del individuo al medio ambiente, así como el inadecuado apoyo social y familiar.

#### **1.A.2. Diagnóstico de Depresión Mayor**

El diagnóstico de depresión mayor (depresión) se establece clínicamente con los criterios del manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales de la Asociación Psiquiátrica Americana (DSM-IV).<sup>9</sup> Para la detección y evaluación de la severidad de la depresión son útiles las escalas autoaplicables, como el Inventario de Depresión de Beck (BDI)<sup>10</sup> y las escalas aplicadas por el entrevistador como la escala de depresión de Montgomery-Åsberg (MADRS).<sup>11</sup> Ambas escalas muestran confiabilidad y validez adecuada en sus versiones en español para los pacientes depresivos con enfermedad médica crónica. Dado que algunos síntomas de la diabetes tipo 2 descontrolada se sobreponen al cuadro clínico de la depresión (fatiga, insomnio, alteraciones del apetito), es necesario tener especial atención a las manifestaciones cognitivas de la depresión (ideas de culpa, minusvalía y suicidas) al momento de hacer el diagnóstico diferencial. Las manifestaciones de melancolía (un subtipo clínico específico de depresión) como la lentitud psicomotriz y la anhedonia se presentan en personas con dieta libre de L-triptófano (L-Trp).<sup>12</sup> Tanto la diabetes



tipo 2 como la depresión mayor representan síndromes heterogéneos con una gran variabilidad biológica.

### 1.A.3. Diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2

La diabetes tipo 2 representa el 99% del total de pacientes con diabetes. El diagnóstico de diabetes tipo 2 se establece generalmente después de los 40 años, aunque recientemente la incidencia de la enfermedad muestra un incremento entre niños y adolescentes obesos.<sup>13</sup> En la última década el criterio de la Asociación Americana de Diabetes ha determinado una concentración de glucosa sérica en ayuno mayor de 110 mg/dL para el diagnóstico de la enfermedad.<sup>14</sup> Este cambio refleja la necesidad de diagnosticar la diabetes tipo 2 en etapas más tempranas de su historia natural, de tal manera que su adecuado control permita la prevención o el retraso de las complicaciones crónicas. Actualmente, el criterio diagnóstico de la diabetes tipo 2 es la medición de glucosa en ayuno mayor ó igual a 110 mg/dL ó un valor superior a 200 mg en la curva de tolerancia oral a la glucosa. Por lo general la diabetes tipo 2 se presenta en pacientes con sobrepeso u obesidad ( $IMC \geq 26$ ), no se asocia a cetosis y no requiere habitualmente de insulina en los primeros años de evolución. Mientras que en la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) existe deficiencia de insulina desde el inicio de las manifestaciones clínicas. La diabetes tipo 2 se describe como un estado de resistencia a la insulina (frecuentemente con hiperinsulinemia), se asocia con alteraciones en el perfil de lípidos e hipertensión arterial. En sus fases avanzadas, los pacientes diabéticos desarrollan déficit en la producción de insulina y complicaciones crónicas micro y macrovasculares.<sup>15</sup>

### I.B Fisiopatología de la depresión mayor en el paciente diabético, participación de la serotonina

A pesar de la alta prevalencia y persistencia de la depresión en los pacientes diabéticos adultos, poco se ha avanzado en el conocimiento de su fisiopatología. Una de las hipótesis implica disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.

### I.B.1. Eje hipotálamo hipófisis adrenal

Una de las alteraciones más frecuentes que se presentan durante la depresión, es la modificación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, se expresa por hipercortisolemia y prueba de supresión a la dexametasona anormal, también estas alteraciones son producidas por la propia diabetes mellitus.<sup>16</sup> La hipercortisolemia secundaria a la diabetes tipo 2 induce desensibilización funcional de los autoreceptores serotoninérgicos somato-dendríticos 5HT<sub>1A</sub>, localizados en las neuronas serotoninérgicas ubicadas en los núcleos del raquí en el tallo cerebral.<sup>17-19</sup>

### I.B.2. Participación de los neurotransmisores en la depresión mayor

La depresión es el resultado de una disfunción compleja de diversos sistemas de neurotransmisores en el sistema nervioso central (SNC) entre los que destacan la serotonina (5-HT, 5-hidroxitriptamina), dopamina y noradrenalina. También participan péptidos como la sustancia P, el Factor liberador de Corticotropina (CFR) y la Hormona Adrenocorticotrófica (ACTH). Sin embargo, a consecuencia del impacto terapéutico que han tenido los inhibidores selectivos de la recaptura de la serotonina en los pacientes deprimidos, gran parte de la investigación científica mundial en los últimos años se ha enfocado a la participación de este neurotransmisor en la fisiopatología de la enfermedad.<sup>20-21</sup>

En nuestro laboratorio hemos observado que ratas con diabetes mellitus secundaria a la administración de estreptozotocina tienen una disminución de la síntesis de serotonina, que se acompaña de una menor actividad de la enzima triptófano-5-hidroxilasa (TrpOH) y una menor concentración de L-Trp en el hipotálamo, corteza y tallo cerebrales.<sup>22</sup> Además de una menor cantidad de la fracción libre del L-Trp (FL) en plasma, similar hallazgo también lo hemos observado en el plasma de los niños con diabetes mellitus insulino-dependiente. Lo que sugiere que probablemente exista una disminución del aminoácido en el cerebro y consecuentemente una disminución de la síntesis de 5-HT cerebral igual a la observada en el cerebro de la rata diabética.

Otros autores han demostrado que la actividad de la monoamino-oxidasa está disminuida.<sup>23</sup> Además, se ha observado que los sistemas enzimáticos que participan en la síntesis de 5-HT pueden alterarse en la diabetes mellitus a través de mecanismos de glucosilación y nitración. La Trp-OH, es inactivada por peroxinitrito,<sup>24</sup> efecto que es contrarrestado por dihitotreitól, cisteína, glutatión, metionina, L-Trp y ácido úrico. La disminución de actividad de la Trp-OH puede deberse a una disminución en la concentración de la fracción libre L-Trp plasmático, aminoácido precursor de la síntesis de la serotonina o bien a cambios cinéticos de la enzima; se ha observado una disminución de la  $V_{max}$  y un aumento de la  $K_m$ , estos hallazgos nos permiten plantear la posibilidad que la diabetes un cambio conformacional de la Trp-OH como mecanismo biológico que explique los cambios observados en los animales diabéticos. Por otra parte, se ha observado en los individuos deprimidos y diabéticos que el cortisol se encuentra elevado. El cortisol induce la actividad de la triptófano dioxigenasa hepática y con ello el L-Trp se desvía a otra vías metabólicas, como la vía del ácido nicotínico y ácido cinurénico. Por lo que, la disponibilidad de L-Trp al cerebro está disminuida en pacientes con DM1; aspecto que se ha confirmado en nuestro laboratorio.

### I.B.3. Precursores: L-Trp y aminoácidos neutros

El L-Trp es un aminoácido esencial en el organismo, que proviene de las proteínas de la dieta; viaja en el plasma en dos formas: el 90% unido a albúmina y el 10% restante en forma libre (FL). La relación que guardan estas dos fracciones es la que regula la cantidad de aminoácido disponible para su paso al cerebro. El L-Trp compite con otros aminoácidos neutros (AAN) (valina, leucina, isoleucina, tirosina y fenilalanina) por el transportador a nivel de la barrera hematoencefálica (BHE). Por ello, es importante determinar la concentración de los AAN para conocer la relación no solo del L-Trp unido y libre, sino con los competidores por su sitio de transporte en la BHE. En el niño con diabetes mellitas tipo 1, se ha encontrado disminución del L-Trp libre en plasma<sup>26, 27</sup> En ratas diabéticas, se ha demostrado una disminución de la

disponibilidad de L-Trp a nivel cerebral<sup>23</sup>. En ratas con obesidad inducida por dieta se ha identificado alteración en la actividad de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> y 5-HT<sub>2A</sub> así como de la proteína transportadora de serotonina.<sup>28</sup> Cangiano y cols.<sup>29</sup> encontraron niveles plasmáticos normales de L-Trp en 20 pacientes con diabetes tipo 2. Sin embargo, observaron niveles elevados de los AAN que sugieren fuertemente una disminución de la disponibilidad de la FL del L-Trp a nivel central en estos pacientes diabéticos. Fierabracci y cols<sup>30</sup> demostraron un incremento en la concentración de la FL después de una carga de L-Trp en 15 pacientes con diabetes tipo 1 descontrolada, cuando fueron comparados con pacientes controlados, lo que sugiere que existe un catabolismo aumentado del aminoácido.

Una vez que el aminoácido se encuentra en el tejido nervioso, de inmediato es captado por las neuronas serotoninérgicas en donde es hidroxilado en la posición 5 por la triptófano-5-hidroxilasa (TrpOH), el 5-hidroxitriptófano formado es descarboxilado por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos, para producir 5-HT ó serotonina.<sup>31</sup>

Todos estos datos en conjunto, muestran múltiples relaciones entre los trastornos metabólicos característicos de la DM y la neurotransmisión serotoninérgica central.

#### **I. B. 4. Proyecciones serotoninérgicas y serotonina**

La 5-HT, es una indolamina sintetizada por un grupo de neuronas de los núcleos del ráfé localizados en el tallo cerebral.<sup>32</sup> Los axones derivados de estas neuronas inervan varias áreas importantes del SNC, como son: médula espinal, cerebelo, área preóptica, sistema extrapiramidal, hipocampo y células endimarias de los ventrículos. Además, la mayor concentración de serotonina en la corteza cerebral se localiza en la corteza sensorial primaria, especialmente en la capa IV de la corteza somatosensorial y auditiva.<sup>33</sup> Estas áreas reciben aferencia serotoninérgica procedente del tallo cerebral.

La serotonina cerebral está involucrada en la fisiopatología de diversos trastornos psiquiátricos incluyendo la depresión,<sup>34-36</sup> conducta obsesivo-compulsiva,<sup>37</sup> adicciones, ansiedad generalizada y autoagresión.<sup>38</sup> Este subgrupo de trastornos mentales generalmente tiene una respuesta favorable a los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina. Esta respuesta tiene relación con la concentración elevada de serotonina plaquetaria en pacientes con DM, sin embargo, existen otros hallazgos que contradicen estas observaciones, ya que también la concentración baja de serotonina plaquetaria se encuentra en pacientes con respuesta a antidepresivos. Estos resultados sugieren que la serotonina plaquetaria no tiene una relación consistente con la síntesis de serotonina cerebral.

### **I.C Indicadores biológicos de la actividad serotoninérgica cerebral**

Para el estudio de la actividad de la vía serotoninérgica cerebral en la depresión, existen indicadores bioquímicos (FL del L-Trp plasmático, niveles de ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIAA) en líquido cefalorraquídeo (LCR), actividad enzimática (MAO), cantidad de precursores y neurotransmisores), electrofisiológicos (N1/P2 del potencial auditivo evocado de latencia larga) e imagenológicos (tomografía por emisión de positrones con marcaje de receptores serotoninérgicos a través de ligandos específicos).

#### **I.C.1. Indicadores bioquímicos**

La actividad serotoninérgica ha sido estudiada a través de indicadores bioquímicos periféricos como los niveles de 5-HIAA en LCR y el transporte de serotonina en las plaquetas.<sup>39</sup> Sin embargo, dichos indicadores tienen una correlación cuestionable con la actividad serotoninérgica cerebral. Recientemente, se ha utilizado el marcaje de la actividad de la proteína de recaptura de la serotonina (SERT) y de receptores específicos para serotonina, de los cuáles se han identificado hasta el momento más de 15 subtipos diferentes en diversas regiones cerebrales,<sup>40</sup> a través de la tomografía por emisión de positrones (PET). Los estudios en el LCR, tienen el inconveniente de su naturaleza invasiva y dolorosa y las evaluaciones con PET el costo y la complejidad tecnológica que requieren.<sup>41</sup> Por otra parte, la depleción de L-Trp en la dieta, se ha

utilizado como un método para inducir síntomas depresivos e identificar las regiones cerebrales implicadas.<sup>42</sup> El hecho de que no todos los individuos que son depletados de L-Trp desarrollen síntomas depresivos, parece deberse al polimorfismo del promotor del gen del transportador de serotonina (5HTTLPR). El genotipo s/s se asocia con riesgo elevado de síntomas depresivos, particularmente en aquellos individuos con historia familiar de depresión, mientras que el alelo "l" es un factor protector.<sup>43</sup> Strobel y cols encontraron un efecto significativo del genotipo 5-HTTLPR sobre la amplitud dependiente de la intensidad de los potenciales evocados. En este caso los individuos con el genotipo l/l mostraron una mayor dependencia de la intensidad del estímulo en comparación con el genotipo l/s.<sup>44</sup>

Petrisic<sup>45</sup> demostró mediante hibridación in situ, que la DM inducida por estreptozotocina y aloxana reduce la expresión del mRNA de los transportadores de dopamina y noradrenalina hasta en un 20% y 28% respectivamente en hipotálamo y *locus coeruleus*. Mientras que la expresión de mRNA de la proteína transportadora de serotonina se incrementaba en un 28% a las 4 semanas y hasta un 44% a las 8 semanas en los núcleos dorsales del raquí. A nivel plaquetario también se ha demostrado un incremento en la recaptura de serotonina en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina.<sup>46</sup> Los modelos psicofarmacológicos de depresión en animales han mostrado una respuesta disminuida en ratas diabéticas, con requerimientos de dosis de antidepresivos 8 a 20 veces mayores, en comparación a las ratas no diabéticas.<sup>47-50</sup>

### I.C.2. Indicadores neurofisiológicos

Los potenciales evocados son el registro amplificado de la actividad eléctrica neuronal frente a estímulos acústicos, visuales o somáticos.<sup>51</sup> Proporcionan datos acerca de cómo diversas estructuras del encéfalo procesan la información.<sup>52</sup> Los potenciales evocados pueden clasificarse de acuerdo al momento de aparición después del estímulo que los genera, en tempranos, intermedios y tardíos. Los tempranos, representan la actividad de la vía auditiva hasta las estructuras del tallo cerebral,

mientras que los tardíos, la actividad de la corteza cerebral auditiva, específicamente la corteza primaria. Las ondas que componen el registro de los potenciales evocados se designan como positivas (P) o negativas (N) y se les añade un número de acuerdo al orden de presentación.<sup>53</sup> La serotonina cerebral participa en la modulación de la respuesta de las neuronas de la capa IV del área auditiva de la corteza cerebral en el lóbulo temporal a nivel del área 41 de Brodman, sitio generador del segmento N1/P2 del potencial auditivo evocado de latencia larga (PAELL).<sup>54</sup> La concentración de 5-HT en ésta región cortical auditiva primaria regula la amplitud del segmento N1/P2, probablemente a través de GABA. Por lo tanto, al existir una disminución del neurotransmisor, se produce un aumento de la respuesta neuronal y consecuentemente, un incremento de la amplitud de dicho segmento como en el caso de lesiones inducidas por la droga "éxtasis" (MDMA)<sup>55-56</sup> Ver Figura 1.

