



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**  
**HOSPITAL DE PEDIATRÍA**

**CAMBIO ELECTROFISIOLÓGICO EN LA CORTEZA AUDITIVA**  
**RELACIONADO A LA NEUROTRANSMISIÓN SEROTONINÉRGICA EN**  
**ADOLESCENTES CON SINDROME METABÓLICO**

**TESIS**

**Para obtener la subespecialidad de**

**ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**Presenta:**

**Médico Pediatra: JULIO MANUEL MEDINA SERRANO**

**TUTORES:**

**DRA. ROCÍO HERRERA MARQUEZ**

**DR. GABRIEL MANJARREZ GUTIÉRREZ**

**México, D.F. Enero 2008**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**  
**HOSPITAL DE PEDIATRÍA**

---

**DR. MIGUEL ANGEL VILLASIS KEEVER**  
Director de Educación e Investigación  
En Salud.

---

**DRA. IRINA E. JUAREZ MUÑOZ.**  
Jefe de la División de Educación

---

**DRA. ELISA NISHIMURA MEGURO**  
Jefe del Servicio de  
Endocrinología Pediátrica.

---

**DRA. EULALIA GARRIDO MAGAÑA**  
Médico adscrito al servicio de  
Endocrinología Pediátrica.

---

**DR. LUIS A. ARENAS AGUAYO**  
Médico adscrito al servicio de  
Neurología Pediátrica.

---

**DRA. ANA LYDIA SAUCEDO ZAINOS**  
Médico adscrito al servicio de  
Neurofisiología.

## **AGRADECIMIENTOS**

**Este trabajo de investigación fue realizado bajo la dirección de los Doctores Rocío Herrera Márquez, Endocrinóloga Pediatra del servicio de Endocrinología del Hospital de Pediatría y Gabriel Manjarrez Gutiérrez, Investigador Titular "A" del Laboratorio de Patología Molecular de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología, del Centro Médico Nacional, Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, ambos del SNI nivel I.**

**Los registros electrofisiológicos fueron efectuados en la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI del IMSS, a cargo del Dr. Armando Mansilla Olivares**

## **DEDICATORIAS**

**A mi madre y hermanos por estar siempre conmigo.**

**A mis amigos por los momentos felices y amargos compartidos.**

**A la Dra. Elisa Nishimura por sus enseñanzas y apoyo durante estos dos años.**

**A la Dra. Rocío Herrera y el Dr. Gabriel Manjarrez por el aprendizaje recibido en el quehacer de la investigación.**

**Y A TODOS LOS QUE HAN CONTRIBUIDO A MI CRECIMIENTO Y DESARROLLO.**

**Gracias.**

## INDICE

Abreviaturas	6
Resumen	7
Antecedentes científicos	8
Planteamiento del problema	19
Hipótesis	19
Objetivos	19
Material y métodos	20
Consideraciones éticas	25
Recursos para el estudio	26
Resultados	27
Discusión	34
Conclusiones	41
Bibliografía	42
Anexos	53

## **ABREVIATURAS**

AFIE	Amplitud en función de la intensidad del estímulo a diferentes decibeles
Alb	Albúmina
dB	Decibeles
CDI	Children Depression Inventory
CT	Colesterol Total
L- Trp	L-Triptófano
FL	Fracción libre
5-HT	Serotonina ó 5-hidroxitriptamina
HDL-c	High Density Lipoprotein
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
IMC	Indice de masa corporal
mseg	Milisegundos
µV	Microvolt
N1/P2	Componente formado por una onda negativa a los 100 mseg (N1) y una onda positiva a los 200 mseg (P2) en los potenciales auditivos evocados.
PAE	Potencial auditivo evocado
SERT	Proteína transportadora de serotonina
TG	Triglicéridos
TPH	Triptófano-5-hidroxilasa

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Demostrar que los pacientes con síndrome metabólico (SM) tienen una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral a través de la amplitud dependiente de la intensidad del segmento N1/P2 del potencial auditivo evocado (PAE) y de la concentración plasmática del L-triptófano libre (FL).

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Se efectuó un estudio transversal comparativo en dos grupos de adolescentes: uno control y el otro con síndrome metabólico. A todos los adolescentes se les evaluó la actividad cortical a través del potencial auditivo evocado (PAE), además se les tomaron cinco ml de sangre para medirles glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL-C, LDL-C), albúmina y fracciones de L-Trp (libre, unida y total).

**RESULTADOS:** Los adolescentes con SM mostraron un aumento de la amplitud del componente N1/P2 del PAE y una elevación de la pendiente de éste componente en relación a los controles ( $p < 0.05$ ), además tuvieron niveles significativamente elevados del L-Trp libre y de la relación de la FL/total del L-Trp plasmático en comparación a los adolescentes controles ( $p < 0.05$ ).

**CONCLUSIONES:** Se confirmó que los adolescentes con SM tienen una elevación de la concentración de la FL del L-Trp en el plasma, además un aumento de la amplitud del componente N1/P2 del PAE y una elevación de la pendiente de este componente. Estos resultados en conjunto sugieren que la amplitud del PAE reflejan cambios de la actividad serotoninérgica cerebral en éstos pacientes con SM.

## **ANTECEDENTES CIENTIFICOS**

El síndrome metabólico (SM) es un problema grave de salud pública mundial, mediante los criterios del NCEP-ATP III, tiene una prevalencia que varía entre 7.9 al 56.7% de acuerdo a la edad, el sexo, el origen étnico y al estilo de vida (1-3). En México se tiene reportado una prevalencia del 26% en población adulta y en los adolescentes es de 6.9% en los hombres y 7.6% en las mujeres. Interesantemente se ha observado que el SM se presenta en el 1.3% en adolescentes con un índice de masa corporal (IMC) normal, el 18.4% con sobrepeso y en el 58.6% en los adolescentes obesos (4-6). Estos resultados apoyan el hecho de que el SM es muy frecuente en la población pediátrica de nuestro país.

El SM es causado por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y la ausencia de actividad física; de forma que el exceso de grasa corporal (particularmente la abdominal) y la inactividad, favorecen el desarrollo de la resistencia a la insulina (1-7), además de que algunos individuos están genéticamente predispuestos a padecerlo (7). El interés por este síndrome está dado fundamentalmente por su elevada morbi-mortalidad, debido al incremento en la mortalidad cardiovascular, aumento significativo del riesgo de diabetes, ataques cardíacos y enfermedad cerebrovascular en la población adulta (1,7,8). Sin embargo, este aspecto no se ha abordado en

la población pediátrica. El incremento insidioso en los elementos del SM, obesidad, resistencia a la insulina (IR) y dislipidemia, son los responsables de la actualmente considerada epidemia mundial de Diabetes tipo 2.

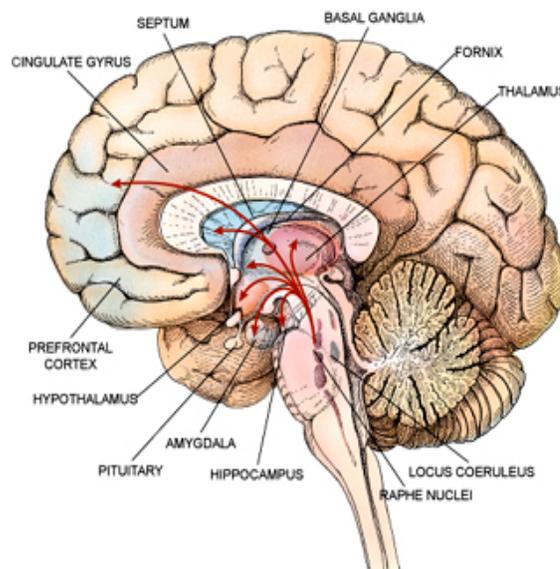
El SM es una enfermedad multifactorial que se acompaña de obesidad abdominal, alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos e hipertensión arterial (1-9). Se cuenta con criterios establecidos para definir SM en población adulta (NCEP-ATP III, OMS, EGIR, AAEC, FID) (1,3,9), pero aún no se cuenta con criterios establecidos para población infantil. Actualmente el SM en la edad pediátrica ha sido definido en base a modificaciones de los criterios del NCEP-ATP III por la presencia de tres ó más de los siguientes componentes (4,10,11): 1) obesidad central con circunferencia de la cintura  $\geq$  a la percentila 90 en mujeres y hombres; 2) concentraciones elevadas de triglicéridos  $\geq$  110 mg/dL; 3) niveles de lipoproteínas de colesterol de alta densidad (C-HDL)  $\leq$  40 mg/dL en hombres y mujeres; 4) presión arterial sistólica ó diastólica  $\geq$  a la percentila 90 para la edad, género y talla; 5) niveles de glucosa de ayuno  $\geq$  100 mg/dL; (4,10,11).

Las bases fisiopatológicas que participan en la concurrencia de las alteraciones bioquímicas en el SM todavía permanecen desconocidas. Muchas investigaciones han puntualizado la estrecha relación que existe entre los signos clínicos cardinales: resistencia a la insulina, exceso de

tejido adiposo abdominal, aumento de la tensión arterial, anormalidades de los lípidos y arteriosclerosis (12). También en el SM varios procesos neurometabólicos probablemente estén involucrados (13). Se sabe que el Sistema Nervioso Central (SNC), además de regular los comportamientos normales de los individuos como son: la alimentación, locomoción, reproducción, control del sueño y vigilia, dolor, agresión y respuesta al estrés (14); modula también múltiples procesos metabólicos a través de vías autonómicas y neuroendócrinas, de tal modo que el SM se asocia con una activación crónica del eje hipotálamo-hipófisis-glándulas suprarrenales (13).