A los PAELL<sup>57</sup> se les estudia la amplitud, la latencia y la pendiente que relaciona la amplitud de la respuesta en función de la intensidad sonora de los estímulos (ASF)<sup>58-59</sup> a diferentes decibeles. El componente N1 es el pico más negativo que se presenta entre 60 y 120 milisegundos después de la estimulación y el componente P2 es el pico más positivo entre los 110 y los 210 milisegundos, después de N1. La estabilidad intraindividual de los PAELL es excelente en las correlaciones test-retest con una  $r=0.90$ .<sup>59-61</sup>

La amplitud de N1 en sujetos sanos con estímulos de 60 dB mide  $2.8 \mu V \pm 1.7$ , la amplitud de P2 es de  $5.6 \mu V \pm 2.8$ , la latencia promedio de N1 es de  $91.9 \pm 11$  y la de P2 es de  $167.3 \pm 24.3$  mseg. Los antidepresivos inhibidores de la recaptura de la serotonina como la zimelidina y la fluvoxamina inducen un aplanamiento de la pendiente ASF de los PAELL. Mientras que la deficiente actividad serotoninérgica incrementa esta pendiente. En pacientes con depresión mayor la respuesta aguda a 150 mg de fluvoxamina se correlacionó con la pendiente ASF de N1/P2.<sup>62</sup>

Figura 1. A)

B)

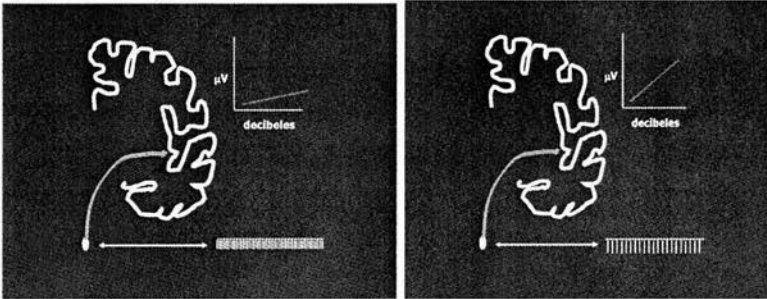


Figura 1. A) El disparo rápido de las neuronas del rafe induce un aplanamiento o respuesta inhibida de la pendiente relacionada a la intensidad del estímulo en la corteza auditiva. B) Por el contrario, una frecuencia de disparo disminuida produce una pendiente más pronunciada.

#### I.D Relación de la concentración de la FL del L-Trp, serotonina en la corteza cerebral y la amplitud del N1/P2 del PAELL

En resultados de nuestro laboratorio observamos que ratas desnutridas *in utero* tienen un aumento de la 5-HT cerebral que correlaciona con la concentración de la FL del L-Trp plasmático y con la intensidad del N1/P2 de los PAELL.<sup>63</sup> Además, en el modelo experimental, se demostró un alto valor predictivo de éstos parámetros con la síntesis del neurotransmisor. Por lo tanto, la FL del L-Trp y la intensidad del N1/P2 del PAELL pueden ser indicadores no invasivos de la actividad serotoninérgica cerebral. Por otro lado, se demostró también en ratas con diabetes mellitus experimental que la síntesis de 5-HT cerebral disminuyó junto con la FL del L-Trp plasmático.<sup>64</sup> Este hecho también lo hemos observado en niños con diabetes tipo 1.<sup>26</sup> Las diferencias fisiopatológicas entre el tipo 1 y 2 de la diabetes generan una serie de preguntas relacionadas con estos hallazgos.

Hasta el momento no se han estudiado suficientemente los indicadores biológicos de actividad serotoninérgica en pacientes deprimidos con diabetes tipo 2 ante la presencia de ambas enfermedades. Dado que la evolución de los cuadros depresivos en las pacientes con diabetes tipo 2 frecuentemente se complica con cronicidad, recurrencia y resistencia al tratamiento,<sup>5</sup> este conocimiento puede ser relevante para su mejor comprensión. La literatura refleja una controversia respecto a la utilidad de la amplitud del segmento N1/P2



para demostrar los efectos de la depleción del L-Trp sobre la síntesis y la actividad moduladora de la serotonina. Hasta el momento se desconoce si la concentración de la FL del L-Trp y la amplitud de N1/P2 difieren en pacientes con diabetes tipo 2 y depresión respecto a pacientes con ausencia de estas enfermedades.

## **II. Planteamiento del problema**

¿Está disminuida la concentración de la FL del L-Trp (precursor de la serotonina) y aumentada la amplitud y pendiente del segmento N1/P2 del PAELL (actividad serotoninérgica cerebral disminuida) en pacientes diabéticas tipo 2 con depresión mayor comparadas con pacientes con una o ninguna de estas enfermedades?

## **III. Hipótesis**

Las pacientes diabéticas tipo 2 con depresión mayor tienen disminución de la concentración de la FL del L-Trp plasmático y aumento de la amplitud y pendiente del segmento N1/P2 del PAELL comparadas con las pacientes con diabetes tipo 2, depresión y controles sanas.

## **IV. Objetivo**

Comparar si las pacientes diabéticas deprimidas presentan disminución de la concentración de la FL del L-Trp plasmático y aumento de la amplitud y pendiente del segmento N1/P2 del PAELL en relación a las pacientes diabéticas no deprimidas, pacientes deprimidas sin diabetes y controles sanas.

## V. Material y Métodos

**1. Diseño del estudio:** Transversal, comparativo.

**2. Universo de trabajo:** Pacientes de sexo femenino<sup>66</sup> con diabetes tipo 2 de reciente inicio (hasta 3 años de evolución) con ausencia de complicaciones crónicas, que acudían al primer nivel de atención médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, y que presentaban 10 puntos o más en la prueba de tamizaje con el inventario de depresión de Beck (BDI).

**3. Descripción de las variables:**

Según la metodología:

a) **Variable de resultado:** presencia o ausencia de depresión mayor.

b) **Variables predictoras:** Niveles séricos de L-triptófano libre, amplitud y pendiente del segmento N1/P2 de la respuesta auditiva evocada de latencia larga.

c) **Descripción operativa:**

**Diabetes mellitus tipo 2:** glucosa en ayuno mayor ó igual a 126 mg/dL ó un valor superior a 200 mg en la curva de tolerancia oral a la glucosa en pacientes obesas (IMC $\geq$ 26), sin antecedentes de cetosis, que no requerían insulina al momento del estudio. Variable de tipo nominal que se evaluó como presente o ausente. El diagnóstico fue establecido de acuerdo a los criterios de la Asociación Americana de Diabetes.

**Depresión mayor:** presencia de al menos cinco síntomas de los nueve posibles, durante dos semanas de acuerdo a los criterios del DSM-IV (ver anexo C), se evaluó por médico psiquiatra a través de entrevista clínica y aplicación de escala de Montgomery-Åsberg (mínimo de 20 puntos). Se realizó un tamizaje mediante la aplicación del BDI.<sup>67</sup> Se consideró anormal cuando las pacientes obtuvieron 10 puntos o más. Variable nominal, se evaluó como presente o ausente. Se incluyeron solo las pacientes con ausencia de síntomas psicóticos, sin antecedentes personales o familiares de enfermedad bipolar y con al menos un criterio de melancolía (anhedonia, falta de reactividad del

ánimo, retardo psicomotor, variación circadiana del humor, despertares tempranos y culpa inapropiada). Las pacientes deprimidas requerían presentar las manifestaciones depresivas después del inicio de la diabetes, por lo tanto, no se incluyeron pacientes con depresión crónica leve de inicio en la infancia (distimia).

**Concentración sérica de L-triptófano libre:** Es la diferencia resultante del L-Trp total menos la fracción unida a albúmina. Se obtuvo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), es una variable cuantitativa continua, el resultado es expresado en  $\mu\text{mol/L}$ .

**Amplitud del segmento N1/P2 del PAELL:** Es la distancia que existe entre las crestas del N1 y P2, obtenidas mediante la medición del registro gráfico del PAELL a través de los cursores en el equipo de cómputo utilizado para su obtención. Es una variable cuantitativa continua y se expresa en  $\mu\text{V}$ . Se calculó la confiabilidad del evaluador con dos mediciones en días diferentes.

**Pendiente del segmento N1/P2 del PAELL:** Es el resultado de la regresión lineal simple de la amplitud de N1/P2 ante estímulos de diferente intensidad en decibeles.

#### 4. Selección de la muestra

a) **Tamaño de la muestra:** Se consultaron las tablas de Cohen<sup>68</sup> para tamaño de la muestra para cuatro grupos y aplicación de ANOVA. Para calcular el índice del tamaño del efecto se utilizó la fórmula  $f = S_m/S$  donde  $S_m$  es la desviación estándar de las 4 medias en relación a la gran media, y  $S$  es la desviación estándar común para la distribución de cada grupo. Con tamaños de muestra desiguales encontrados en la literatura, las desviaciones son ponderadas de acuerdo al tamaño de la muestra correspondiente.

$$S_m = \sqrt{\sum n_i (X_i - X_c)^2 / N}$$

Donde  $n_i$  es el número de sujetos en cada grupo, y  $N$  es el total del tamaño de la muestra para todos los grupos combinados.  $(X_i - X_c)^2$  representa la desviación de cada media en relación a la gran media. Se cuenta con un estudio nacional<sup>27</sup> que encontró niveles de L-Trp en pacientes con diabetes tipo 1 de  $3.49 \pm 0.92 \mu\text{mol/L}$   $n = 22$  y en el grupo control  $10.49 \pm 0.56 \mu\text{mol/L}$   $n = 12$ . Moller<sup>69</sup> reportó a 19 pacientes con depresión con niveles de  $6.0 \pm 1.8 \mu\text{mol/L}$ . Para el grupo de diabetes y depresión se estimó un nivel de  $4.0 \pm 2.0 \mu\text{mol/L}$  ( $n = 10$ ).<sup>70</sup> Por lo tanto,  $X_c = 5.66$  y  $S_m$  es igual a 2.56 por lo que  $f = 1.9$ . Para un poder de 0.90 y una alfa de 0.05 con una  $f > 0.8$  se calcularon al menos 8 pacientes por grupo que se integraron en cuatro grupos:

Grupo diabetes + depresión: pacientes con diabetes tipo 2 y depresión mayor

Grupo diabetes tipo 2: pacientes con diabetes tipo 2 sin depresión mayor

Grupo depresión: pacientes con depresión mayor sin diabetes

Grupo control: mujeres sin depresión mayor o diabetes

#### b) Criterios de inclusión:

**Generales:** Todas las participantes en el estudio son personas del sexo femenino de 35 a 65 años de edad, con audición normal determinada por audiometría tonal, que sabían leer y escribir y aceptaron participar en el estudio.

#### Específicos:

**Grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y depresión mayor:** No más de 3 años de evolución de la diabetes a partir de la fecha del diagnóstico, con glucemia entre 80 y 165 mg/dL en ayuno al momento del estudio, que cumplieron con los criterios para depresión mayor del DSM-IV, BDI  $\geq 10$ , MADRS  $\geq 20$ .

**Grupo de pacientes con diabetes. Pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y ausencia de síntomas depresivos:** No más de 3 años de evolución de la diabetes, con glucemia entre 80 y 165 mg/dL en ayunas al momento del estudio, que no cumplieron los criterios para depresión mayor del DSM-IV, puntaje de la escala BDI menor a 10, y puntaje en la escala MADRS de 0 a 6 puntos.

**Grupo de pacientes con depresión mayor:** pacientes que cumplieron los criterios diagnósticos para depresión mayor del DSM-IV, que no tenían más de tres años de evolución y que su concentración sérica de glucosa en ayuno era menor a 110 mg/dL al momento del estudio, BDI  $\geq$ 10 y MADRS  $\geq$ 20.

**Grupo Control:** glucosa en ayuno menor a 110 mg/dL y ausencia de criterios diagnósticos para depresión mayor en entrevista realizada por psiquiatra, BDI <10, MADRS de 0 a 6 puntos.

**c) Criterios de no inclusión:** consumo de tabaco o alcohol en las últimas 48 horas, embarazo, tratamiento con insulina, alteraciones hidroelectrolíticas, presencia de complicaciones crónicas;\* retinopatía (hemorragias o exudados en retina, presencia de vasos de neoformación), insuficiencia renal (depuración de creatinina menor a 30 ml/min), microalbuminuria (>30 mg/24 h), síntomas de isquemia cardíaca ó EKG sugestivo de isquemia reciente o antigua, isquemia cerebral (ataques isquémicos transitorios o historia de enfermedad vascular cerebral), neuropatía (hipotensión ortostática, diarrea, ulceraciones en miembros inferiores, dolor, hipoestesia o electromiografía anormal), alcoholismo (2 o más puntos en la prueba CAGE: necesidad de suspensión del consumo y tolerancia, alteración de la relación con los demás, sentimientos de culpa respecto a la bebida, síntomas de abstinencia que obligan al consumo matutino de alcohol), otros trastornos mentales como retraso mental (coeficiente intelectual menor a 70), ataques de pánico o esquizofrenia

\* Las pacientes que participan en la cohorte DIMSS (Diabetes en el IMSS) son evaluadas sistemáticamente para la búsqueda de complicaciones crónicas con fotografía de fondo de ojo evaluada por oftalmólogo, EKG con evaluación por cardiólogo, electromiografía (EMG), depuración de creatinina y microalbuminuria en orina de 24 hrs.

(usando los criterios del DSM-IV) y adicciones. Ingestión reciente (menos de quince días) de medicamentos con actividad serotoninérgica (fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, citalopram, fenfluramina, buspirona, litio, sumatriptán o análogos) o anticolinérgica (antihistamínicos, bloqueadores H<sub>1</sub>). No se incluyeron a aquellas pacientes con historia de hipoglucemia severa (pérdida de la conciencia o convulsiones asociadas a niveles de glucosa plasmática o capilar menores a 60 mg/dL). Las pacientes que requerían hospitalización fueron excluidas del estudio.

## **5. Muestreo y Procedimientos**

Las pacientes diabéticas de los grupos diabetes + depresión y diabetes, al ser seleccionadas mediante números aleatorios generados por computadora de las bases de datos de las unidades de medicina familiar fueron citadas a la consulta externa de Psiquiatría. En este servicio se les aplicó el BDI.

Se aplicaron la escala de MADRS y los criterios diagnósticos del DSM-IV para depresión mayor y clasificar a la paciente dentro del grupo correspondiente.

Las pacientes del grupo depresión se obtuvieron de las unidades de medicina familiar que tienen consulta externa psiquiátrica y en donde fue posible identificar depresión sin intercurencia médica. Las personas del grupo control fueron derechohabientes voluntarias que no tenían síntomas depresivos y tenían concentraciones de glucosa normales que acudieron como familiares a la consulta externa de medicina familiar o trabajadoras del Instituto Mexicano del Seguro Social que acuden a los programas institucionales de Fomento a la Salud.

El responsable del proyecto invitó a participar en la investigación a las pacientes que resultaron con depresión indicando la importancia del estudio en el conocimiento del origen de los síntomas depresivos, a las pacientes deprimidas se les ofreció tratamiento antidepresivo supervisado por el Departamento de Psiquiatría, en el Hospital de Especialidades, utilizando inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (fluoxetina 20 mg/día ó equivalentes: sertralina 100 mg/día, paroxetina 20mg/día) o antidepresivos tricíclicos (imipramina 75 a 300 mg/día). Todos los fármacos mencionados se encuentran dentro del cuadro básico del IMSS. Las pacientes con diabetes tipo 2 se encontraban bajo tratamiento con plan médico nutricional con 50% de aporte calórico a base de carbohidratos, 30% de proteínas y 20% de grasas.

Cuando no se lograron niveles de glucosa en ayunas menores o iguales a 120 mg/dL ó HbA<sub>1c</sub> menor o igual a 7.5 % se utilizó manejo farmacológico con metformin (500 a 1000 mg/día) ó glibenclamida (2.5 a 20 mg/día).

Se solicitó la autorización de la paciente a participar en el estudio y una vez aclaradas sus dudas se procedió al llenado de la Hoja de Consentimiento Informado.

Se obtuvo una muestra de 3 ml de sangre total en tubos de borosilicato que contenía solución ACD (citrate de sodio 3.3 mg, ácido cítrico 1.2 mg y dextrosa 3.68 mg, amortiguado con tris-acetato de sodio por cada mL de sangre 150 µL 50 mmol, pH 7.4). Los tubos con las muestras de sangre se protegieron del aire atmosférico sellándolos inmediatamente con papel parafilm, se centrifugaron a 500 g. Se midió el L-triptófano total y el libre mediante el método de HPLC con detección fluorométrica de Peat y cols.<sup>71-72</sup> Para disminuir las posibles variaciones atribuibles al ritmo circadiano, la obtención de las muestras de sangre se realizó entre las 7:30 y las 8:00 AM, después de 12 horas de ayuno. En el caso de las mujeres que aún menstruaban se tomó la muestra en los primeros cinco días posteriores al final de la menstruación. Las muestras de L-Trp se analizaron en el Laboratorio de Neuroquímica del Desarrollo de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas del Hospital



de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Además se les determinó a todas las pacientes glucosa sérica en ayuno y hemoglobina glucosilada.

Potenciales evocados auditivos: Se llevaron a cabo en el Servicio de Audiología del HECMN SXXI, para su realización se confirmó la audición normal en las pacientes con audiometría tonal. La evaluación se hizo cegada respecto al estado clínico de las pacientes. Los estudios se efectuaron a las 8:00 AM para evitar interferencias acústicas, en un cuarto oscuro, aislado acústica y eléctricamente, con la paciente en reposo por 10 min, con los ojos cerrados. Se realizó un registro en 2 canales (A1, A2) con Cz como referencia. Se aplicaron series de 200 clics de rarefacción (a una tasa de 1.1/segundo, frecuencia de 1.50 kHz y 100 mseg de duración) con tres diferentes intensidades: 70, 90 y 103 Db tipo HL con un estimulador IES-403. A través de audífonos.<sup>73-74</sup> Se utilizó un filtro análogo de 150 Hz, el filtro de baja frecuencia se estableció en 1 kHz y el de alta frecuencia en 30 kHz se registraron los datos en una ventana de 500 mseg post-estímulo. Para suprimir artefactos, se excluyeron todos los ensayos que rebasaban los  $\pm 50 \mu\text{V}$  en cualquier canal en cualquier momento de la promediación. Se obtuvo el promedio de las curvas de todos los sujetos en el período del componente N1/P2 (63.5-207 mseg) mediante el programa Evoked Potential System Versión 1.1.

## 6. Análisis estadístico

Se calcularon media, desviación estándar, error estándar, sesgo y curtosis de las mediciones de amplitud del segmento N1/P2 en cada grupo y en cada intensidad de los PAELL y de los niveles de L-Trp libre, total, unido y AAN. Se utilizó el análisis de ANOVA y ANCOVA para la comparación de las concentraciones de L-Trp, amplitud y pendiente del PAELL de los cuatro grupos. La pendiente dependiente de la intensidad del estímulo se calculó mediante regresión lineal simple de los valores de la amplitud en  $\mu\text{V}$  para cada una de las intensidades del sonido en decibeles.

## **VI. Consideraciones éticas**

Las pacientes se estudiaron previo consentimiento informado. El estudio representó un mínimo riesgo para las pacientes, ya que se utilizaron métodos no invasivos. A las pacientes deprimidas se les ofreció tratamiento antidepresivo oportuno, independientemente de que fueran incluidas o no al estudio. La información obtenida en los cuestionarios y entrevistas se manejó con estricta confidencialidad. El protocolo fue aprobado por los comités de investigación local y central del Instituto Mexicano del Seguro Social.

## **VII. Recursos para el estudio**

**Recursos humanos:** Médicos del Departamento de Psiquiatría, Investigadores del Laboratorio de Neuroquímica, Médico audiólogo experto en neurofisiología y respuestas evocadas, Médicos familiares del primer nivel de atención, Coordinadores del Proyecto de Diabetes del IMSS.

**Recursos materiales:** Se utilizó el equipo de HPLC del Laboratorio de Neuroquímica del Desarrollo de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Se utilizaron filtros nanosep de 30 daltons, reactivos y soluciones grado HPLC. Los estudios de potenciales evocados auditivos se realizaron en la Unidad de Audiología del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. En un equipo Nicolet Spirit y en una computadora Hewlett Packard.

**Recursos financieros:** El proyecto fue financiado por el Fondo para el Fomento de la Investigación 90/2001, por la Beca Crédito 162987 de CONACYT y por un donativo de Eli Lilly y Compañía aplicado este último para el mantenimiento del equipo de HPLC y el tratamiento de las pacientes.

## VIII. Resultados

Se revisaron un total de setenta y dos personas diabéticas sin complicaciones crónicas y cuarenta y siete personas no diabéticas. Cincuenta fueron excluidas por las siguientes causas: Veintiséis no alcanzaron el control metabólico requerido, catorce consumían tabaco ó fármacos no permitidos al momento del estudio, siete cursaron con disminución de la audición y en tres no se obtuvieron los registros adecuados de potenciales auditivos evocados por dificultades técnicas como impedancia elevada o interferencia acústica.

La edad promedio de las 69 pacientes que ingresaron al estudio fue de  $48.75 \pm 9.2$  años. El grupo depresión fue significativamente más joven ( $p < 0.0001$ ). El tiempo de evolución de la diabetes mellitus fue inferior a 36 meses en todos los grupos. Los grupos con diabetes + depresión y depresión tuvieron 14 y 16 meses respectivamente de evolución de los síntomas depresivos. El promedio de severidad de los síntomas depresivos fue moderada en ambos grupos de acuerdo a lo encontrado en el BDI y en el MADRS y significativamente mayor que con los grupos diabetes y control ( $p < 0.0001$ ). El IMC fue significativamente mayor en el grupo diabetes + depresión comparado con el control ( $p < 0.05$ ) y en el diabetes comparado con el control ( $p < 0.05$ ). No hubo diferencias significativas en el peso entre los cuatro grupos. El control metabólico de las pacientes diabéticas fue aceptable con cifras de hemoglobina glicada total por debajo de 8%. El promedio de glucemia en ayuno en el día del estudio electrofisiológico y de la toma de muestra de sangre para el L-Trp y AAN fue inferior a los 140 mg/dl. El nivel de glucemia fue significativamente más alto en los grupos diabetes + depresión y diabetes en relación a los grupos depresión y control ( $p < 0.01$ ) (ver tabla 1).

**Tabla 1**  
**Características clínicas de los cuatro grupos**

Grupo	diabetes + depresión	diabetes	depresión	control
n	20	14	15	20
edad (años)	52 ± 6	53 ± 4	41 ± 8*	47 ± 10
Tiempo Di (meses)	27 ± 7	21 ± 10	-	-
Tiempo De (meses)	14 ± 9	-	16 ± 10	-
Beck	20 ± 8*	3 ± 1	25 ± 10	3 ± 2
MADRS	21 ± 6	5 ± 1	24 ± 10	4 ± 1
IMC	30.1 ± 5	30.0 ± 6	26.9 ± 5	23.5 ± 5 <sup>§</sup>
CC	96.4 ± 13	95.0 ± 14	89.8 ± 14	73.0 ± 6 <sup>§</sup>
HbA (%)	6.7 ± 1	7.1 ± 1.3	5.52 ± 0.6	5.1 ± 0.4**
Glucosa (mg/dl)	134 ± 24	131 ± 23	91.3 ± 10	86.5 ± 7 <sup>††</sup>

Datos en X ± D. S. \* El grupo deprimido fue más joven que ambos grupos con diabetes ANOVA F=7.63 p<0.0001. MADRS: Escala de Depresión de Montgomery-Asberg. † El puntaje del Beck y MADRS fue significativamente mayor en los grupos diabetes + depresión y depresión (p<0.0001) en relación al resto, IMC: Índice de Masa Corporal kg/m<sup>2</sup>, §significativamente mayor en los grupos diabetes + depresión y diabetes comparados con el grupo control (p<0.02), CC= circunferencia de la cintura §significativamente menor en el grupo control en relación al grupo diabetes + depresión y al grupo diabetes (p<0.01), \*\*hemoglobina glicada significativamente mayor en el grupo diabetes en relación al control (p<0.05). †† Concentración de glucosa significativamente mayor en los grupos diabetes + depresión y diabetes en relación a los grupos depresión y control (p<0.001).

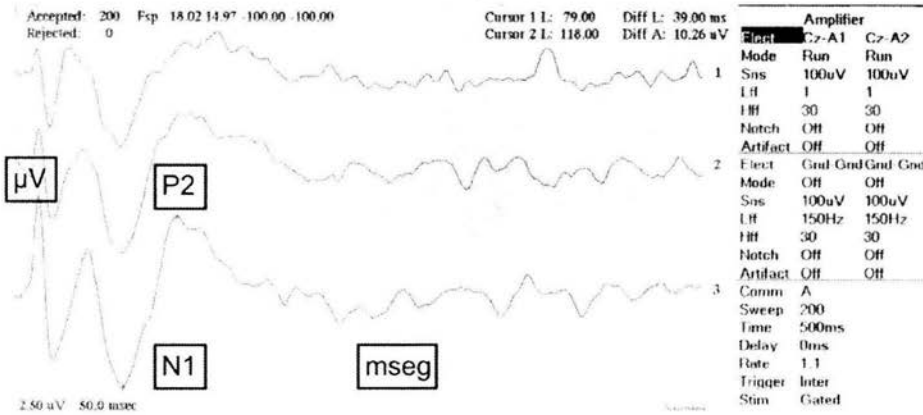
### Potenciales auditivos evocados

En el presente estudio se observaron dos diferentes patrones de respuesta en los PAELL. El primero, un patrón aumentador o de dependencia, (gráfica 1), que se caracterizó por que a cada incremento en la intensidad del estímulo, le correspondió un aumento en la amplitud de la respuesta. Este patrón se presentó en el 54% de las pacientes estudiadas. El segundo patrón fue reductor o de no-dependencia (gráfica 2), en que un incremento en la intensidad del estímulo generó una disminución en la amplitud de la respuesta. Esta respuesta se presentó en el 46% de las pacientes que ingresaron al presente estudio (ver gráfica 3). Con el primer patrón de respuesta, fue posible determinar la pendiente, como una medida del incremento de la amplitud en función de la intensidad del estímulo (ver gráfica 4). Los controles, fueron quienes mostraron la menor amplitud ante las tres intensidades de estímulo y la pendiente más horizontal (p<0.01). La amplitud y latencia de las ondas N1 y P2 tuvieron una variación intraobservador menor al 2%. No se encontraron variaciones en el patrón de respuesta (dependiente o no dependiente) en 10 individuos al azar a quienes se

les repitió la prueba en días diferentes. La variación de la amplitud del segmento N1/P2 en el mismo individuo en días diferentes, bajo las mismas condiciones de estimulación, fue del 5 al 10%.