El sistema serotoninérgico cerebral, en particular tiene rasgos neuroanatómicos y funcionales que sugieren su participación en la fisiopatología del SM. Las neuronas que sintetizan la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) se encuentran ubicadas en los núcleos del rafe del tallo cerebral, cerca de la línea media. Está formado por dos conjuntos de neuronas que han sido divididas de acuerdo a su origen embrionario: el grupo superior, procede del mesencéfalo, está constituido por cuatro subgrupos: el núcleo caudal lineal (NCL); el núcleo del rafé medio (NRM); el núcleo del rafé dorsal (NRD) y el núcleo del lemnisco medial (NLM). El grupo inferior, tiene su origen en el mielencéfalo, consta de cinco subgrupos: el núcleo del rafé obscurus (NRO); el núcleo del rafé palidus (NRP); el núcleo del rafé magnus (NRM); el núcleo ventro lateral medular

(NVLM) y el núcleo del área postrema (NAP). Además, existe un grupo de neuronas serotoninérgicas localizado en los núcleos dorsomedial del hipotálamo (15-17). Estas neuronas han sido demostradas por técnicas de inmunocitoquímica, mediante anticuerpos específicos para serotonina en humanos (17), ratas (18,19), monos (20) y gatos (21). (Fig. 1)



**Figura 1. Sistema serotoninérgico cerebral en el humano.**

Las neuronas serotoninérgicas inician su función durante la vida fetal, su actividad la ejercen a través de un neurotransmisor específico, la 5-HT (22), la cual reúne todos los requisitos para ser considerada un neurotransmisor ó neuromodulador (23,24). Su maquinaria biosintética y las enzimas catabólicas se localizan en el soma y en las terminales nerviosas de las células serotoninérgicas, además se ha identificado un

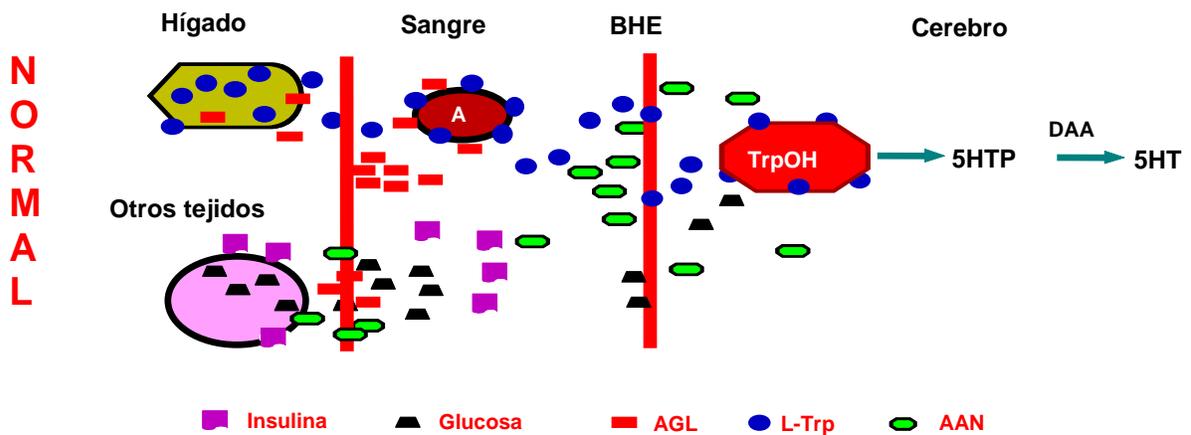
sistema de receptores específicos en neuronas blanco de diferentes regiones cerebrales (25). La 5-HT durante la embriogénesis participa en los procesos de diferenciación del SNC como son: axogénesis y sinaptogénesis (26,27); la diferenciación de neuronas blanco; control del número final de receptores específicos a la 5-HT (26) y en la modulación de su propia síntesis (27).

Este grupo de neuronas envía sus prolongaciones axónicas a la corteza cerebral, hipotálamo y núcleos del cerebro medio, entre otras estructuras del SNC, en donde ejerce un amplio control neuromodulatorio. (28-30). El L-triptófano (L-Trp) es el precursor metabólico de la síntesis de 5-HT. El L-Trp es un aminoácido esencial en el organismo, por lo que se debe de obtener de las proteínas de la dieta, se encuentra en el plasma en dos fracciones, el 90% se une a la albúmina y el 10% restante se encuentra en forma libre (FL). La relación que guardan estas dos fracciones en el plasma es la que determina la disponibilidad de la FL para su ingreso a los tejidos, en donde participa en varias vías metabólicas como la vía del ácido nicotínico, del ácido cinurénico, de la coenzima A y en la síntesis de proteínas (31). Además la FL del L-Trp ingresa al cerebro a través de un sistema de transporte activo dependiente de energía en donde estimula la síntesis de 5-HT (32). Existen varios factores metabólicos en el organismo que regulan la concentración de la FL en la sangre. El grado de unión que tiene el aminoácido a la albúmina y las concentraciones de albúmina y los

ácidos grasos libres (AGL), juegan un papel importante en la disponibilidad de la FL para su transporte al cerebro para la síntesis de 5-HT (33).

Se ha observado en ratas que la FL del L-Trp compite por su transportador de membrana a nivel de los capilares de la barrera hemato-encefálica (BHE), con otros aminoácidos aromáticos relativamente no polares (aminoácidos neutros, AAN), de tal forma que una disminución de la concentración de estos AAN en el plasma permitirá un mayor paso de la FL de L-Trp al cerebro y un aumento en la síntesis de serotonina (34-36), ó al contrario, si existe un aumento de la concentración de estos AAN en la sangre se producirá una disminución del ingreso de la FL del L-Trp al cerebro y consecuentemente una disminución en la síntesis de este importante neurotransmisor, serotonina (34-36).

Una vez que la FL de L-Trp ingresa al cerebro, de inmediato es captado por las neuronas serotoninérgicas, en donde es hidroxilado en su posición cinco por la triptófano-5-hidroxilasa (TPH2) (37), el 5-hidroxitriptófano formado es descarboxilado por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos (DAA) para producir serotonina (38). La 5-HT sintetizada se almacena en vesículas sinápticas que se encuentran en las terminales nerviosas serotoninérgicas, estas vesículas varían de tamaño según su localización. Recientemente se ha descrito en varias partes del SNC terminales nerviosas no sinápticas. Este tipo de terminales le confiere también a la 5-HT un papel de neuromodulador (39) ( Fig. 2).



**Figura 2. Metabolismo del L-Triptófano.**

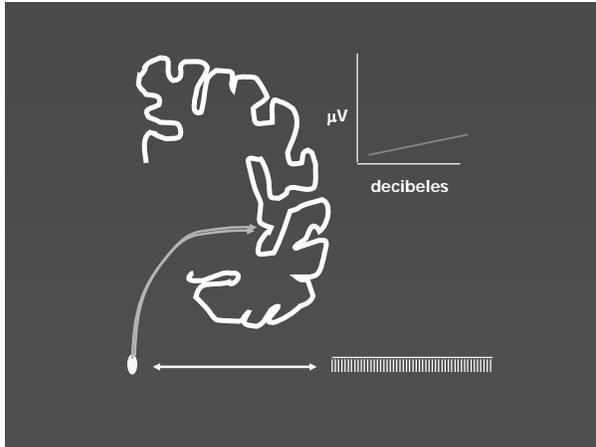
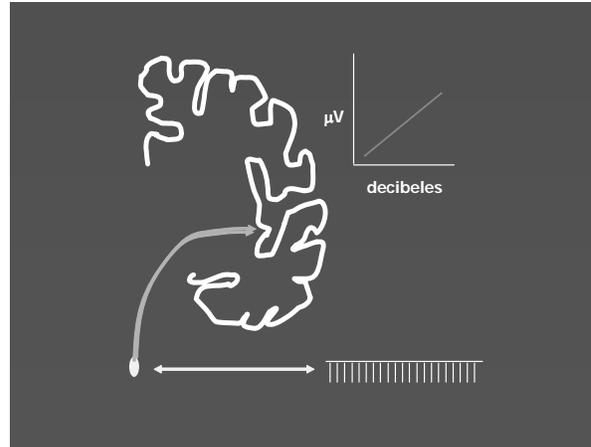
Recientemente se ha reportado un cambio específico en el sistema serotoninérgico cerebral durante el estado diabético, que consiste en una disminución de la biosíntesis de 5-HT, debido a una disminución de la concentración de la FL del L-Trp en el plasma y en el cerebro, junto con una inhibición a largo plazo de la actividad de la TPH2 (40,41). Estos hallazgos en conjunto apoyan una menor actividad de la neurotransmisión serotoninérgica en el cerebro de los animales diabéticos. Esta misma condición también se ha observado que ocurre en los niños con diabetes tipo 1, ya que su FL del L-Trp está significativamente disminuida (42,43). La FL del L-Trp se encuentra en un equilibrio dinámico con otros AAN. En los pacientes diabéticos se ha demostrado un desbalance de estos AAN en el plasma, que favorece la disminución de la disponibilidad de la FL del L-

Trp para su ingreso al cerebro y consecuentemente una disminución de la síntesis de serotonina cerebral (44).

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 en donde se genera el componente N1/P2 del potencial auditivo evocado (PAE) (45). Los potenciales auditivos evocados son el registro amplificado de la actividad eléctrica neuronal frente a estímulos acústicos, proporcionan datos de cómo diversas estructuras del cerebro procesan la información del sonido. Los potenciales evocados pueden clasificarse de acuerdo al momento de la aparición de la respuesta después del estímulo auditivo que los generen, en tempranos, intermedios y tardíos. Los tempranos resultan de la activación de la vía auditiva hasta las estructuras del tallo cerebral, mientras que los tardíos representan la actividad de la corteza auditiva, específicamente la corteza primaria. Las ondas que componen el registro de los PAEs se designan como positivas (P) y negativas (N) y se les añade un número de acuerdo al orden de presentación (46). La primera onda se identifica como P1, el componente N1, es el pico más negativo que se presenta entre 60 y 120 milisegundos (mseg) después de la estimulación sonora, y el componente P2 es el pico más positivo entre los 110 y 210 mseg, después de N1 (46).

En años recientes, el estudio de los efectos de la 5-HT en la corteza cerebral ha ganado la atención entre los neurocientíficos, esto puede ser debido al hecho que la 5-HT promueve la especificación y diferenciación de varias áreas corticales, en particular la capa IV de las cortezas somatosensorial y auditiva primaria, ambas cortezas reciben inervación serotoninérgica procedente de los núcleos del rafé (47-49). Un concepto importante para el presente estudio es que la 5-HT modula la excitabilidad neuronal de la corteza auditiva primaria (50,51). Se ha observado que al existir una disminución del neurotransmisor en esta área cortical, se produce un aumento de la respuesta neuronal y consecuentemente un incremento de la intensidad del componente N1/P2. O lo contrario, al haber un aumento de 5-HT cerebral se produce una disminución de la amplitud de este segmento N1/P2 del PAE (41,46,52).

A los PAEs también se les estudian la amplitud, la latencia y la pendiente que relaciona la amplitud de la respuesta en función de la intensidad sonora de los estímulos (AFIE) a diferentes decibeles. Por lo tanto, se ha planteado que la amplitud del segmento N1/P2 dependiente de la intensidad puede estar relacionada a la actividad de las neuronas serotoninérgicas en la corteza auditiva primaria, donde la serotonina ejerce efectos facilitatorios ó inhibitorios de la actividad neuronal que depende del tipo de receptor serotoninérgico que esté involucrado (53) (Fig. 3 A y B).

**A****B**

**Figura 3. A)** El disparo rápido de las neuronas del rafé 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.

En recientes hallazgos experimentales de nuestro laboratorio hemos observado que ratas sometidas a desnutrición *in-útero* tienen un aumento de la 5-HT cerebral que correlaciona con la concentración de la FL del L-Trp plasmático y con la amplitud del componente N1/P2 del PAE. Además, se demostró un alto valor predictivo de éstos parámetros con la síntesis de este neurotransmisor (54). Por otro lado, se ha observado que los pacientes con Diabetes tipo 1 y 2 tienen un incremento significativo de la pendiente de la amplitud en relación con la intensidad de estímulo del componente N1/P2, obtenido con varias intensidades del estímulo auditivo (43,44). La amplitud del segmento N1/P2 del PAE ha sido propuesto como un indicador no invasivo de la actividad serotoninérgica cerebral (43-45).

Más específicamente, un incremento de la respuesta auditiva evocada con el aumento de la intensidad del estímulo auditivo es el reflejo de una baja actividad serotoninérgica, mientras una disminución de la respuesta es debido a un aumento de la actividad serotoninérgica. Así pues, está aceptado actualmente que la amplitud de este componente N1/P2 del PAE representa las funciones integrativas de la actividad de la corteza auditiva primaria y el efecto modulador de la neurotransmisión serotoninérgica (43-45).

Por otro lado existen resultados que han evaluado la actividad serotoninérgica en los pacientes adultos con SM (55,56) sin embargo no existe ningún antecedente en la edad pediátrica.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿El síndrome metabólico se asocia a una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral?

## **HIPÓTESIS**

Los pacientes con síndrome metabólico tienen una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral evaluado a través de la amplitud del segmento N1/P2 del PAE y de la FL del L-Trp, con respecto a los controles.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Demostrar que los pacientes con síndrome metabólico tienen una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral a través de la amplitud dependiente del segmento N1/P2 del PAE y la FL del L-Trp plasmático.

### **Específicos**

- 1.** Determinar la amplitud del componente N1/P2 del PAE en adolescentes con SM y controles.
- 2.** Cuantificar la concentración plasmática del L-Trp libre, unido a albúmina y total en ambos grupos de adolescentes

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Diseño del estudio:** Transversal comparativo

**Universo de trabajo:** Pacientes adolescentes con síndrome metabólico, que acudieron a la consulta externa del departamento de Endocrinología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y adolescentes sanos captados a través de la invitación directa a familiares del personal que labora en la misma institución y familiares de los pacientes con SM.

### **Descripción de las variables:**

#### **Según la metodología:**

**Variable de resultado:** presencia ó ausencia de síndrome metabólico.

**Variable predictoras:** Niveles plasmáticos de L-Trp, amplitud del segmento N1/P2 del PAE.

**Variables de confusión:** Otro tipo de enfermedades endocrinológicas y psiquiátricas.

#### **Descripción operativa:**

**Síndrome metabólico:** Se definió de acuerdo al Panel de Expertos III para el tratamiento del adulto, modificado para niños y adolescentes (10,11), los cuales debieron de presentar tres ó más de los siguientes componentes: 1) obesidad central (circunferencia de la cintura  $\geq$  a la

porcentila 90 en mujeres y hombres (57); 2) concentraciones de triglicéridos  $\geq 110$  mg/dL, 3) niveles de C-HDL  $\leq 40$  mg/dL en hombres y mujeres, 4) presión arterial sistólica ó diastólica  $\geq$  a la porcentila 90 para la edad, género y altura, y 5) niveles de glucosa de ayuno  $\geq 100$  mg/dL. variable de tipo nominal que se evaluó como presente o ausente.

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

**Amplitud del componente N1/P2 del PAE:** Es la distancia que existe entre las crestas del N1 y P2, obtenidas mediante la medición del registro gráfico del PAE a través de los cursores en el equipo de cómputo utilizado para su obtención. Es una variable cuantitativa y se expresa en  $\mu\text{V}$ . Se consideró la amplitud del segmento N1/P2 en cuatro intensidades del estímulo acústico (50, 70, 90 y 103 dB).

## **SELECCION DE LA MUESTRA**

**Tamaño de la muestra:** Se efectuó mediante una varianza combinada de 0.84 en los valores de N1/P2 del PAE obtenido en un estudio previo, diferencia mínima de 2 unidades,  $\beta = 5\%$  y  $\alpha = 0.01$  se calcularon 10 pacientes por grupo mediante el programa Epistat. Se integraron dos grupos: uno con síndrome metabólico y el otro control.

**Criterios de inclusión:**

Pacientes de 10 a 17 años de edad, masculinos y femeninos, con el diagnóstico de síndrome metabólico. Sin ninguna ingesta de medicamentos con actividad serotoninérgica (fenfluramina, buspirona, anticolinérgicos, antihistamínicos y bloqueadores H<sub>1</sub>), con cognición y audición normal.

Para el grupo control se incluyeron adolescentes sanos de la misma edad y géneros.

**Criterios de exclusión:**

Pacientes con SM que tuvieron antecedentes de enfermedades psiquiátricas evaluadas a través del cuestionario CDI (inventario de depresión en el niño, children depression inventory) (58) (Anexo 10), o que tuvieron otras endocrinopatías.

**Criterios de eliminación**

Pacientes que presentaron alguna complicación aguda de la vía auditiva al momento del estudio.

**Muestreo y procedimientos**

A todos los adolescentes que ingresaron al estudio y a los padres de ellos, se les solicitó una carta de consentimiento informado, una vez que se les explicó detalladamente y se les aclaró sus dudas con respecto a todos los procedimientos a los que fueron sometidos (Anexo 1). Después de doce horas de ayuno a todos los pacientes entre las 07:00 y 08:00 h se les

tomaron cinco mililitros de sangre por punción de la vena basílica, la sangre se colocó en tubos de borosilicato que contenían una solución ACD (citrato de sodio 3.3 mg, ácido cítrico 1.2 mg y dextrosa 3.68 mg, amortiguados con tris-base 50 mmol, pH 7.40; 150  $\mu$ L por cada ml de sangre). Los tubos con las muestras de sangre se protegieron del aire atmosférico sellándolos inmediatamente con papel parafilm, se centrifugaron a 600 g por tres minutos a temperatura ambiental. En estas muestras se les midió el L-Trp libre y total, glucosa sérica, triglicéridos, colesterol, lipoproteínas de baja y alta densidad y albúmina plasmática.

Las muestras del L-Trp se determinaron en el Laboratorio de Patología Molecular de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología del CMN Siglo XXI. Además se les realizaron los PAE en la misma unidad. Los registros fueron realizados mediante un aparato Viking 4, marca Nicolet. Los adolescentes fueron sentados cómodamente en un sillón con la cabeza quieta y con los ojos cerrados, evitando el parpadeo continuo y los movimientos de la cabeza. Las respuestas evocadas fueron registradas en dos canales referidos en Cz. Electrodo de AgCl fueron utilizados (Electrodos de discos de EEG, NE-101, 10 mm de diámetro). 200 tonos de 1 KHz de frecuencia, 100 mseg de duración con 10 mseg de elevación y 10 mseg de tiempo de caída, en una ventana de 1000 y 1500 mseg con cuatro intensidades del estímulo sonoro 50, 70, 90 y 103 dB, generado por un estimulador del mismo equipo Viking 4, los estímulos

fueron presentados en forma binaural por medio de audífonos. Los registros fueron colectados con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz y un filtro análogo de 0.1 a 150 Hz. Fueron evaluados 200 barridos para cada intensidad, 200 mseg antes del estímulo y 200 mseg posestímulo. Los artefactos en todos los ensayos se excluyeron cuando el voltaje excedió de 50  $\mu$ V, en cualquiera de los dos canales y en cualquier momento del registro. Las gráficas X-Y de los PAEs fueron examinadas y las crestas más prominentes fueron identificadas mediante un software Viking 4, Nicolet. Las gráficas mostradas (Fig.6) son ejemplos ilustrativos de los PAEs obtenidos a una estimulación de 50, 70, 90 y 103 dB, en un adolescente control (A) y un paciente con síndrome metabólico (B). Las latencias en mseg y las amplitudes en  $\mu$ V fueron también calculadas. La amplitud del componente N1/P2 del PAE se consideró como la suma en  $\mu$ V entre las crestas de las ondas N1 y P2.