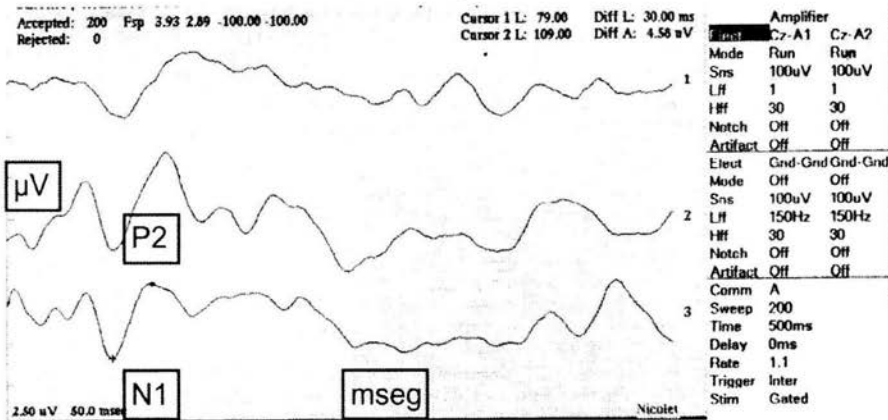
### Gráfica 1. Patrón Aumentador

(Premediación de 200 estímulos de 1) 70, 2)90 y 3)103 dB

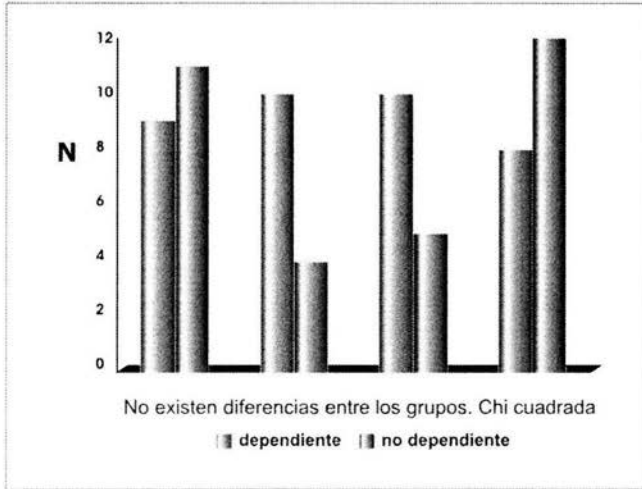


### Gráfica 2. Patrón Reductor

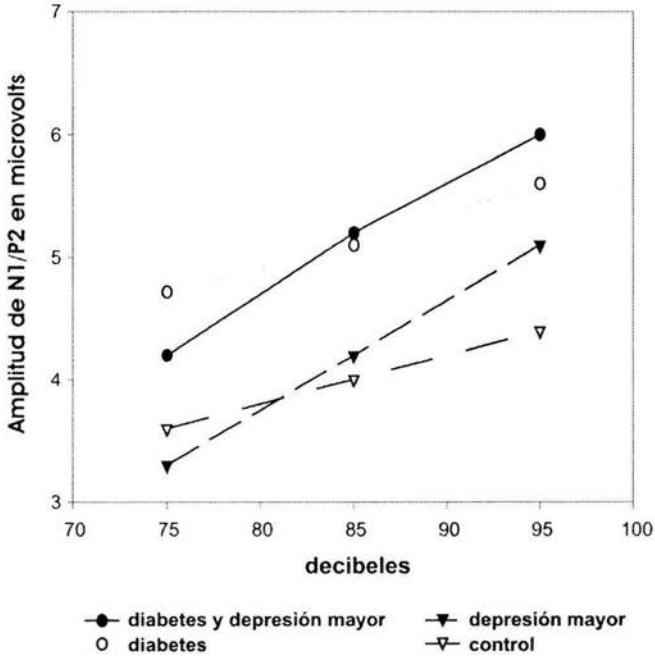
(Premediación de 200 estímulos de 1) 70, 2)90 y 3)103 dB



Gráfica 3. Proporción de dependencia de la intensidad del estímulo



Gráfica 4. Líneas de regresión para comparar las pendientes de los cuatro grupos.



### Análisis bivariado.

La amplitud de la respuesta a 70 dB de intensidad del estímulo fue significativamente mayor en el grupo diabetes + depresión comparado con el grupo depresión ( $p < 0.05$ ). La amplitud de la respuesta a los 70 dB y 90 dB de intensidad del estímulo sonoro fue significativamente mayor en el grupo diabetes + depresión en relación con el grupo control ( $p < 0.05$  para ambas intensidades). Es interesante hacer notar que la pendiente de N1/P2 del grupo diabetes + depresión fue significativamente mayor que la del grupo diabetes tipo 2 ( $p < 0.01$ ). Además, la latencia de N1 a 90 dB fue mayor en el grupo depresión en relación al grupo control ( $p < 0.05$ ), (Tablas 2 y 3).

### Análisis multivariado.

No se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos en las latencias y amplitudes de N1 ó P2 en las tres intensidades estudiadas. A pesar de esto, la latencia de N1 a 90 dB del grupo depresión, mostró una tendencia a ser más prolongada en relación al grupo diabetes + depresión ( $F = 1.98$   $p = 0.12$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2**  
**Latencias de los componentes N1 y P2 del**  
**PAELL en los cuatro grupos**

Grupo	diabetes + depresión	diabetes	depresión	control
*Latencia a 70 dB (mseg)				
N1	85 ± 14	89 ± 12	88 ± 14	86 ± 13
P2	149 ± 20	157 ± 22	145 ± 25	148 ± 14
*Latencia a 90 dB				
N1	81 ± 14	88 ± 18	92 ± 14	83 ± 12
P2	152 ± 28	152 ± 19	154 ± 23	153 ± 18
*Latencia a 103 dB				
N1	84 ± 15	91 ± 20	92 ± 25	85 ± 13
P2	160 ± 29	159 ± 27	160 ± 23	150 ± 20

\*Valores promedio ± DS en mseg. No existen diferencias significativas entre los cuatro grupos, ANOVA  $p > 0.12$



**Tabla 3. Amplitud del segmento N1/P2 de los potenciales evocados de larga latencia y pendiente de los cuatro grupos**

Grupo	diabetes + depresión	diabetes	depresión	control
<b>Amplitud (<math>\mu</math>V)</b>				
70 dB	4.21 $\pm$ 1.3	4.46 $\pm$ 2.6	3.30 $\pm$ 1.5	3.40 $\pm$ 1.2
90 dB	5.37 $\pm$ 1.7	5.63 $\pm$ 3.9	4.54 $\pm$ 2.2	4.24 $\pm$ 1.2
103 dB	6.48 $\pm$ 3.1	6.09 $\pm$ 3.6	6.49 $\pm$ 3.2	4.58 $\pm$ 1.1
<b>pendiente</b>	<b>0.124 <math>\pm</math> .07*</b>	<b>0.053 <math>\pm</math> .02*</b>	<b>0.105 <math>\pm</math> .07</b>	<b>0.052 <math>\pm</math> .01*</b>
<b>IC 95%</b>	<b>0.066-0.18</b>	<b>0.033-0.073</b>	<b>0.039-0.17</b>	<b>0.043-0.06</b>

\*  $p < 0.01$  ANOVA,  $F 4.18$  La pendiente del grupo diabetes + depresión es significativamente mayor que la del grupo diabetes y el grupo control.

Se identificó en 53.6% ( $n=37$ ) de las pacientes una pendiente lineal del segmento N1/P2 del PAELL en todos los grupos estudiados. El grupo diabetes mostró una tendencia no significativa de mayor amplitud en el segmento N1/P2 a 70 y 90 dB. Sin embargo, a 103 dB el grupo que respondió con una mayor amplitud fue el grupo depresión (diferencia no significativa). En relación a las pendientes, se observó que los grupos control y diabetes tipo 2 mostraron pendientes semejantes de menor magnitud (0.052 y 0.053 respectivamente) mientras que los grupos diabetes + depresión y depresión tuvieron pendientes mayores (0.124 y 0.121 respectivamente). La diferencia de las pendientes entre los cuatro grupos fue estadísticamente significativa  $F=5.42$   $df 3, 33$   $p < 0.004$ . (Tabla 4) La diferencia se dio por la mayor pendiente del grupo diabetes + depresión en relación al grupo diabetes tipo 2 ( $0.124 \pm 0.07$  vs  $0.053 \pm 0.02$   $p < 0.04$ ) y en relación al control ( $0.052 \pm 0.01$   $p < 0.05$ ). Los grupos depresión y diabetes también resultaron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre sí (Gráfica 4).

**Efecto de la edad y el climaterio:**

Mediante un análisis de regresión múltiple, después de controlar el efecto de la edad, la depresión explicó en forma significativa la pendiente dependiente de la intensidad del estímulo, pero no la diabetes. La depresión explicó el 21% ( $F=11.31$   $p=0.002$ ) y la diabetes el 2% ( $F=1.22$   $p=0.27$ ) de la variación de la pendiente. El modelo completo (variable dependiente: pendiente de N1/P2, variables independientes: edad, depresión y diabetes) explicó el 34% de la variación ( $R^2$  ajustada =0.34, error estándar 0.05,  $F=7.17$   $p=0.001$ ).

Al comparar los subgrupos de pacientes con climaterio y sin él, no se encontraron diferencias significativas en la amplitud o pendiente del N1/P2.

En la prueba de ANCOVA la edad ( $F$  4.3,  $p=0.047$ ), y la depresión ( $F$  5.1,  $p=0.031$ ), resultaron factores significativamente relacionados con la variable dependiente "pendiente". La diabetes y la interacción diabetes- depresión no resultaron significativas.

**L-Triptófano y aminoácidos neutros**

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de L-triptófano libre, total y en la relación L-Trp libre/AAN entre los cuatro grupos (Tablas 5 y 6). Así mismo, no hubo diferencias significativas entre los cuatro grupos en las concentraciones de los diferentes AAN ó en el total de los mismos (Tabla 5).

**Tabla 5**  
**Concentración plasmática de aminoácidos neutros\***

Grupo	diabetes + depresión	diabetes	depresión	control
Aminoácido	n= 9	n= 10	n= 8	n= 8
Val	426 ± 194	457 ± 155	345 ± 146	327 ± 235
Phe	151 ± 45	183 ± 42	164 ± 31	187 ± 50
Ile	229 ± 51	212 ± 81	214 ± 19	222 ± 71
Leu	350 ± 85	323 ± 118	332 ± 26	346 ± 124
Tyr	159 ± 96	198 ± 108	160 ± 59	239 ± 110
Total	1330 ± 399	1283 ± 488	1216 ± 180	1322 ± 478

\* Concentración expresada en  $\mu\text{mol/L}$ , X  $\pm$  D. S. No se encontraron diferencias significativas en el ANOVA.

La concentración de L-Trp libre en el grupo diabetes + depresión (3.35) fue significativamente menor en relación al grupo diabetes tipo 2 (7.77) ( $t=2.23$ ,  $df=8.6$ ,  $p<0.05$ ) al comparar únicamente los individuos con una respuesta aumentadora en los PAELL. Esta diferencia no existe al compararlos con los individuos reductores de la respuesta auditiva (Tabla 6).

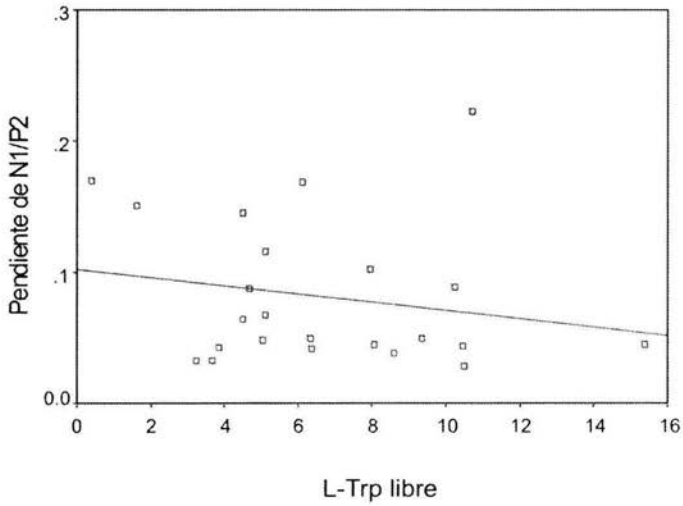
**Tabla 6**  
**Concentración de L-triptófano libre, unido y total\***

Grupo	diab + dep n= 9	diabetes n= 10	depresión n= 8	control n= 8
Variable				
L-Trp libre (TL)	5.8 ± 5	8.1 ± 4	5.9 ± 3	5.9 ± 2
L-Trp unido	40.7 ± 13	49.8 ± 15	42.3 ± 20	31.6 ± 15
L-Trp total (Tt)	46.5 ± 16	51.8 ± 21	47.6 ± 20	37.54 ± 16
TL/Tt	0.11 ± .09	0.16 ± .08	0.15 ± .1	0.18 ± .1
Total aa	1330 ± 399	1283 ± 488	1216 ± 180	1322 ± 478
TL/aa <sup>1</sup>	4.3 ± 3	6.9 ± 4	4.9 ± 2	4.9 ± 2
Tt/aa <sup>1</sup>	38.2 ± 19	44.3 ± 8 <sup>1</sup>	40.8 ± 19	30.9 ± 15 <sup>1</sup>

Concentración expresada en  $\mu\text{mol/L}$ , X  $\pm$  D. S. diab+dep=grupo diabetes + depresión TL= Trp libre Tt= Trp total, aa= aminoácidos. <sup>1</sup>Triptófano/aminoácidos neutros (Val, Phe, Ile, Leu y Tyr)  $\times 10^3$ . <sup>1</sup>significativamente mayor en el grupo diabetes comparado con el grupo control,  $p<0.05$ .

La capacidad de la FL L-Trp para predecir la pendiente de N1/P2 fue débil  $R=0.20$  (Gráfica 5)

Gráfica 5. Correlación entre L-Trp libre y pendiente de N1/P2



$R=0.20$   $p=0.17$

## IX. Discusión

Se observó en este trabajo que las pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y depresión mayor presentaron una pendiente más alta del segmento N1/P2 del PAELL frente a estímulos sonoros de intensidad creciente, seguidas por las pacientes con depresión mayor. Estos resultados sugieren que el grupo de pacientes con diabetes y depresión presentan mayor disfunción del sistema serotoninérgico cerebral<sup>35</sup> en relación al grupo de pacientes con diabetes y al grupo control.

Esta disfunción no se explica satisfactoriamente por falta de disponibilidad de la FL del L-Trp plasmático, precursor de la síntesis de serotonina cerebral.

A diferencia de lo observado en los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 que presentan disminución de la FL y total del aminoácido<sup>26</sup>, es interesante señalar que las pacientes con diabetes mellitus tipo 2 sin depresión, mostraron elevación de las concentraciones de L-Trp libre y total en relación a los otros tres grupos. Esto señala que la diabetes tipo 2 controlada no parece asociarse a falta de disponibilidad de triptófano libre.