Además se diseñó una hoja de concentración de los datos clínicos: identificación, antecedentes patológicos, edad, datos antropométricos: que incluyó peso, talla, índice de masa corporal, circunferencia de cintura, presión arterial (Anexo 2).

### **Ensayos bioquímicos**

Determinación de glucosa (Anexo 3)

Cuantificación de triglicéridos (Anexo 4)

Determinación de colesterol total (Anexo 5)

Determinación de c-HDL (Anexo 6)

Determinación de L-triptófano (libre y total) en el plasma (Anexo 7)

Determinación de Albúmina (Anexo 8)

### **Ensayos electrofisiológicos**

Potenciales auditivos evocados. (Anexo 9)

### **Análisis estadístico**

Las diferencias entre los valores promedio fueron analizadas a través de la prueba estadística U de Mann Whitney con un nivel de significación de  $p < 0.05$ . La reproducibilidad de las curvas fue evaluada por las pruebas de Levene y el coeficiente de correlación. La amplitud del componente N1/P2 fue determinada en todas las intensidades 50, 70, 90 y 103 dB y la relación entre la amplitud del componente N1/P2 en función de la intensidad del estímulo sonoro fue calculada a través de un análisis de regresión lineal para cada uno de los grupos del estudio.

### **CONSIDERACIONES ETICAS**

El presente estudio fue aprobado por el comité de investigación y de ética del Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

## **RECURSOS PARA EL ESTUDIO**

**Recursos humanos:** Endocrinóloga pediatra, residente de endocrinología pediátrica del departamento de Endocrinología del Hospital de Pediatría e Investigador titular del laboratorio de Patología Molecular. Unidad de Investigación Biomolecular en Cardiología del Hospital de Cardiología, ambos del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

**Recursos materiales:** Se utilizó un equipo de HPLC. Se utilizaron filtros Nanosep de 30 daltons, reactivos y soluciones grado HPLC. Los estudios de PAEs se realizaron en un equipo Nicolet Viking

**Recursos Financieros:** Se obtuvo un donativo económico otorgado por la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS. No. 206/1A/I/048

## RESULTADOS

Los datos clínicos de los niños con síndrome metabólico se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.**  
**Datos clínicos de adolescentes controles (C) y con síndrome metabólico (SM)**

	<b>C</b> <b>n = 13</b>	<b>SM</b> <b>n = 18</b>
<b>Edad (años)</b>	<b>13.1 ± 2.0</b>	<b>12.2 ± 2.2</b>
<b>Género M</b>	<b>9</b>	<b>11</b>
<b>F</b>	<b>4</b>	<b>7</b>
<b>Peso (Kg)</b>	<b>49.1 ± 11.8</b>	<b>77.9 ± 22.8 **</b>
<b>Talla (m)</b>	<b>1.5 ± 0.1</b>	<b>1.5 ± 0.1</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup> sc)</b>	<b>19.6 ± 2.3</b>	<b>31.1 ± 5.3 **</b>
<b>Circunferencia de cintura (cm)</b>	<b>71.5 ± 8.5</b>	<b>100.7 ± 14.0 **</b>
<b>Sístole (mmHg)</b>	<b>101.5 ± 8.0</b>	<b>115.0 ± 12.1 **</b>
<b>Diástole (mmHg)</b>	<b>62.6 ± 6.6</b>	<b>71.6 ± 10.8 *</b>

**Cada punto representa el promedio ± desviación estándar de cada uno de los grupos correspondientes. La diferencia fue determinada por la prueba de U de Mann-Whitney. \*p < 0.05, \*\* p < 0.01**

En la tabla 2 se muestran los datos bioquímicos de los niños controles y con síndrome metabólico. Como puede verse los pacientes con el síndrome metabólico mostraron concentraciones significativamente elevadas de glucosa ( $p < 0.05$ ) y triglicéridos ( $p < 0.01$ ), y disminución de la concentración de HDL en el plasma ( $p < 0.01$ ) al compararlos con los controles. En relación a la albúmina plasmática no se observó diferencia significativa entre los grupos del estudio.

**Tabla 2**

**Datos bioquímicos en el plasma de los adolescentes controles (C) y con síndrome metabólico (SM)**

	<b>C</b> <b>n = 13</b>	<b>SM</b> <b>n = 18</b>
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	<b>84.9 ± 8.6</b>	<b>97.3 ± 16.6*</b>
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	<b>154.6 ± 24.7</b>	<b>171.1 ± 35.9</b>
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	<b>65.8 ± 16.6</b>	<b>217.3 ± 102.8**</b>
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	<b>54.3 ± 6.9</b>	<b>34.4 ± 5.5**</b>
<b>Albúmina (g/dl)</b>	<b>4.0 ± 0.3</b>	<b>4.1 ± 0.2</b>

**Cada punto representa los valores promedio ± desviación estándar de cada uno de los grupos correspondientes. La diferencia fue determinada por la prueba de U Mann Whitney. \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < .01$**

Uno de los parámetros bioquímicos más importantes que se determinó en los pacientes con SM y controles, fueron las diferentes fracciones de L-Trp plasmático. En lo que respecta a la FL del aminoácido, el grupo con síndrome metabólico mostró un aumento significativo en comparación al grupo control ( $p < 0.01$ ). Además, interesantemente los adolescentes con síndrome metabólico tuvieron un aumento significativo de la relación FL/Total del aminoácido al compararlo con los adolescentes normales ( $p < 0.05$ ) (Tabla 3 y Fig. 4)

**Tabla 3**

**Concentración de L-Triptófano en el plasma de los adolescentes controles (C) y con síndrome metabólico (SM)**

	<b>C</b> <b>n = 13</b>	<b>SM</b> <b>n = 18</b>
<b>Libre</b>	<b>6.5 ± 0.9</b>	<b>7.7 ± 1.2**</b>
<b>Unido</b>	<b>56.0 ± 8.6</b>	<b>53.1 ± 10.6</b>
<b>Total</b>	<b>62.8 ± 9.0</b>	<b>60.3 ± 11.1</b>
<b>Relación Libre/total</b>	<b>0.108 ± 0.03</b>	<b>0.136 ± 0.03 *</b>

**Cada punto representa los valores promedio ( $\mu\text{Mol/L}$ )  $\pm$  desviación estándar. Todas las determinaciones fueron efectuadas en muestras por duplicado. La diferencia entre los grupos fue determinada por U de Mann Whitney, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .**

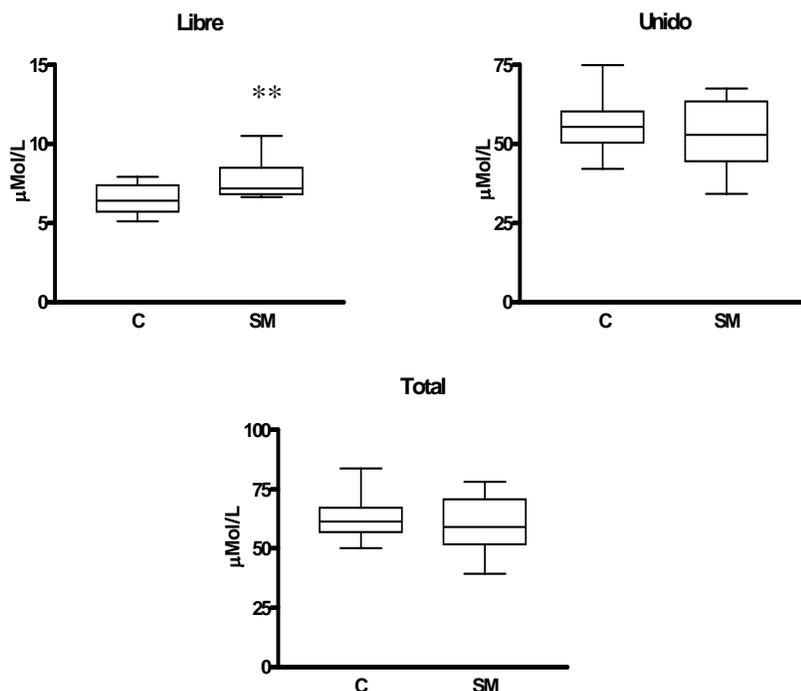


Figura 4. Concentración de L-triptofano en el plasma. C, control y SM, síndrome metabólico. Se presentan la mediana y los rangos mínimo y máximo. Las muestras fueron efectuadas por duplicado. \*\* p < 0.05, U de Mann Withney.

Los PAEs consisten en cuatro ondas que se inician después de 50 msec de dar un estímulo sonoro. La primera onda se identifica como P1, la siguiente onda se designa como N1 (cresta más negativa dentro de los 60 y 120 msec) y la segunda onda positiva corresponde a la P2 (es la cresta positiva dentro de los 110 y 210 msec). Además a partir de las crestas de las ondas N1 y P2 se integra el componente N1/P2, parámetro electrofisiológico que se midió en los pacientes con síndrome metabólico y controles. En ambos grupos de pacientes se les dio un estímulo auditivo con cuatro intensidades sonoras 50, 70, 90 y 103 dB; con el patrón de

respuesta cortical auditiva en las cuatro intensidades al estímulo sonoro fue posible calcular la pendiente del componente N1/P2 del PAE (Figura 5).