Por otra parte, las pacientes diabéticas con depresión mayor no mostraron disminución de la FL del L-Trp en relación con los otros tres grupos.

Sin embargo, un subgrupo de pacientes con diabetes y depresión tuvieron una respuesta aumentadora del segmento N1/P2 del PAELL a los estímulos sonoros acompañado de concentraciones disminuidas de L-Trp comparadas con las pacientes diabéticas sin depresión. Este hallazgo nos puede indicar que la depresión en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tiene una fisiopatología heterogénea.

En estudios realizados en los 80's se observó que un grupo de pacientes con depresión cursaba con concentración plasmática de L-Trp disminuida en comparación con controles sanos.<sup>70</sup> La confirmación de que la depleción de L-triptófano plasmático induce síntomas depresivos en individuos susceptibles y el hecho de que la diabetes mellitus tipo 2 comparte diversas alteraciones neuroendócrinas con la depresión mayor relacionadas con el estrés

crónico (hipercortisolemia y desviación del L-Trp a otras vías metabólicas como la del ácido cinurénico y nicotínico),<sup>16,75</sup> apoyan la posibilidad de encontrar la concentración plasmática de la FL del L-Trp disminuida en los pacientes deprimidos, particularmente en aquellos que se acompañan de diabetes mellitus tipo 2.

Se ha demostrado, en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 obesos que el metabolismo de las proteínas es anormal y se caracteriza por un incremento en su degradación, que lleva a una elevación de la concentración de los aminoácidos neutros, particularmente cuando los pacientes son sometidos a dietas hipocalóricas.<sup>76</sup> En nuestro estudio observamos que la concentración de los AAN no mostró cambio alguno en las pacientes diabéticas deprimidas en relación con los otros tres grupos, aunque la relación FL/AAN fue menor en el grupo diabetes + depresión en comparación con los otros tres grupos de estudio; esta reducción fue mínima y sin significancia estadística. Esta relación refleja el grado de competencia que tiene el L-Trp con los AAN para su paso al cerebro y estimular o disminuir la síntesis de serotonina cerebral. Además, se ha propuesto a la relación FL/AAN como indicador del ingreso del L-Trp al SNC para la síntesis del neurotransmisor.<sup>69</sup> Hecho que no fue observado en este estudio.

Por otra parte, se ha reportado que la concentración de L-Trp y la relación FL/AAN están disminuidos en los pacientes con obesidad y en ausencia de insulina. Caballero<sup>77</sup> observó que después de la administración por vía oral de L-Trp a sujetos obesos, mostraban un incremento en las concentraciones plasmáticas del aminoácido en el plasma, menor a lo observado en sujetos con peso normal. Esto sugiere que el metabolismo del L-Trp es mayor en los sujetos obesos. Sin embargo, es interesante mencionar que la concentración de L-Trp previa a la administración oral del aminoácido era normal. En nuestro estudio observamos que la mayor parte de las pacientes muestran sobrepeso, obesidad leve y control metabólico de la diabetes mellitas aceptable, lo que sugiere que los múltiples trastornos metabólicos producidos por la enfermedad probablemente retornaron a lo normal. Este hallazgo explica que en estas pacientes diabéticas con depresión y sin ella, la concentración del L-Trp y la relación FL/AAN no mostraran cambios significativos.

La insulina reduce la concentración de AAN en el plasma al promover su ingreso a las células. Se ha observado en los pacientes diabéticos con resistencia a la insulina, un incremento en la concentración plasmática de aminoácidos.<sup>78</sup> Pijl demostró mediante clamp euglicémico hiperinsulinémico, que a pesar de que los pacientes diabéticos tipo 2 obesos tienen resistencia a la insulina y producción hepática de glucosa elevada en relación a los controles obesos no diabéticos, la concentración de AAN no tuvo cambios significativos.<sup>79</sup> Por otra parte, en el presente trabajo, no se determinó el grado de cumplimiento de las medidas dietéticas, ni se midió insulina y solo se alcanzó el control metabólico de las pacientes diabéticas para realizar las mediciones bioquímicas y electrofisiológicas. Por ello, dos limitaciones del estudio es que no es posible relacionar el consumo de proteínas de la dieta o los niveles de insulina con las concentraciones de L-Trp o AAN.

Todos estos datos en conjunto sugieren que durante la evolución de la diabetes mellitus y la depresión existen cambios en la concentración de AAN, en especial los aminoácidos neutros que compiten con el L-Trp para su paso al cerebro a nivel de la BHE. Se ha demostrado que los pacientes con diabetes tipo 1 tienen una disminución de la FL del L-Trp y un aumento de los AAN, que sugiere una menor disponibilidad de L-Trp para la síntesis de serotonina cerebral tal como se ha demostrado en el cerebro de ratas con diabetes secundaria a la administración de estreptozotocina. Por lo anterior, se plantea la posibilidad de que la FL del L-Trp podría ser un indicador indirecto de la síntesis de la 5-HT cerebral en estos pacientes diabéticos. Sin embargo, en este estudio no hay una clara evidencia del cambio de la FL del L-Trp en estas pacientes diabéticas deprimidas y sin depresión, probablemente porque su control metabólico era adecuado y que retorno a lo normal los niveles de L-Trp plasmático. Sería interesante evaluar la concentración de la FL del L-Trp y AAN en pacientes sin adecuado control metabólico.

Otra parte interesante del presente trabajo fue demostrar que las pacientes diabéticas con depresión mayor tienen un aumento de la amplitud dependiente de la intensidad del estímulo sonoro del segmento N1/P2 del PAELL en relación a las pacientes diabéticas sin depresión, con depresión y controles. En efecto observamos que las pacientes diabéticas

deprimidas mostraron una elevación de la pendiente de la amplitud del segmento N1/P2 del PAELL lo que apoya que la amplitud este segmento refleja la actividad serotoninérgica cerebral; ya que cuando existe una elevación de concentración de 5-HT en la corteza auditiva, se produce una disminución del segmento N1/P2 y lo contrario sucede cuando hay una menor cantidad del neurotransmisor en esta región cerebral. Hegerl<sup>60</sup>, observó que la amplitud del segmento N1/P2 del PAELL a diferentes intensidades del estímulo sonoro desencadenaba una pendiente de este segmento, que representa la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria, en especial la capa IV, sitio en donde llegan los estímulos sonoros procedentes del tálamo. Además en pacientes deprimidos bajo tratamiento con inhibidores selectivos de la recaptura de la serotonina existe un cambio significativo de esta pendiente del segmento N1/P2, sugiriendo que la 5-HT juega un papel primordial en la modulación de la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria.

El hecho de que los controles mostraran la pendiente más horizontal puede reflejar una mayor integridad funcional del sistema neuromodulatorio serotoninérgico frente a la estimulación auditiva. También el estímulo sonoro favorece la síntesis y liberación de serotonina en las vías serotoninérgicas y en las vías auditivas incluyendo la propia corteza auditiva ha sido descrita por Boadle-Biber y col.<sup>80,81</sup> La actividad de la TrpOH se incrementa gradualmente con el aumento de la intensidad del estímulo sonoro.<sup>81</sup> Además, en la literatura existen reportes en los que se ha medido el incremento de la amplitud que se produce entre dos niveles de intensidad del estímulo en pacientes expuestos a drogas de abuso como es el "éxtasis". Los mayores incrementos se presentaron en los pacientes que tenían antecedentes de consumo de MDMA; por lo tanto, lesión de las neuronas serotoninérgicas que inervan la corteza cerebral, mediada por excitotoxicidad debida al éxtasis.<sup>55-56</sup> Todos estos hallazgos apoyan el hecho que la 5-HT modula la respuesta neuronal de la corteza auditiva. Es posible que la diabetes induzca un efecto excitotóxico endógeno con el eventual desarrollo de manifestaciones depresivas en individuos susceptibles. Existen diversos mecanismos biológicos que participan en la disminución de la actividad serotoninérgica en la corteza cerebral de las ratas diabéticas: la disminución de la neurotransmisión gabaérgica,<sup>82</sup> el efecto excitatorio de la hiperglucemia crónica, la reducción



de óxido nítrico,<sup>83</sup> la liberación de radicales libres<sup>24</sup> y el efecto de los productos avanzados de la glicación,<sup>84</sup> así como otras alteraciones corticales que han sido demostradas en el aprendizaje y la memoria relacionadas con incremento de moléculas de adhesión de células neuronales NCAM 180 y 120 kDa y disminución de la expresión de NCAM 140 kDa en corteza cerebral e hipocampo en ratas diabéticas.<sup>85</sup> Todos estos cambios podrían explicar las alteraciones en los sistemas neuromodulatorios a nivel de la corteza auditiva durante la evolución de la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus produce sobre el cerebro humano múltiples cambios metabólicos los que han sido considerados globalmente como “envejecimiento cerebral acelerado”.<sup>86</sup> En animales diabéticos se ha observado prolongación de los potenciales de acción de las células piramidales CA1 del hipocampo, que se ha atribuido a un flujo aumentado de calcio, a nivel de los canales L y N dependientes de voltaje.<sup>87</sup>

La edad y el tiempo de duración de la diabetes son variables que potencialmente pueden modificar el registro de los potenciales evocados; en el presente estudio, el tiempo de duración de la diabetes no tuvo relación con la amplitud, latencia o pendiente de los componentes N1/P2 ( $R^2=0.0125$ ) ya que al controlar el efecto de la edad y la menopausia, la depresión predijo consistente y significativamente la pendiente del N1/P2. Estos resultados son diferentes a los reportados en la literatura en donde se ha observado que la edad modifica la respuesta neuronal a nivel de la corteza auditiva primaria, particularmente cuando se estudian procesos cognitivos con el componente P300.<sup>88</sup> Por otra parte, las pendientes entre pacientes menopáusicas y no menopáusicas no fueron significativamente diferentes.

Por otro lado, fue evidente que ambos grupos con diabetes presentaron una mayor amplitud del segmento N1/P2 en las tres intensidades de estimulación, al compararse con sus contrapartes sin diabetes. Esta diferencia fue particularmente notoria en la amplitud de la respuesta a 70 dB. El incremento de la amplitud en la respuesta a 70 dB, apoya la idea de que la diabetes mellitus se asocia a una mayor excitabilidad de las neuronas de la corteza auditiva. Aunque en el grupo con DM se encontró la mayor amplitud de la respuesta inicial a

70 dB, por lo que la capacidad de atenuar la respuesta cortical a 90 dB y 103 dB fue significativamente mayor en el grupo de pacientes diabéticas sin depresión al compararse con las personas con diabetes y depresión. Esto sugiere que la diabetes por sí misma no explica los cambios encontrados en el patrón de respuesta de los sujetos deprimidos y que la variable depresión tuvo un poder explicativo mayor en cuanto a la pendiente de las respuestas auditivas se refiere.<sup>50</sup> La validez del segmento N1/P2 del PAELL en reflejar los cambios en la actividad serotoninérgica cerebral producidos por la depleción de L-Trp inducida por dieta ha sido cuestionada. En voluntarios sanos se observó que la amplitud del segmento N1/P2 no se modificó mediante la depleción de L-Trp; debido probablemente a que el efecto de la depleción se evaluó tempranamente (entre 2 y 4 horas) y no alcanzó el 75% de la disminución del aminoácido en el plasma y por lo tanto en el cerebro para inducir disminución de la actividad serotoninérgica.<sup>49</sup>

En nuestro laboratorio hemos demostrado en ratas adultas normales que la administración de L-Trp a razón de 100 mg/kg de peso corporal por vía intraperitoneal, produce una elevación del aminoácido en la corteza auditiva acompañado de aumento de la 5-HT 30 minutos después de la administración del L-Trp, además de una disminución significativa del segmento N1/P2 del PAELL.<sup>91</sup> De la misma manera se observó con agonistas serotoninérgicos. Lo contrario se presentó con antagonistas serotoninérgicos. Todos estos resultados apoyan el hecho de que un nutriente esencial en la dieta modifica la actividad neuronal de la corteza auditiva.

La capacidad para compensar la reducción súbita del L-Trp plasmático puede estar determinada por la actividad de la proteína transportadora de serotonina<sup>42</sup> y tener relación con los antecedentes familiares y personales de depresión.

Otro hallazgo atractivo en el presente estudio, fué el hecho de que las pacientes diabéticas con menos de 3 años de evolución desde su diagnóstico y no presentaban complicaciones crónicas, por lo que se reduce considerablemente la posibilidad de que los cambios observados en el grupo de pacientes diabéticas sean atribuibles directamente a la evolución de la diabetes tipo 2 y sus complicaciones neuropáticas y angiopáticas.<sup>90</sup> Se observó que no

existieron cambios significativos en las latencias del segmento N1/P2 del PAELL en los grupos diabéticos con o sin depresión.

Los patrones de respuesta electrofisiológica aumentadores y reductores pueden representar una susceptibilidad diferente al desarrollo de los síntomas depresivos.<sup>59</sup> Es posible en investigaciones futuras se pueda relacionar las pendientes del segmento N1/P2 del PAELL con los resultados de los tratamientos psicofarmacológicos con mecanismo dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico o dual. Estudios de seguimiento podrían plantear también la posibilidad de que la pendiente y el patrón aumentador o reductor tengan alguna relación con la recurrencia de los síntomas depresivos.<sup>36, 62</sup>

## **X. Conclusiones**

- En pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se observa incremento de la amplitud del segmento N1/P2 de la respuesta auditiva evocada de latencia larga por estímulos sonoros.
- La depresión mayor se relaciona con aumento de la pendiente del segmento N1/P2 de la respuesta auditiva evocada de latencia larga.
- Los individuos diabéticos tipo 2 con depresión mayor pueden tener un patrón aumentador de la pendiente del segmento N1/P2 del PAELL y una disminución de la concentración de la FL de L-Trp al compararlos con individuos diabéticos sin depresión.