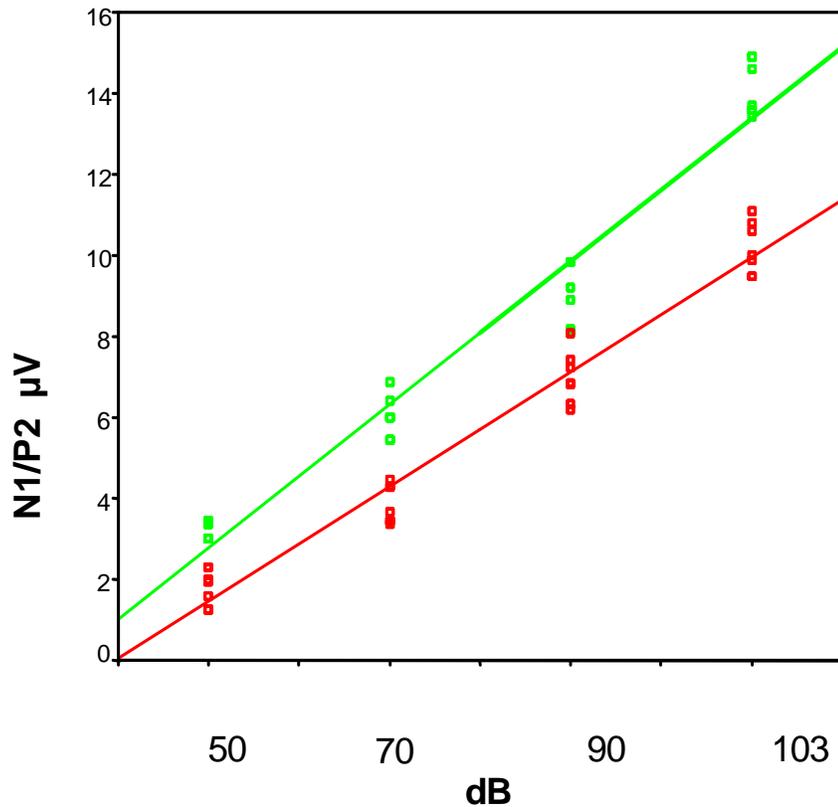
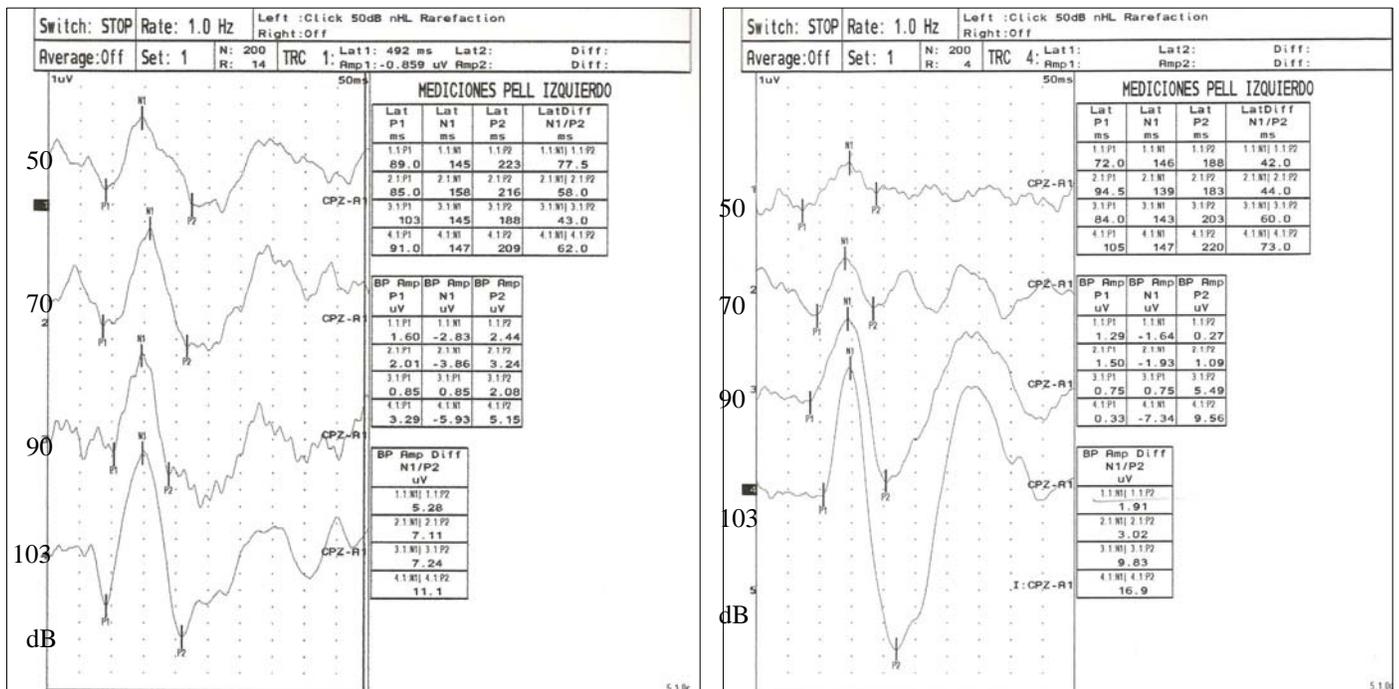


Fig. 5 Diagrama de dispersión y análisis de regresión lineal ● controles, pendiente AFIE=  $-1.16 + 2.71$  intensidad,  $r^2 = 0.93$ ,  $r = 0.96$ ; ● Síndrome metabólico, pendiente AFIE=  $-0.75 + 3.53$

Es importante señalar que el patrón de respuesta del componente N1/P2 del PAE en los adolescentes con síndrome metabólico fue un patrón aumentador que se caracterizó por que a cada incremento en la intensidad del estímulo, le correspondió un aumento en la amplitud de la respuesta;

con este patrón de respuesta fue posible determinar la pendiente del componente N1/P2 a través de un análisis de regresión lineal, como una medida de incremento de la amplitud en función de la intensidad del estímulo (AFIE). Nótese que los niños con síndrome metabólico mostraron una mayor amplitud del componente N1/P2 en las cuatro intensidades del estímulo sonoro, y que la pendiente conforme a la AFIE fue significativamente más pronunciada ( $AFIE = -0.75 + 3.53 \text{ dB}$ ) a la que tuvieron los niños controles ( $AFIE = -1.16 + 2.71 \text{ dB}$ ) (Ver Figura 5).



A)

B)

Fig. 6. Ejemplos ilustrativos de los PAEs (promedio de 200 respuestas), a estímulos de 50, 70, 90 y 103 dB de la intensidad del estímulo auditivo. A) Adolescente control, B) Adolescente con SM. La amplitud del componente del N1/P2 fue determinado desde las crestas N1 y P2.

Las latencias en mseg de N1 y P2 registradas en Cz mostraron un tendencia a incrementarse con la intensidad del estímulo auditivo de  $135.1 \pm 0.9$  a  $140.7 \pm 6.20$  (N1) y  $190.7 \pm 12.6$  a  $200.6 \pm 13.1$  (P2) en el grupo control y  $130.5 \pm 9.8$  a  $140.9 \pm 5.5$  (N1) y  $172.0 \pm 11.9$  a  $205.4 \pm 7.1$  (P2) en los pacientes con síndrome metabólico. Sin embargo no existieron diferencias significativas en las latencias de estos componentes (N1 y P2) en ambos grupos de adolescentes.

## **DISCUSION**

El objetivo del presente trabajo fue demostrar que los pacientes con SM tienen una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral a través de la amplitud de la pendiente del segmento N1/P2 del PAE y la FL del L-Trp plasmático. Nuestros resultados actuales muestran que los adolescentes con SM tienen una elevación de FL del L-Trp y de la relación FL/total del aminoácido en plasma. Se ha propuesto que la FL del L-Trp y su unión a la albúmina juega un papel importante en la regulación de la cantidad de L-Trp libre disponible en el plasma para su transporte al cerebro. También, existen otros factores metabólicos que contribuyen a modificar la disponibilidad del aminoácido plasmático, entre ellos se encuentra la concentración de albúmina y la cantidad de AGL (31). Por lo tanto, estos mecanismos regulan la cantidad del aminoácido disponible para su paso al cerebro a través de la BHE, por un mecanismo de transporte activo que está mediado por un sistema de transporte membranal al tejido nervioso (59,60), en donde es captado por las neuronas serotoninérgicas. De este modo, estimula o disminuye la síntesis del neurotransmisor, serotonina (34-36).

El aumento de la FL del L-Trp plasmático que mostraron los adolescentes con SM en este estudio, podría ser debido a la lipólisis que frecuentemente presentan estos pacientes (61), este hecho, ocasiona un aumento de los AGL, que se sabe que compiten con el L-Trp por su unión

con la albúmina (62). Estos eventos metabólicos no ocurren en los adolescentes normales, cuando por alguna circunstancia, la concentración de los AGL aumentan en el plasma, éstos tienen concentraciones de albúmina circulante normales que proporcionan cantidades suficientes de sitios de unión para los AGL y el L-Trp plasmático, así evitan que la FL del L-Trp aumente en el plasma (31,63,64). En cambio, los pacientes con SM, independientemente de que tuvieron concentraciones normales de albúmina, los sitios de unión son insuficientes para unir el L-Trp, debido a la gran cantidad de AGL que se producen durante la lipólisis que presentan estos pacientes, lo que origina un aumento de la disponibilidad de la FL aminoácido en el plasma, aspecto que se observó en estos pacientes con SM (62).