## **XI. Referencias Bibliográficas**

1. Garduño-Espinosa J, Téllez-Zenteno JF, Hernández-Ronquillo L. Frecuencia de depresión en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Rev Inv Clin* 1998; 50: 287-291.
2. Vázquez F, Ruiz LG, Corlay I. Depresión y diabetes mellitus: conceptos actuales. *Inv Salud* 2000; 2: 35-37.
3. Ruiz LG, Vázquez F, Corlay I, Báez A, Mandujano R, Islas S, Revilla MC. Depresión en pacientes diabéticos y su relación con el control metabólico medido por HbA1c. *Psiquiatría* 1996; 12: 66-71.
4. Lustman PJ. Depression in adults with diabetes: Results of a 5 year follow-up study. *Diabetes Care* 1988; 11: 605-612.
5. Lustman PJ, Griffith LS, Freedland KE, Clouse RE. The course of major depression in diabetes. *Gen Hosp Psychiatry* 1997; 19: 138-143.
6. Lloyd CE, Wing RR, Orchard TJ. Waist to hip ratio and psychosocial factors in adults with insulin dependent diabetes mellitus: The Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Metabolism* 1996; 45: 268-272.
7. Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biomedical manifestations of depression: Relationship to the neurobiology of stress (Part I). *N Eng J Med* 1988; 319: 348-353.
8. Marcus MD. Lifetime prevalence of major depression and its effect on treatment outcome in obese Type II diabetic patients. *Diabetes Care* 1992; 15: 253-255.
9. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistic Manual of Mental Disorders* 4th edition, Washington DC, 1994.
10. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Erbaugh J. An Inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry* 1961; 4: 561-571.
11. Montgomery SA, Åsberg M. A new depression scale designed to be more sensitive to change. *Br J Psychiatry* 1979; 134: 382-389.
12. Delgado PL, Charney DS, Price LH, Aghajanian GK, Landis H, Heninger GR. Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. Reversal of antidepressant-induced

- remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch Gen Psychiatry* 1990; 47: 411-418.
13. Hotu S, Carter B, Watson PD, Cutfield WS, Cundy T. Increasing prevalence of type 2 diabetes in adolescents. *J Paediatr Child Health* 2004; 40: 201-204.
14. Botas P, Delgado E, Castano G y cols. Comparison of the diagnostic criteria for diabetes mellitus, WHO-1985, ADA-1997 and WHO-1999 in the adult population of Asturias (Spain). *Diabet Med* 2003; 20: 904-908.
15. Chauvad J. Non-insulin-dependent diabetes: an expanding disease. Diabetic ophthalmopathy: diabetic retinopathy facts *Bull Acad Natl Med* 2003; 187: 1317-1324.
16. Nemeroff CB, Widerlov E, Bisette G. Elevated concentrations of CSF corticotropin releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* 1984; 227: 1342-1344.
17. Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF. A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia: Standardization, validation, and clinical utility. *Arch Gen Psychiatry* 1981; 38: 15-22.
18. Fairchild G, Leitch MM, Ingram CD. Acute and chronic effects of corticosterone on 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated autoinhibition in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* 2003; 45: 925-934.
19. Miyata S, Hirano S, Kamei J. Diabetes attenuates the antidepressant-like effect mediated by the activation of 5-HT<sub>1A</sub> receptor in the mouse tail suspension test. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29: 461-469.
20. Owens MJ. Selectivity of antidepressants: from the monoamine hypothesis of depression to the SSRI revolution and beyond. *J Clin Psychiatry* 2004; 65 Suppl 4: 5-10.
21. Sandrini M, Vitale G, Vergoni AV y cols. Streptozotocin-induced diabetes provokes changes in serotonin concentration and on 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors in the rat brain. *Life Sci* 1997; 60: 1393-1397.
22. Herrera JR. L-Triptófano plasmático libre como indicador de la síntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus experimental. Tesis de Maestría en Ciencias Médicas, UNAM 1999.

23. Chu PC, Lin MT, Shian LR, Leu SY. Alterations in Physiologic Functions and in Brain Monoamine Content in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Diabetes* 1986; 35: 481-485.
24. Kuhn DM, Geddes TJ. Peroxynitrite inactivates tryptophan hydroxylase via sulfhydryl oxidation. *J Biol Chem* 1999; 274: 29726-29732.
25. Anderson I, Cowen P. Neuroendocrine responses to L-tryptophan as an index of brain serotonin function: effect of weight loss. En: Schwarcz et al eds. *Kynurenine and serotonin pathways*, Plenum Press, New York 1991.
26. Herrera R, Manjarrez G, Nishimura E, Hernandez-R J. Serotonin- related tryptophan in children with insulin-dependent diabetes. *Pediatr Neurol* 2003; 28: 20-23.
27. Manjarrez G, Contreras JL, Chagoya G, Hernandez-RJ. Free tryptophan as an indicator of brain serotonin synthesis in infants. *Pediatr Neurol* 1998; 18: 57-62.
28. Park S, Harrold S JA, Widdowson PS, Williams G. Increased binding at 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors and 5-HT transporters in diet induced obese rats. *Brain Res* 1999; 847: 90-97.
29. Cangiano C, Laviano A, Del Ben M, Preziosa I, Angelico F, Cascino A, Rossi-Fanelli F. Effects of oral 5-hydroxy-tryptophan on energy intake and macronutrient selection in non-insulin dependent diabetic patients. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 648-654.
30. Fierabracci V, novelli M, Ciccarone AM, Masiello P, Benzi L, Navalesi R, Bergamini E. Effects of tryptophan load on amino acid metabolism in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab* 1996; 22: 51-56.
31. Manjarrez GG, Chagoya GG, Hernández RJ. Early nutritional changes modify the kinetics and phosphorylation capacity of tryptophan-5-hydroxylase. *Int J Dev Neurosci* 1994; 12: 695-702.
32. Gaspar P. Genetic models to understand how serotonin acts during development. *J Soc Biol* 2004; 198: 18-21.
33. Manjarrez G, Hernández ZE, Robles OA, Gonzalez RM, Hernandez RJ. Developmental impairment of auditory evoked N1/P2 component in rats undernourished in utero: its relation to brain serotonin activity. *Brain Res Dev Brain Res* 2001; 127: 149-155.

34. Tagliamonte A, Biggio G, Vargiu L, Gessa GL. Free tryptophan in serum controls brain tryptophan level and serotonin synthesis. *Life Sci* 1973; 12: 277-287.
35. Hegerl U, Juckel G. Intensity dependence of auditory evoked potentials as an indicator of central serotonergic neurotransmission: a new hypothesis. *Biol Psychiatry* 1993; 33: 173-187.
36. Juckel G, Hegerl U. Evoked potentials, serotonin, and suicidality. *Pharmacopsychiatry* 1994; 27 Suppl 1: 27-29.
37. Carrillo-de-la-Peña MT, Mavrogiorgou P, Juckel G, Hauke W, Gallinat J, Frodl T, Zaudig M, Hegerl U. Loudness dependence of auditory evoked potentials in obsessive-compulsive disorder: a pilot study. *Psychiatry Res* 2000; 93: 209-216.
38. Dougherty DM, Moeller FG, Bjork JM, Marsh DM. Plasma L-tryptophan depletion and aggression. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 57-65.
39. Rausch JL, Moeller FG, Johnson ME. Initial platelet serotonin (5-HT) transport kinetics predict nortriptyline treatment outcome. *J Clin Psychopharmacol* 2003; 23: 138-144.
40. Mintun MA, Sheline YI, Moerlein SM y cols. Decreased hippocampal 5-HT<sub>2A</sub> receptor binding in major depressive disorder: in vivo measurement with [18F] altanserin positron emission tomography. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 217-224.
41. Mason NS, Mathis CA. Positron emission tomography radiochemistry. *Neuroimaging Clin N Am* 2003; 13: 671-687.
42. Neumeister A, Konstantinidis A, Stastny J, Schwarz MJ, Vitouch O, Willeit M, Praschak-Rieder N, Zach J, De Zwaan M, Bondy B, Ackenheil M, Kasper S. Association between serotonin transporter gene promoter polymorphism (5HTTLPR) and behavioral responses to tryptophan depletion in healthy women with and without family history of depression. *Arch Gen Psychiatry* 2002; 59: 613-620.
43. Bremner JD, Innis RB, Salomon R. Positron Emission Tomography measurement of cerebral metabolic correlates of tryptophan depletion-induced depressive relapse. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 364-374.



44. Strobel A, Debener S, Schmidt D, Hünnerkopf R, Lesch KP, Brocke B. Allelic variation in serotonin transporter function associated with the intensity dependence of the auditory evoked potential. *Am J Med Gen* 2003; 118B: 41-47.
45. Petrisic MS, Augood SJ, Bicknell RJ. Monoamine transporter gene expression in the central nervous system in diabetes mellitus. *J Neurochem* 1997; 68: 2435-2441.
46. Martin FJ, Miguez JM, Aldegunde M, Atienza G. Platelet serotonin transport is altered in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 1995; 56: 1807-1815.
47. Massol J, Martin P, Puech AJ. Antidepressant effect of tricyclic antidepressants and selective serotonin uptake blockers in diabetic rats. *Diabetes* 1989; 38: 1161-1164.
48. Massol J, Martin P, Belon JP, Puech AJ, Soubrie P. Helpless behavior (escape deficits) in streptozotocin-diabetic rats: resistance to antidepressant drugs. *Psychoneuroendocrinology* 1989; 14: 145-153.
49. Dierks T, Barta S, Demisch L, Schmeck K, Englert E, Kewitz A, Maurer K, Poustka F. Intensity dependence of auditory evoked potentials (PAEs) as biological marker for cerebral serotonin levels: effects of tryptophan depletion in healthy subjects. *Psychopharmacology* 1999; 146:101-107.
50. Hegerl U, Juckel G. Auditory evoked dipole source activity: indicator of central serotonergic dysfunction in psychiatric patients? *Pharmacopsychiatry* 1994; 27: 75-78.
51. Heinke W, Kenntner R, Gunter TC, Sammler D, Olthoff D, Koelsch S. Sequential effects of increasing propofol sedation on frontal and temporal cortices as indexed by auditory event-related potentials. *Anesthesiology* 2004; 100: 617-625.
52. Daselaar SM, Veltman DJ, Witter MP. Common pathway in the medial temporal lobe for storage and recovery of words as revealed by event-related functional MRI. *Hippocampus* 2004; 14: 163-169.
53. Pfefferbaum A, Roth WT, Ford JM. Event-Related Potentials in the Study of Psychiatric Disorders. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52: 559-563.
54. Juckel G, Molnar M, Hegerl U, Csépe V, Karmos G. Auditory evoked potentials as indicator of brain serotonergic –first evidence in behaving cats. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 1181-1195.

55. Croft RJ, Klugman A, Baldeweg T, Gruzelier JH. Electrophysiological evidence of serotonergic impairment in long-term MDMA ("ecstasy") users. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1687-1692.
56. Tuchtenhagen F, Daumann J, Norra C, Gobbele R, Becker S, Pelz S, Sass H, Buchner H, Gouzoulis-Mayfrank E. High intensity dependence of auditory evoked dipole source activity indicates decreased serotonergic activity in abstinent ecstasy (MDMA) users. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 608-617.
57. Juckel G, Hegerl U, Molnar M, Csepe V, Karmos G. Auditory evoked potentials reflect serotonergic neuronal activity—a study in behaving cats administered drugs acting on 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21: 710-716.
58. Juckel G, Csepe V, Molnar M, Hegerl U, Karmos G. Intensity dependence of auditory evoked potentials in behaving cats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 100: 527-537.
59. Carrillo-de-la-Peña MT. Effects of intensity and order of stimuli presentation on PAEs: an analysis of the consistency of EP augmenting/reducing in the auditory modality. *Clin Neurophysiol* 1999; 110: 924-932.
60. Hegerl U, Gallinat J, Mrowinski D. Intensity dependence of auditory evoked dipole source activity. *Int J Psychophysiol* 1994; 17: 1-13.
61. Prescott J, Connolly JF, Gruzelier JH. The augmenting/reducing phenomenon in the auditory evoked potential. *Biol Psychol* 1984; 19: 31-44.
62. Hegerl U, Juckel G, Rao ML, Müller-Oerlinghausen B. Blood serotonin and AEP under fluvoxamine challenge and phototherapy. In *Serotonin-related psychiatric syndromes: clinical and therapeutic links*. Eds. GB Cassano, HS Akiskal. pp 163-170. London: Royal Society of Medicine Services Ltd.
63. Manjarrez GG, Herrera JR, Bueno S, González M, Hernández R J. Cambios en la biosíntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina: efecto del tratamiento con insulina. *Rev Inv Clin* 2000; 52: 509-516.

64. Manjarrez GG, Herrera JR, Molina A, Bueno S, González M, Hernández RJ. Alteraciones en la síntesis de serotonina cerebral inducidas por diabetes mellitus insulino-dependiente. *Rev Inv Clin* 1999; 51: 293-302.
65. Maes M, Meltzer HY. The serotonin hypothesis of major depression. En *Psychopharmacology. The Fourth Generation of Progress*, Raven Press 1995; 933-944.
66. Nishizawa S, Benkelfat C, Young SN, Leyton M, Mzengeza S, De Montigny C, Blier P, Diksic M. Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 5308-5313.
67. Steer RA, Cavalieri TA, Leonard DM, Beck AT. Use of the Beck Depression Inventory for Primary Care to screen for major depression disorders. *Gen Hosp Psychiatry* 1999; 21: 106-11.
68. Cohen J: *Statistical Power for the Behavioral Sciences*, 2 ed. Academic Press, 1991 New York.
69. Moller SE, Kirk L, Fremming KH. Plasma amino acids as an index for subgroups in Manic Depressive Psychosis: correlation to effect of tryptophan. *Psychopharmacology* 1976; 49: 205-213.
70. De Myer MK, Shea P, Hendrie HC, Yoshimura N. Plasma Tryptophan and five other amino acids in depressed and normal subjects. *Arch Gen Psychiatry* 1981; 38: 642-646.
71. Peat M, Gibb JW. High Performance Liquid Chromatography determination of indoleamines, dopamine, and norepinephrine in rat brain with fluorometric detection. *Anal Biochem* 1983;128: 275-280.
72. Friedman M, Finley JW. Methods of tryptophan analysis. *J Agric Food Chem* 1971;19: 626-631.
73. Vasama JP, Makela JP, Tissari SO, Hamalainen MS. Effects of intensity variation on human auditory evoked magnetic fields. *Acta Otolaryngol* 1995; 115: 616-621.
74. Ohresser M, Toupet M. How to perform auditory evoked potentials. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 1995; 112: 80-81.