Sin embargo, es importante señalar, que otro cambio metabólico que se presenta en la obesidad, parte importante del SM, es un aumento significativo de los AAN (65), que compiten con la FL del L-Trp por el mismo transportador en los capilares de la BHE (32). Fernstrom y col (34) han postulado que para que haya un mayor paso de L-Trp al cerebro, el grupo de AAN debería de estar disminuido en la sangre o viceversa, es decir, a mayor concentración de AAN en el plasma, menor paso de L-Trp al SNC. En este estudio no se midió la concentración de AAN en la sangre en estos pacientes con SM. Pero en base a lo previamente comentado en los pacientes obesos que tienen un aumento significativo de la concentración

plasmática de los AAN (65), nos permite plantear la hipótesis de que la relación de la FL del L-Trp/AAN en la sangre, parece ser el factor bioquímico determinante que regula el ingreso del L-Trp al cerebro para la síntesis de serotonina cerebral (34,65) y en nuestros pacientes con SM probablemente exista una disminución del ingreso del L-Trp al cerebro y por lo consiguiente una disminución de la síntesis de serotonina cerebral.

Otra parte importante del presente trabajo fue demostrar que los pacientes con SM tienen una disminución de la actividad serotoninérgica cerebral a través del aumento de la amplitud dependiente de la intensidad del componente N1/P2 del PAE. En efecto se observó que los pacientes con SM mostraron una elevación significativa de la pendiente del componente N1/P2, lo que sugiere que la amplitud de éste segmento refleja la actividad serotoninérgica cerebral, ya que se ha demostrado que al existir una elevación de la concentración de serotonina en la corteza auditiva primaria, se produce una disminución del componente N1/P2 y lo contrario sucede cuando hay una menor concentración del neurotransmisor en esta región cortical (43,44,54).

Hegerl y cols (45) observaron que la amplitud del componente N1/P2 del PAE a diferentes intensidades del estímulo sonoro produce una pendiente, que representa la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria en especial la capa IV, sitio en donde arriban los estímulos sonoros procedentes del tálamo (66). Además, observaron que pacientes

deprimidos bajo tratamiento con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina presentaban un cambio significativo de esta pendiente, sugiriendo que la serotonina juega un papel primordial en la modulación de la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria. El hecho de que los pacientes controles en este trabajo mostraran una pendiente más horizontal del componente N1/P2, puede reflejar una mayor integridad funcional del sistema serotoninérgico cerebral frente a la estimulación auditiva.

Asimismo evidencia experimental que apoya que un estímulo sonoro favorece la síntesis y liberación de serotonina en las vías serotoninérgicas que llegan a la corteza auditiva primaria, como ha sido descrito por Boadle-Biber y cols (67). También se ha observado que la actividad de la TPH2, enzima clave en la biosíntesis de serotonina cerebral, se incrementa gradualmente con el aumento de la intensidad del estímulo sonoro (41). Por lo tanto, todos estos hallazgos apoyan el hecho de que la serotonina modula la actividad neuronal de la corteza auditiva (51).

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 primaria, acompañado de un aumento de serotonina, 30 minutos después de la administración del L-Trp, además de una notable disminución significativa del componente N1/P2 del PAE. De la misma

manera se ha observado con agonistas serotoninérgicos. Lo contrario se presentó con antagonistas serotoninérgicos. Todos estos resultados apoyan el hecho de que un nutrimento esencial en la dieta modifica la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria (68). Por lo tanto, el componente N1/P2 del PAE, ha sido propuesto como indicador de la actividad moduladora de las neuronas serotoninérgicas en la corteza auditiva primaria, en donde un bajo tono serotoninérgico induce una mayor dependencia de la intensidad de la respuesta registrada a través de un aumento en la amplitud del componente N1/P2 y viceversa (43,44,54,68). Lo anterior sugiere fuertemente que existe una relación funcional entre la actividad serotoninérgica cerebral con los cambios del componente N1/P2 (45,69). Este componente es el resultado de la integración espacial y temporal de varios procesos neuronales (46). El análisis de origen del dipolo eléctrico ha permitido la identificación de dos componentes. Una fuente de un polo tangencial que representa la activación de la corteza auditiva primaria y un segundo polo radial generado por la actividad de estructuras de la corteza auditiva secundaria (46). Debido a que estas respuestas eléctricas también son inducidas en los niños por estímulos auditivos y registrados en las áreas correspondientes a las proyecciones auditivas del cráneo, creemos que es razonable aceptar que también en los adolescentes, como en los adultos estas ondas reflejan la integración cortical de la actividad auditiva (46).

Alteraciones de la actividad auditiva cortical expresada por los cambios en la dependencia de la amplitud al estímulo sonoro en los PAEs, parece ser la consecuencia de un mecanismo central que regula la sensibilidad sensorial. De acuerdo a esta hipótesis, una reducción de la actividad cortical refleja una actividad pronunciada de este mecanismo para proteger al organismo de una sobrecarga sensorial, mientras que un aumento estaría relacionado a una falta de dicho mecanismo. Siguiendo este concepto, el aumento de la dependencia a la intensidad del estímulo observado en los pacientes con SM en el presente estudio, indicaría una disminución de ese mecanismo regulador. Diversos autores han sugerido que este posible mecanismo se ubica a nivel del tallo cerebral y estaría representado por el sistema serotoninérgico (67). Se sabe que la serotonina tiene una función homeostática en el sistema nervioso central ajustando y controlando factores de ganancia y niveles de excitabilidad de las neuronas corticales (70,73). La capa IV de la corteza sensorial, especialmente la corteza auditiva primaria tiene una densa inervación serotoninérgica. Por otra parte, la capa IV recibe la mayoría de las entradas sensoriales específicas provenientes del tálamo (71,72). Por ello, se ha propuesto que las proyecciones serotoninérgicas de los núcleos del rafé del tallo cerebral, modulan el procesamiento de las señales iniciadas en la corteza sensorial (50,51).

Basados en los presentes resultados electrofisiológicos, nosotros proponemos que en los adolescente la respuesta de la corteza auditiva dependiente de la intensidad del estímulo sonoro puede estar también modulada por el tono serotoninérgico y en el caso de los adolescentes con SM, una neurotransmisión serotoninérgica disminuida podría provocar un comportamiento diferente de la corteza sensorial, y en el caso de este estudio los cambios registrados en la respuesta de la corteza auditiva como un aumento significativo en la amplitud del componente N1/P2.

En conclusión, los presentes resultados confirman que los adolescentes con síndrome metabólico presentan una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral reflejada por un aumento de la respuesta de la corteza auditiva primaria evaluada a través del aumento en la amplitud del componente N1/P2 del PAE.

## **CONCLUSIONES**

Se puede concluir que el aumento de la amplitud y pendiente del componente N1/P2 del PAE reflejan cambios en la respuesta de la corteza auditiva. Estos hallazgos observados en los pacientes con SM corresponden a una actividad serotoninérgica baja. Por ello, proponemos el uso del componente N1/P2 dependiente de la intensidad del estímulo sonoro de los PAEs como un indicador clínico electrofisiológico no invasivo de los cambios de la actividad serotoninérgica cerebral en los pacientes con SM.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Aguilar SCA, Rojas R, Gómez-P FJ, Mehta R, Franco A, Olaiz G, Rull JA. The Metabolic Syndrome: A Concept Hard to Define. Arch Med Res 2005;36:223-31.
2. Reaven G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. Endocrinol Metab Clin N Am 2004;33:283-303.
3. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. Endocrinol Metab Clin N Am 2004;33:351-75.
4. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin R, Caprio S. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. N Engl J Med 2004;350:2362-424.
5. Rodríguez-Morán M, Salazar-Vázquez B, Violante R, Guerrero-Romero F. Metabolic Syndrome Among Children and Adolescents Aged 10-18 Years. Diabetes Care 2004; 27:2516-17.
6. Posadas RC. Obesidad y el síndrome metabólico en niños y adolescentes. Rev Endocr Nutr 2005; 13(Supl 1): 545-46.
7. Grundy SM. What is the contribution of obesity to the metabolic syndrome? Endocrinol Metab Clin N Am 2004;33:267-82.

8. Natali A, Ferrannini E. Hypertension, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004;33:417-29.
9. George MK, Alberti M, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366:1059-62.
10. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz W. Prevalence of a Metabolic Syndrome Phenotype in Adolescents. Finding From the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2003;157:821-27.
11. De Ferranti SD, Gauveau K, Ludwig D. Prevalence of the Metabolic Syndrome in American Adolescents. Findings From the Third National Health and Nutrition. *Circulation* 2004;110:2494-97.
12. Lann DMD, LeRoith DMD. Insulin Resistance as the Underlying Cause for the Metabolic Syndrome. *Med Clin N Am* 2007;91:1063-77.
13. Tentolouris N, Liatis S, Katsilambros N. Sympathetic System Activity in Obesity and Metabolic Syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1083:129-52.
14. Squire LR, Bloom FE, McConnell SK, Roberts JL, Spitzer NC, Zigmond MJ. 2003. *Fundamental Neuroscience*, Academic Press. Pp 1426.
15. Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 1992;72:165-229.

16. Dahlstrom A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiol Scand* 1964;62 suppl 232:1-55.
17. Takahashi H, Nakashima S, Ohama E, Takeda S, Ikuta F. Distribution of serotonin-containing cell bodies in the brainstem of the human fetus determined with immunohistochemistry using antiserotonin serum. *Brain Dev* 1986;8:355-65.
18. Levitt P, Moore RY. Developmental organization of raphe serotonin neuron groups in the rat. *Ant Embryol* 1978;154:241-51.
19. Steinbusch HWM. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neurosci* 1981;4:557-618.
20. Bowker RM, Westlund KN, Coulter JD. Origins of serotonergic projections to the lumbar spinal cord in the monkey using a combined retrograde transport and immunocytochemical technique. *Brain Res Bull* 1982;9:271-8.
21. Jacobs BJ, Gannon PJ, Azmitia EC. Atlas of serotonergic cell bodies in the cat brainstem: an immunocytochemical analysis. *Brain Res Bull* 1984;13:1-31.
22. Beaudet A, Descarries L. The fine structure of central serotonin neurons. *J Physiol Paris* 1981;77:193-203.

23. Olson L, Seiger A. Early prenatal ontogeny of central monoamine neurons in the rat: fluorescence histochemical observations. *Z Ant Entwickl Gesh* 1972;137:301-16.
24. Olson L, Boréus LO, Seigar A. Histochemical demonstration and mapping of 5-hydroxytryptamine and catecholamine containing neuron systems in the human fetal brain. *Z Anat Entwickl Gesh* 1973;139:259-82.
25. Fillion MP, Hernández RJ, Bauguen C, Fillon G. Postnatal developmet of high affinity neuronal recognition sites for (<sup>3</sup>H) 5-HT in rat brain. *Dev Neurosci* 1982;5:484-91.
26. Peroutka SJ, Lebovitz RM, Snyder SH. Two distinct central serotonin receptors with different physiological function. *Science* 1982;212:827-29.
27. Haydon PG, McCobb DP, Kater SB. Serotonin selectively inhibits growth cone motility and synaptogenesis of specific identified neurones. *Science* 1984;226:561-64
28. Mercado R, Hernández RJ. A molecular recognizing system of serotonin in rat fetal axonal growth cones: uptake and high affinity binding. *Dev Brain Res* 1992;69:133-37.
29. Lauder JM, Wallace JA, Krebs H, Petrusz P. Serotonin as a timing mechanism in neuroembryogenesis. In *Progress in Psychoneuroendocrinology*. North Holland: Elsevier Biomedical Press 1980:539-55.

30. Gromová HA, Chubakov AR, Chumasov EI, Konovalov HV. Serotonin as a stimulator of hippocampal cell differentiation in tissue culture. *Int J Devl Neurosci* 1983;1:339-49.
31. McMenemy R, Oncley JL. The specific binding of L-tryptophan to serum albumin. *J Biol Chem* 1975;233:1436-47.
32. Hernandez RJ, Chagoya GG. Brain serotonin synthesis and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup> ATPase activity are increased postnatally after prenatal administration of L-Tryptophan. *Dev Brain Res* 1986;25:221-6.
33. Brodersen R, Vorum H, Krukow N, Pedersen AO. Binding of long-chain fatty acids to serum albumin in healthy humans. Relationship to obesity. *Eur J Biochem* 1991;197:461-5
34. Fernstrom JD, Wurtman RJ. Brain serotonin content: physiological regulation of plasma neutral amino acids. *Science* 1972;178:414-6.
35. Fernstrom JD, Faller DV. Neutral amino acid in the brain changes in response to food ingestion. *J Neurochem* 1978;30:1531-8.
36. Fernstrom JD, Faller DV, Shabshelowitz H. Acute reduction of brain serotonin and 5-HIAA following food consumption; correlation with the ratio of serum tryptophan to the sum of competing amino acids. *J Neural Transm* 1975;36:113-21.
37. Gorgnia K. Effects of repeated 5-hydroxytryptamine injection on temperature regulating the functional activity of brain 5-hydroxytryptamine. *Nature* 1976;260:487-91.

38. Azmitia ECh. Serotonin neurons, neuroplasticity and homeostasis of neural tissue. *Neuropsychopharmacology* 1999;21:33-45S.
39. Barotsky AL, Taylor J, Massari VJ. Dorsal raphe-hypothalamic projections provide the stimulatory serotonergic input to suckling-induced prolactin release. *Endocrinology* 1983;18:94-103.
40. Manjarrez GG, Herrera MJR, Bueno SS, González RM, Hernández RJ. Cambios en la biosíntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina: efecto del tratamiento con insulina. *Rev Invest Clin* 2000;52:509-16.
41. Herrera MR, Manjarrez GG, Hernández RJ. Inhibition and kinetic changes of brain typtophan-5-hydroxylase during insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Nutrition Neurosci* 2005;8: 57-62.
42. Herrera R, Manjarrez G, Nishimura E, Hernández J. Serotonin-related tryptophan in children with insulin-dependent diabetes. *Pediatr Neurol* 2003;28:20-3.
43. Manjarrez G, Herrera R, Leon M, Hernández R. A low brain serotonergic neurotransmission in children with type 1 diabetes detected through the intensity dependence of auditory evoked potentials. *Diabetes Care* 2006;29:73-7.
44. Manjarrez G, Vázquez F, Delgado M, Herrera R, Hernández J. A Functional Disturbance in the Auditory Cortex Related to a Low

Serotonergic Neurotransmission in Woman with Type 2 Diabetes. *Neuroendocrinology* 2007;86(4):289-94.

45. Hegerl U, Juckel G. Intensity dependence of auditory evoked potentials as an indicator of central serotonergic neurotransmission: a new hypothesis. *Biol Psychiatry* 1993;33:173-87.

46. Barth SD, Shi D. The functional anatomy of middle latency auditory evoked potentials. *Brain Res* 1991;565:109-15.

47. Bayer SA, Altman J. *Neocortical development*. New York: Raven Press.,1991, 255 pp.

48. Gilbert SF. *Developmental Biology*. 5nd ed. Sunderland: Sinauer,1997, 918 pp.

49. McConell SK. Constructing the cerebral cortex: Neurogenesis and fate determination. *Neuron* 1995;15:761-8.

50. Datwani A, Iwasato T, Itohara S, Erzurumlu RS. NMDA Receptor dependent pattern transfer from afferents to postsynaptic cells and dendritic differentiation in the barrel cortex. *Mol Cell Neurosci* 2002;21:477-92.

51. Laurent A, Goillard JM, Cases O, Lebrand C, Gaspar P, Ropert N. Activity-dependent presynaptic effect of serotonin 1B receptors on the somatosensory thalamocortical transmission in neonatal mice. *J Neurosci* 2002;22:886-900.

52. Juckel G, Molnar M, Hegerl U, Csépe V, Karmas G. Auditory-evoked potentials as indicator of brain serotonergic activity: first evidence in behaving cats. *Biol Psychiatry* 1997;41:1181-95.
53. Zhou FM, Hablitz JJ. Activation of serotonin receptors modulates synaptic transmission in rat cerebral cortex. *J Neurophysiol* 1999;82:2989-99.
54. Manjarrez GG, Hernández ZE, Robles OA, González RM, Hernández RJ. Development impairment of auditory evoked N1/P2 component in rats undernourished in utero: its relation to brain serotonin activity. *Dev Brain Res* 2001;127:149-55.
55. Muldoon MF, Mackey RH, Williams KV, Korytkowski MT, Flory JD, Manuck SB. Low central nervous system serotonergic responsivity is associated with the metabolic syndrome and physical inactivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:266-71
56. Muldoon MF, Mackey RH, Korytkowski MT, Flory JD, Pollock BG, Manuck SB. The Metabolic Syndrome Is Associated with Reduced Central Serotonergic Responsivity in Healthy Community Volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:718-21.
57. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison D. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of african-american, european-american, and mexican-american children and adolescents. *J Pediatr* 2004;145:439-44.

58. Kovacs M. The Children's Depression Inventory (CDI). *Psychopharmacol Bull* 1985;21:995-8.
59. Pardridge WM. Tryptophan transport through the blood-brain barrier: in vivo measurement of free and albumin-bound amino acid. *Life Sci* 1979;25:1519-28
60. Sorukes TL. Kinetics of tryptophan transport into the brain. *J Neural Transm Suppl* 1977;15:107-14.
61. Brotman DJ, Girod JP. The metabolic syndrome: A tug-of-war with no winner. *Cleve Clin J Med* 2002;69:990-4.
62. Brodersen R, Vorum H, Krukow N, Pedersen AO. Binding of long-chain fatty acids to serum albumin in healthy humans. Relationship to obesity. *Eur J Biochem* 1991;197:461-5.
63. Tagliamonte A, Biggio G, Vargin L, Gessa GL. Free tryptophan in serum controls brain tryptophan level and serotonin synthesis. *Life Sci* 1973;12:277-87.
64. Fernstrom JD. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiol Rev* 1983;63:484-546.
65. Caballero B, Finer N, Wurtman RJ. Plasma aminoacids and insulin levels in obesity: response to carbohydrate intake and tryptophan supplements. *Metabolism* 1988;37:672-6.
66. Manjarrez GG, Herrera MJR, Molina HA, Bueno SS, González RM, Hernández RJ. Alteraciones de la neurotransmisión serotoninérgica

cerebral inducida por diabetes mellitus tipo 1. *Rev Invest Clin* 1999;51:293-302.

67. Boadle Biber MC. Regulation of serotonin synthesis. *Prog Biophys Mol Biol* 1993;60:1-7.

68. Manjarrez G, Cisneros I, Herrera R, Vazquez F, Robles A, Hernández J. Prenatal impairment of brain serotonergic transmission in infants. *J Pediatr* 2005;147:592-6.

69. Ehlers CL, Wall TL, Chaplin LR. Long latency event-related potentials in rats. Effects of dopaminergic and serotonergic depletions. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;38:789-93.