75. Russo S, Kema IP, Fokkema MR, Boon JC, Willemse PH, de Vries EG, den Boer JA, Korf J. Tryptophan as a link between psychopathology and somatic states. *Psychosom Med* 2003; 65: 665-671.
76. Gougeon R, Pencharz PB, Marliss EB. Effect of NIDDM on the kinetics of whole-body protein metabolism. *Diabetes* 1994; 43: 318-28.
77. Caballero B, Finer N, Wurtman RJ. Plasma aminoacids and insulin levels in obesity: response to carbohydrate intake and tryptophan supplements. *Metabolism* 1988; 37: 672-676.
78. De Feo P, Perriello G, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli G, Haymond MW. Differential effects of insulin-induced hypoglycaemia on the plasma branched-chain and non-branched-chain amino acid concentrations in humans. *Diabetes Metab* 1992; 18: 277-282.
79. Pijl H, Potter van Loon BJ, Toornvliet Ac, et al. Insulin induced decline of plasma amino acid concentrations in obese subjects with and without non-insulin-dependent diabetes. *Metabolism* 1994; 43: 640-646.
80. Singh VB, Onaivi ES, Phan TH, Boadle-Biber MC. The increases in rat cortical and midbrain tryptophan hydroxylase activity in response to acute or repeated sound stress are blocked by bilateral lesions to the central nucleus of the amygdala. *Brain Res* 1990; 483: 49-53.
81. Boadle-Biber MC, Corley KC, Graves L, Phan TM, Rosecrans J. Increase in the activity of tryptophan hydroxylase from cortex and midbrain of male Fischer 344 rats in response to acute or repeated sound stress. *Brain Res* 1989; 482: 306-316.
82. Gomez R, Vargas CR, Wajner M, Barros HM. Lower in vivo brain extracellular GABA concentration in diabetic rats during forced swimming. *Brain Res* 2003 11; 968: 281-284.
83. Wei J, Quast MJ. Effect of nitric oxide synthase inhibitor on a hyperglycemic rat model of reversible focal ischemia: detection of excitatory amino acids release and hydroxyl radical formation. *Brain Res* 1998; 791:146-156.

84. Takeuchi M, Bucala R, Suzuki T, Ohkubo T, Yamazaki M, Koike T, Kameda Y, Makita Z. Neurotoxicity of advanced glycation end-products for cultured cortical neurons. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2000; 59:1094-1105.
85. Kamal A, Artola A, Biessels GJ, Gispen WH, Ramakers GMJ. Increased spike broadening and slow after-hyperpolarization in CA1 pyramidal cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuroscience* 2003; 118: 577-583.
86. Biessels GJ, van der Heide LP, Kamal A, Bleys RL, Gispen WH. Ageing and diabetes: implications for brain function. *Eur J Pharmacol* 2002; 441: 1-14.
87. Kostyuk E, Svichar N, Shishkin V, Kosyuk P. Role of mitochondrial dysfunction in calcium signaling alterations in dorsal root ganglion neurons of mice with experimentally-induced diabetes. *Neuroscience* 1999; 90: 535-541.
88. Jerger J, Lew HL Principles and clinical applications of auditory evoked potentials in the geriatric population. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2004; 15: 235-250.
89. Valastro B, Cossette J, Lavoie N, Gagnon S, Trudeau F, Massicotte G. Up-regulation of glutamate receptors is associated with LTP defects in the early stages of diabetes mellitus. *Diabetologia* 2002; 45: 642-650.
90. Krarup C. An update on electrophysiological studies in neuropathy. *Curr Opin Neurol* 2003; 16:603-612.
91. Manjarrez GG, Hernández ZE, Robles OA, Hernández RJ. Auditory evoked potentials and their relation to change of the brain serotonergic neurotransmission in rats. *Nutritional Neuroscience* 2004, enviado a publicación.

**IX. Anexos:****A. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 200 \_\_\_\_

En la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas y el Departamento de Psiquiatría del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI se realiza un estudio para conocer las causas de la depresión en las personas con diabetes. He sido informada que se me realizará un examen de mi capacidad para oír (audiometría y potenciales auditivos) y se me tomará una muestra de sangre para análisis químicos. Con la entrevista que se me realizará podré conocer cuál es mi estado emocional actual y si tengo depresión y requiero tratamiento, se me hará saber y se me sugerirán las medidas apropiadas para recibir el tratamiento adecuado. La información que proporcione se manejará en forma confidencial y se mantendrá mi identidad en secreto. Me han informado también que en caso de tener alguna duda respecto al estudio podré comunicarme al 56-27-69-00 ext 1616 con el Dr. Felipe Vázquez Estupiñán y obtener toda la información que necesite. Entiendo que podré retirarme del estudio en cuanto así lo decida sin que esto afecte la atención médica que recibo en la Institución. Por medio de la presente doy mi consentimiento para participar en el estudio titulado **L-TRIPTÓFANO LIBRE Y AMPLITUD DEL SEGMENTO N1/P2 EN LA PACIENTE DIABÉTICA TIPO 2 CON DEPRESIÓN MAYOR.**

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma  
Paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Investigador responsable  
Dr. Felipe Vázquez Estupiñán  
Departamento de Psiquiatría  
Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional Siglo XXI Tel. 56-27-69-00 Ext. 1616

## **B. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE DEPRESIÓN MAYOR DEL MANUAL DIAGNÓSTICO Y ESTADÍSTICO DE LOS TRASTORNOS MENTALES DE LA ASOCIACIÓN PSIQUIÁTRICA AMERICANA (DSM-IV).**

A. Cinco (o más) de los siguientes síntomas han estado presentes durante un período de dos semanas y representan un cambio respecto al funcionamiento previo; al menos uno de los síntomas es humor depresivo o pérdida de interés o placer (anhedonia).

Nota: No incluir síntomas que son claramente debidos a una enfermedad médica, ó ideas delirantes o alucinaciones no congruentes con el estado de ánimo.

- 1) ánimo depresivo la mayor parte del día, casi todos los días, indicado por reporte subjetivo (sentimientos de vacío o tristeza) u observación realizada por otros (ej. tendencia al llanto). Nota: en niños y adolescentes puede ser irritabilidad.
  - 2) marcada disminución del interés o placer en todas, o casi todas las actividades, la mayor parte del día, todos los días (indicada por reporte subjetivo u observación hecha por otros).
  - 3) pérdida de peso significativa sin realizar dieta, o aumento de peso (cambio de más del 5% del peso corporal en un mes), o disminución o aumento del apetito casi todos los días. Nota: en los niños, considere la incapacidad para alcanzar el peso esperado para la edad.
  - 4) insomnio o hipersomnia casi todos los días.
  - 5) agitación o retardo psicomotor casi todos los días (observable por otros, no meramente sensación subjetiva de inquietud o entecimiento).
  - 6) fatiga o pérdida de la energía casi cada día.
  - 7) sentimientos de minusvalía o culpa excesiva o inapropiada (que puede ser delirante) casi cada día (no meramente autoreproche o culpa de estar enfermo).
  - 8) disminución en la capacidad para pensar o concentrarse, o indecisión, casi todos los días por reporte subjetivo u observado por otros).
  - 9) pensamientos recurrentes de muerte (no sólo miedo a morir), ideación suicida recurrente sin un plan específico, o un intento suicida o un plan específico para suicidarse.
- B. Los síntomas no cumplen los criterios para un episodio mixto.
- C. Los síntomas causan malestar clínicamente significativo o alteración en las áreas de funcionamiento social y ocupacional.
- D. Los síntomas no se deben al efecto directo de sustancias (drogas de abuso, medicamentos) o a una condición médica (ej. como el hipotiroidismo).
- E. Los síntomas no son mejor explicados por un proceso de duelo, por ejemplo, después de la pérdida de un ser querido los síntomas persisten por más de dos meses o se caracterizan por afeción marcada del funcionamiento, preocupación mórbida por la minusvalía, ideación suicida, síntomas psicóticos o retardo psicomotor.

### C. INVENTARIO DE DEPRESIÓN DE BECK

Nombre \_\_\_\_\_ No Afiliación \_\_\_\_\_

Este Cuestionario consta de grupos de afirmaciones; por favor lea cada afirmación cuidadosamente, escoja entonces una afirmación en cada grupo, aquella que describa de mejor manera cómo se ha sentido LA SEMANA PASADA, INCLUSO HOY. Circule el número al lado de la afirmación que escogió. ASEGÚRESE DE LEER TODAS LAS FRASES EN CADA GRUPO ANTES DE HACER SU ELECCION.

1.

- 0 No me siento triste
- 1 Me siento triste
- 2 Estoy triste todo el tiempo y no me puedo reponer
- 3 Estoy tan triste o infeliz que no lo puedo soportar

2.

- 0 No estoy particularmente desilusionado (a) del futuro
- 1 Estoy desilusionado (a) del futuro
- 2 Siento que no tengo perspectiva de futuro
- 3 Siento que el futuro es desesperanzador y que nada cambiará

3.

- 0 No siento que fallé
- 1 Siento que fallo más que una persona normal
- 2 Siento que existen muchas fallas en mi pasado
- 3 Me siento una falla completa como persona

4.

- 0 Tengo tanta satisfacción de las cosas como siempre
- 1 No disfruto de las cosas como antes



- 2 No encuentro ya satisfacción real de nada
- 3 Estoy insatisfecho (a) o aburrido (a) de todo

5.

- 0 No me siento particularmente culpable
- 1 Me siento culpable buena parte del tiempo
- 2 Me siento muy culpable la mayor parte del tiempo
- 3 Me siento culpable todo el tiempo

6.

- 0 No siento que he sido castigado (a)
- 1 Siento que podría ser castigado (a)
- 2 Espero ser castigado (a)
- 3 Siento que he sido castigado (a)

7.

- 0 No me siento desilusionado (a) de mí
- 1 Estoy desilusionado (a) de mí
- 2 Estoy disgustado (a) conmigo
- 3 Me odio

8.

- 0 No me siento peor que nadie
- 1 Me critico por mi debilidad o por mis errores
- 2 Me culpo todo el tiempo por mis faltas
- 3 Me culpo por todo lo malo que sucede

9.

- 0 No tengo pensamientos de suicidarme
- 1 Tengo pensamientos de muerte pero no los realizaría
- 2 Me gustaría matarme

3 Me mataría si pudiera

**10.**

0 No lloro más de lo usual

1 Lloro más que antes

2 Lloro ahora todo el tiempo

3 Podía llorar antes, pero ahora aunque quiera, no puedo

**11.**

0 No soy más irritable de lo que era antes

1 Me siento molesto (a) o irritado (a) más fácil que antes

2 Me siento irritado (a) todo el tiempo

3 No me irrito ahora por las cosas que antes sí

**12.**

0 No he perdido el interés en otra gente

1 Estoy menos interesado (a) en otra gente que antes

2 He perdido mi interés en otra gente

3 He perdido todo mi interés en otra gente

**13.**

0 Hago decisiones igual que siempre

1 Evito hacer decisiones más que antes

2 Tengo mayores dificultades para hacer decisiones ahora

3 No puedo hacer decisiones por completo

**14.**

0 No siento que me vea peor que antes

1 Me preocupa verme viejo (a) o poco atractivo (a)

2 Siento que existen cambios permanentes en mí que me hacen lucir feo (a)

3 Creo que me veo feo (a)

**15.**

- 0 Puedo trabajar tan bien como antes
- 1 Me cuesta un esfuerzo extra empezar a hacer algo
- 2 Tengo que impulsarme muy fuerte para hacer algo
- 3 No puedo hacer nada

**16.**

- 0 Puedo dormir tan bien como siempre
- 1 No duermo tan bien como antes
- 2 Me despierto 1-2 horas más temprano que lo usual y me cuesta trabajo volver a dormir
- 3 Me despierto varias horas más temprano de lo usual y no puedo volver a dormir

**17.**

- 0 No me canso más de lo usual
- 1 Me canso más fácilmente que antes
- 2 Me canso de hacer casi cualquier cosa
- 3 Me siento muy cansado (a) de hacer cualquier cosa

**18.**

- 0 Mi apetito es igual que lo usual
- 1 Mi apetito no es tan bueno como antes
- 2 Mi apetito es mucho peor ahora
- 3 No tengo nada de apetito

**19.**

- 0 No he perdido peso
- 1 He perdido más de 2.5 kg
- 2 He perdido más de 5 kg

3 He perdido más de 7.5 kg He intentado perder peso comiendo menos  
Sí\_\_No\_\_

**20.**

0 No estoy más preocupado (a) por mi salud que antes

1 Estoy preocupado (a) por problemas físicos como dolores y molestias

2 Estoy muy preocupado (a) por problemas físicos y es difícil pensar en otras cosas

3 Estoy tan preocupado (a) con mis problemas físicos que no puedo pensar en nada más

**21.**

0 No he notado cambios en mi interés por el sexo

1 Estoy menos interesado (a) en el sexo que antes

2 Estoy mucho menos interesado (a) en el sexo ahora

3 He perdido completamente el interés en el sexo

**POR FAVOR ASEGURESE DE HABER RESPONDIDO LAS VEINTIUN PREGUNTAS.**

## D. ESCALA DE MONTGOMERY-ÄSBERG PARA DEPRESIÓN (MADRS).

### I. Tristeza aparente.

Significa sentimientos de abandono, pesar y desesperación (más que solamente ánimo decaído transitorio) reflejados en el habla, expresión facial y postura. Califique de acuerdo al grado de incapacidad para sentirse alegre.

0 No hay tristeza

1

2 Se mira desanimado pero se alegra sin dificultad

3

4 Parece triste en infeliz la mayor parte del tiempo

5

6 Se aprecia miserable todo el tiempo. Extremadamente abandonado

### II. Tristeza reportada

Representa informes de ánimo depresivo sin importar si éste se refleje en la apariencia o no. Incluye ánimo deprimido, abandono o el sentimiento de estar lejos de la ayuda y sin esperanza. Se califica con base en la intensidad, duración y límites hasta según se informe que el humor esté influido por eventos.

0 Tristeza ocasional al enfrentarse a las circunstancias diarias

1

2 Triste o con desánimo pero se alegra sin dificultad

3

4 Sentimientos persistentes de tristeza o melancolía. El humor es aún determinado por circunstancias externas

5

6 Tristeza continua e invariable. Miseria o abandono

### III. Tensión Interna

Son sentimientos de incomodidad patológica, sensación de desastre, torbellino interno, tensión mental que lleva al pánico, la desesperación o la ira. Se revisa de acuerdo a la intensidad, frecuencia, duración, y límite de reafirmación solicitado.

0 Plácido. Solo tensión interna pasajera

1

2 Sentimientos ocasionales de desesperación e incomodidad patológica

3

4 Sentimientos continuos de tensión interna o de pánico intermitente que el paciente sólo puede manejar con algunas dificultades

5

6 Ira o desesperación intolerables. Pánico sobrecogedor

### IV. Insomnio

Significa la experiencia de la reducción en la duración o profundidad del dormir del sujeto comparada con el patrón normal cuando se encuentra bien.

0 Duerme como siempre

1

2 Ligera dificultad para conciliar el dormir o esté ligeramente reducido, superficial o incómodo

3

4 Dormir reducido o perdido en cuando menos dos horas

5

6 Menos de dos o tres horas de dormir

### V. Hipofagia

Es un sentimiento de pérdida del apetito en comparación a cuando se siente bien.

Califique como pérdida del deseo a tomar los alimentos o la necesidad de forzarse para comer.

0 Apetito normal o aumentado

- 1
- 2 Apetito ligeramente reducido
- 3
- 4 Sin apetito. La comida es insípida
- 5
- 6 Necesita que se le convenza para comer

#### **VI. Dificultades en la concentración**

Representa desde tener problemas para mantener los pensamientos coherentes hasta la pérdida incapacitante de la concentración. Revise con base en la intensidad, frecuencia y grado de incapacidad producida.

- 0 Sin dificultades en la concentración
- 1
- 2 Dificultades ocasionales para mantener la coherencia de los pensamientos
- 3
- 4 Dificultades para concentrarse y mantener el pensamiento, lo cual reduce la capacidad para leer o mantener una conversación
- 5
- 6 Incapaz de leer o conversar sin gran dificultad

#### **VII. Debilidad**

Es una dificultad o enlentecimiento para iniciar y desempeñar las actividades diarias

- 0 Difícilmente tiene alguna dificultad para iniciar. No hay enlentecimiento
- 1
- 2 Problemas para iniciar los actividades
- 3
- 4 Dificultades para iniciar actividades rutinarias simples, las cuales son llevadas a cabo con esfuerzo
- 5
- 6 Debilidad completa. Incapaz de hacer nada sin ayuda

### VIII. Anhedonia

Significa la experiencia subjetiva del interés disminuido por el entorno o las actividades que normalmente dan placer. La capacidad para reaccionar con emociones adecuadas a las circunstancias o a la gente está reducida.

0 Interés normal en el entorno y en otras personas

1

2 Capacidad reducida para disfrutar intereses comunes

3

4 Pérdida del interés por el entorno y de los sentimientos por amigos y conocidos

5

6 La experiencia de estar emocionalmente paralizado, incapacidad para sentir ira, pesar o placer y una falla completa o incluso dolorosa para sentir a los parientes y amigos cercanos.

### IX. Pensamientos pesimistas

Representa sentimientos de culpa, inferioridad, autoreproche, pecaminosidad, remordimiento y ruina.

0 Sin pensamientos pesimistas

1

2 Ideas fluctuantes de falla, autoreproche o autodepreciación.

3

4 Auto-acusaciones persistentes o ideas definitivas, pero aún racionales de culpa o pecado. Gradualmente pesimista acerca del futuro

5

6 Ideas delirantes de ruina, remordimiento o pecado irremediable. Autoacusaciones que son absurdas o insacudibles.



## X. Pensamientos suicidas

Es el sentimiento de que la vida no vale la pena vivirla, que una muerte natural sería bienvenida; pensamientos suicidas y preparación para el suicidio. Los intentos suicidas no deben en sí mismos influir en la calificación.

0 Disfruta la vida o la toma como viene

1

2 Sólo pensamientos suicidas fluctuantes

3

4 Probablemente estaría mejor muerto. Los pensamientos suicidas son comunes y el suicidio se considera como una posible solución, pero sin planes o intenciones específicas

5

6 Planes explícitos para el suicidio, cuando haya oportunidad. Preparación activa para el suicidio.

## E. MEDICIÓN DE HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1) POR CROMATOGRFÍA DE INTERCAMBIO CATIONICO

### SISTEMA AMORTIGUADOR DE FOSFATOS No 1 (pH 6.7-6.8)

Se pesa en la balanza analítica

4.53 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$

1.18 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

0.65 g de CNK

Se disuelven en 500 ml de agua bidestilada.

Se determina el pH y si se encuentra en el rango se afora con agua a 1000 ml.

Se guarda en frasco color ámbar y se conserva a temperatura ambiente.

Se etiqueta con la clave 1 y se escribe la fecha de elaboración y por quien fue elaborado.

### SISTEMA AMORTIGUADOR DE FOSFATOS No 2 (pH 6.4)

Se pesa en la balanza analítica

12.69 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$

6.25 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Se disuelven en 500 ml de agua bidestilada.

Se determina el pH y si se encuentra en 6.4 se afora con agua a 1000 ml.

Se guarda en frasco color ámbar y se conserva a temperatura ambiente.

Se etiqueta con la clave 2 y se escribe la fecha de elaboración y por quien fue elaborado.

## **PREPARACIÓN DE MINICOLUMNAS REUTILIZABLES PARA CROMATOGRAFÍA**

Se pesa en la balanza analítica 20g de resina BIO-REX 70 con malla de 200-400 (12 minicolumnas aproximadamente).

Se deposita la resina en un matraz Erlenmeyer de 500 ml y se agregan 250 ml del sistema amortiguador de fosfatos No. 1.

Se agita en forma continua y se deja reposar durante 24 horas, al cabo de las cuales, se mide el pH del decantado. El pH debe coincidir con el del sistema amortiguador empleado, si no es el caso, decantarlo y agregar más sistema de amortiguador de fosfatos No. 1.

Se empaca la resina en minicolumnas de polietileno con pipeta Pasteur y con agitación constante hasta una altura de 4 cm.

Lavar con el sistema de amortiguador de fosfatos No. 1.

Conservar húmedas y tapadas las columnas hasta su utilización.

## **COLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA**

Obtenga sangre venosa en un tubo de vacutainer 12x75 mm con vacío y con EDTA como anticoagulante (tapón morado) ya que otros anticoagulantes producen valores falsamente elevados, como cuando se utiliza heparina o fluoruro de sodio que produce hemólisis. Por la naturaleza de la reacción, el paciente no requiere de condiciones especiales (ayuno), ni se requiere tomar la muestra a una hora determinada.

Identificar debidamente la muestra con el nombre del paciente y la fecha de obtención y proceder con el lavado de eritrocitos.

## **LAVADO DE ERITROCITOS**

1. Mezclar por inversión cuidadosa la muestra obtenida
2. Tomar 100 µl de sangre total (con pipeta automática) y colocarlos en el fondo de un tubo de 12x75 mm de poliestireno desechable.
3. Agregar 3 ml de solución salina isotónica de NaCl al 0.9%
4. Mezclar en agitador magnético (VÓRTEX).
5. Equilibrar los tubos.
6. Centrifugar a 1500g durante 10 minutos.

7. Decantar el sobrenadante.
8. Repetir el procedimiento desde la adición de la solución salina dos veces más.
9. Almacenar los eritrocitos lavados en refrigerador a 4-8°C por un período de hasta 15 días (solo en caso extremo).

### **PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL VALOR PORCENTUAL DE LA HbA1**

1. Agregar 1 ml de reactivo hemolisante (agua bidestilada).
2. Mezclar en agitador VORTEX durante 30 segundos, a fin de garantizar la hemólisis completa. Dejar reposar un minuto.
3. Realizar la cromatografía.
4. Identificar debidamente cada una de las microcolumnas. La determinación debe realizarse por duplicado.
5. Colocar 100 µl del hemolisado correspondiente en la parte superior de la resina (lecho) procurando no remover ésta.
6. Eluir la primera fracción agregando 3 ml de solución amortiguadora de fosfatos No. 1 en forma lenta y uniforme sin que se resuspenda el lecho de la resina.
7. Colectar la primera fracción (HbA1) en tubos de poliestireno 12x75 mm desechables.
8. Obtener la segunda fracción (HbA) colocando las columnas en tubos aforados de 12 ml.
9. Agregar 6 ml de la solución amortiguadora No.2 cuando la segunda fracción eluya completamente.
10. Retirar las minicolumnas y proceder a aforar la segunda fracción a 12 ml agregando agua bidestilada.
11. Tapar los tubos con papel parafilm y mezclar completamente por inversión manual cada una de las fracciones.
12. Determinar la absorbancia de cada una de ellas en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 413 nm.
13. Registrar la temperatura ambiente durante todo el proceso.
14. Restituir el equilibrio de las minicolumnas con la solución amortiguadora No. 1.
15. Guardarlas húmedas y tapadas para reutilizarlas.

## CALCULOS

Determinar el valor porcentual de la HbA1 mediante la siguiente relación:

$$I. \text{ Abs1} \times 100 \frac{\text{Abs1}}{\text{Abs1} + (\text{Abs2} \times 4)} = \% \text{ HbA1}$$

$$\text{Abs1} + (\text{Abs2} \times 4)$$

en donde

Abs1 = Absorbancia de la fracción 1 (HbA1)

Abs2 = Absorbancia de la fracción 2 (HbA)

4 = Factor de dilución

## VALORES DE REFERENCIA

Se ensayaron en duplicado veinte muestras de adultos sanos obteniendo los siguientes resultados:

Rango	Promedio
5 a 8.1%	6.6%

## CRITERIOS DE CONTROL

De acuerdo a la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD)

Prueba	Buen control	Aceptable	Malo
HbA1	< 8%	De 8 a 10%	> 10%
Glucosa	<115 mg/dl	116-140 mg/dl	> 140 mg/dl

## CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

### PRECISIÓN

### COEFICIENTE INTRAENSAYO

El intraensayo fue determinado realizando veinte determinaciones simultáneas en igual número de micolumnas. Los resultados para muestras con diferentes niveles se muestran en la siguiente tabla.

Nivel*	Determinaciones	Promedio % (± DE)	Coefficiente de variación %
I	20	7.75 (0.33)	4.2
II	20	10.93 (0.39)	3.6

Nivel I: Concentración baja (individuos sanos), Nivel II: Concentración alta (individuos con diabetes mellitus).

### COEFICIENTE INTER-ENSAYO

El interensayo fue determinado por el promedio de los duplicados en diferentes ensayos para cada nivel.

Nivel*	Ensayos	Promedio % (± DE)	Coefficiente de variación %
I	11	7.77 (0.47)	6
II	10	11.55 (0.71)	6.1

Nivel I: Concentración baja (individuos sanos), Nivel II: Concentración alta (individuos con diabetes mellitus).

### EXACTITUD

Los valores obtenidos se asemejan con los reportados para el Control de Diabetes (Niveles I y II) Lyphochek de BIO-RAD.

Método	Nivel I rango aceptable (%)	Promedio (%)	Nivel II rango aceptable (%)	Promedio (%)
Bio-Rad DIAMAT	6.3 – 7.9	7.1	10.6 – 12.8	11.7
Helena REP	5.4 – 8.2	6.8	10.2 – 15.3	12.8
Column Mate II Minicolumnas	7.09 – 8.41	7.75	10.1 – 11.71	10.93

## GLOSARIO

HbA1: Hemoglobina glicada (A veces llamada glicosilada). Formada entre hemoglobina y carbohidratos, incluyendo a la glucosa.

HbA1c: Hemoglobina glucosilada. Complejo molecular formado solamente por hemoglobina y glucosa.

## F. DETERMINACIÓN DE L-TRIPTÓFANO

Se determina en el plasma el L-Trp en sus formas libre y total. La diferencia entre estas dos determinaciones se considera el L-Trp unido a la albúmina. El método consiste en obtener un ultrafiltrado del plasma, el cual se realiza filtrando 0.1 ml de plasma a través de membranas Centriflo Amicon CF 50<sup>a</sup>. Aproximadamente una hora antes de usar las membranas de ultrafiltración, estas son colocadas en agua bidestilada y el exceso de agua se remueve centrifugando los conos a 600 g, durante 5 minutos. El tiempo de centrifugación empleado para obtener la FL del aminoácido fue de 60 segundos a 1800 g a temperatura ambiental. Los cambios del pH del plasma se evitaron agregando a las muestras de sangre una solución amortiguadora de tris base 0.05 M, pH 7.40. Se tomaron alícuotas de 0.01 ml del ultrafiltrado y del plasma total en donde se midió la FL y total del L-Trp.

## G. PROCEDIMIENTO DE POTENCIALES EVOCADOS AUDITIVOS DE LATENCIA LARGA

Potenciales evocados auditivos: Antes de su realización se confirmó la audición normal en las pacientes con audiometría tonal. Los estudios se efectuaron a las 8:00 AM para evitar interferencias acústicas, en un cuarto oscuro, aislado acústica y eléctricamente, con la paciente en reposo por 10 min, con los ojos cerrados. Se realizó un registro en 2 canales (A1, A2) con Cz como referencia. Se colocaron electrodos de plata con gel conductor, se midió la impedancia del cuero cabelludo y se realizó el estudio siempre y cuando la impedancia de todos los electrodos estaba por debajo de 6 ohms, en los casos que requirieron tricotomía, esta se realizó con tricótomo eléctrico, previa autorización del paciente en un diámetro de un centímetro. El paciente se colocó en un sillón reclinable, se mantuvo en reposo 10 minutos con las luces apagadas. Se le colocaron audífonos ajustables y se procedió a la aplicación de series de 200 clics de rarefacción (a una tasa de 1.1/segundo, frecuencia de 1.50 kHz y 100

mseg de duración) con tres diferentes intensidades: 70, 90 y 103 dB. Se utilizó un filtro análogo de 150 Hz, se registraron los datos en una ventana de 500 mseg post-estímulo. Para suprimir artefactos, se excluyeron todos los ensayos que rebasaban los  $\pm 50 \mu\text{V}$  en cualquier canal en cualquier momento de la promediación. Se obtuvo el promedio de las curvas de todos los sujetos en el período del componente N1/P2 (63.5-207 mseg y se imprimió el registro al final de la sesión.