70. Gaspar P, Cases O, Maroteaux L. The developmental role of serotonin: New from mouse molecular genetics. *Nature Rev Neurosci* 2003;4:1002-10.

71. López-Bendito G, Molnár Z. Thalamocortical development: How are we going to get there?. *Nature Rev Neurosci* 2003;4:276-89.

72. Molnár Z, Adams R, Blakemore C. Mechanisms Underlying the Early Establishment of Thalamocortical Connections in the Rat. *J Neurosci* 1998;18:5723-45.

73. Zhou FM, Hablitz JJ. Activations of Serotonin Receptors Modulates Synaptic Transmission in Rat Cerebral Cortex. *J Neurophysiol* 1999;82:2989-99.

74. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards the measurement of serum albumin with bromocresol green. Clin Chim Acta 1971;31:87-96.

## Anexo 1



---

---

### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

#### DELEGACIÓN 3 SUROESTE DEL DISTRITO FEDERAL HOSPITAL DE PEDIATRÍA C.M.N. SIGLO XXI CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 20\_\_\_\_

En la Unidad de Investigación Biomolecular y el Departamento de Endocrinología del Hospital de Pediatría y Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, se realiza un estudio denominado : **CAMBIO ELECTROFISIOLÓGICO DE LA CORTEZA AUDITIVA RELACIONADO A LA NEUROTRANSMISIÓN SEROTONINÉRGICA EN ADOLESCENTES CON SÍNDROME METABÓLICO**. Cuyo objetivo es conocer si la serotonina (sustancia o neurotransmisor) producida en el cerebro esta alterada y participa en el desarrollo del síndrome metabólico. He sido informada(o) que se me realizará un examen de mi capacidad para oír (potenciales auditivos evocados) y se me tomará una muestra de sangre para análisis químicos.

**Posibles beneficios:** Con mi participación en el estudio es posible conocer si se encuentran alteraciones en la glucosa y los lípidos sanguíneos y el diagnóstico del Síndrome metabólico con lo cual recibiré asesoría en nutrición y en su caso manejo médico farmacológico para dislipidemia

**Posibles daños:** Debido a la punción venosa y aunque es bajo el riesgo, puede presentarse un pequeño hematoma (moretón) o sangrado en el sitio de la punción (piquete), que será tratado y contenido oportunamente.

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 22156 o 22292 con el responsable 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.

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

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

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

\_\_\_\_\_  
Investigador responsable

Dra. Rocío Herrera Márquez

*Departamento de Endocrinología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional,  
Siglo XXI Tel. 56-27-69-00 Exts 22309 y 22292*

## Anexo 2

### A. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha \_\_\_\_\_ Folio \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

Número de afiliación \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Clínica de adscripción \_\_\_\_\_ Servicio que refiere \_\_\_\_\_

Síndrome metabólico      Sí  No  Fecha del diagnóstico \_\_\_\_\_

Peso \_\_\_\_\_: p \_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ p \_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ p \_\_\_\_

Cintura \_\_\_\_\_ p \_\_\_\_ TA \_\_\_\_\_ p \_\_\_\_

Hora de obtención de la muestra \_\_\_\_\_ h

Glucosa sérica \_\_\_\_\_ Triglicéridos \_\_\_\_\_

CT \_\_\_\_\_ HDL-C \_\_\_\_\_ LDL-C \_\_\_\_\_

L-Trp \_\_\_\_\_, U-Trp \_\_\_\_\_, T-Trp \_\_\_\_\_, Rel L-Trp/T-Trp \_\_\_\_\_

Tratamiento \_\_\_\_\_

Observaciones \_\_\_\_\_

Potenciales evocados auditivos:

P1 amplitud \_\_\_\_\_ latencia \_\_\_\_\_ 50 \_\_\_\_\_ 70 \_\_\_\_\_ 90 \_\_\_\_\_ 103 \_\_\_\_\_ dB

N1 amplitud \_\_\_\_\_ latencia \_\_\_\_\_ 50 \_\_\_\_\_ 70 \_\_\_\_\_ 90 \_\_\_\_\_ 103 \_\_\_\_\_ dB

P2 amplitud \_\_\_\_\_ latencia \_\_\_\_\_ 50 \_\_\_\_\_ 70 \_\_\_\_\_ 90 \_\_\_\_\_ 103 \_\_\_\_\_ dB

Pendiente AFIE \_\_\_\_\_

### **Anexo 3**

#### **Determinación de glucosa sérica**

1. A 10  $\mu$ L de suero se les adicionaron 2 ml del reactivo de glucosa oxidasa.
2. Se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente
3. Se leyó la reacción a 400 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro.
4. En cada ensayo se realizó una curva estándar de glucosa.
5. La glucosa se expresó en mg/dL.

### **Anexo 4**

#### **Determinación de HDL-c en suero**

1. Se obtuvieron 5 ml de sangre en tubo sin anticoagulante.
2. Se centrifugó a 2,000 RPM por 10 minutos.
3. Se obtuvo el suero y se pasó a lectura del suero en cubetas de 1 ml.
4. Condiciones de lectura de la muestra:
  - Volumen de la muestra ----- 3  $\mu$ L
  - Volumen de reactivo 1 ----- 300  $\mu$ L
  - Volumen de reactivo 2 ----- 100  $\mu$ L
  - Temperatura del ensayo ----- 37°C  $\pm$  0.1 °C
  - Longitud de onda ----- 600 y 700 nm
  - Tipo de medición ----- Punto final dicromático
  - Unidades ----- mg/dl (mmol/L)
5. La concentración de HDL-c se expresó en mmol/l (mg/dl)

6. Se utilizó el reactivo para HDL-c de DADE BHERING Inc. Dimension®, Flex®

## **Anexo 5**

### **Determinación de L-triptófano libre y total en el plasma**

1. Se obtuvieron dos ml de sangre en un tubo de borosilicato con 300 µL de una solución anticoagulante ACD (citrato de sodio 3.6 mg, ácido cítrico 9.9 mg y dextrosa 11 mg, amortiguados con solución trisma base 50 mM, pH 7.40.
2. Inmediatamente después de su obtención los tubos con las muestras de sangre se colocaron a temperatura ambiente y se protegieron de la luz.
3. Una hora después los tubos con la sangre se centrifugaron a 600 g, durante 3 min.
4. Se obtuvo un ultrafiltrado del plasma con membranas Nanosep 30K, el tiempo de centrifugación empleado fue de 60 segundos a 3,000 g.
5. 20 µl del ultrafiltrado y del plasma total, se desproteinizaron con ácido HClO<sub>4</sub>, 0.1 M, más metabisulfito de sodio 4 mM. Se centrifugaron a 15,000 g, 10 minutos.
6. Se utilizó una columna de simetría C<sub>18</sub> de fase reversa, 3.9 X 150 mm de longitud y 5 µm de tamaño de la partícula.
7. Mediante una fase binaria de un mililitro por minuto de una solución amortiguadora de fosfato monopotásico 0.02 M, más 1g/L de ácido heptanosulfónico sal de sodio, pH 3.50 y metanol/agua 3:2.

**8.** La reacción se midió en un detector fluorométrico a 290 nm de excitación y 330 nm de emisión. La respuesta se cuantificó por un sistema análogo Millenium 2020.

**9.** La concentración de la forma libre y total del L-Trp en el plasma fué expresada en  $\mu\text{mol/L}$

## **Anexo 6**

### **Determinación de Triglicéridos en suero**

**1.** Se obtuvieron 5 ml de sangre en tubo sin anticoagulante.

**2.** Se centrifugó a 2,000 RPM por 10 minutos.

**3.** Se obtuvo el suero y se pasó a lectura del suero en cubetas de 1 ml.

**4.** Condiciones de lectura de la muestra:

- Volúmen de la muestra ----- 4  $\mu\text{L}$
- Volúmen de reactivo 1 ----- 133  $\mu\text{L}$
- Temperatura del ensayo -----  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
- Longitud de onda ----- 510 y 700 nm
- Tipo de medición ----- Punto final dicromático
- Unidades ----- mg/dl (mmol/L)
- Volúmen de muestra sujeto a autodilución ----- 2  $\mu\text{L}$

**5.** La concentración de triglicéridos se expresó en mmol/l (mg/dl)

**6.** Se utilizó el reactivo para TG de DADE BHERING Inc. Dimension®,

Flex®

## **Anexo 7**

### **Determinación de Colesterol Total en suero**

- 1.** Se obtuvieron 5 ml de sangre en tubo sin anticoagulante.
- 2.** Se centrifugó a 2,000 RPM por 10 minutos.
- 3.** Se obtuvo el suero y se pasó a lectura del suero en cubetas de 1 ml
- 4.** Condiciones de lectura de la muestra:
  - Límites del análisis (a 37°C) ----- 50 – 600 mg/dl (1.3 – 15.5 mmol/l)
  - Niveles de calibración ----- 50, 250, 450 mg/dl
  - Esquema de calibración ----- Tres niveles en triplicado
  - Coeficientes asignados ----- Co 0.3162  
C1 0.7886
- 5.** La concentración de colesterol total se expresó en mmol/l (mg/dl)
- 6.** Se utilizó el reactivo para TG de DADE BHERING Inc. Dimension®, Flex®

## **Anexo 8**

### **Determinación de albúmina**

La concentración de albúmina plasmática se determinó por el método espectrofluorométrico de Doumas et al. (74) usando albúmina humana como estándar. A 25  $\mu$ L de plasma total se les agregó 5 ml de una solución de verde de bromocresol 0.6 mM en una solución amortiguadora de ácido succínico 0.10 M, pH 4.20. Los tubos con la reacción se agitaron constantemente en un baño metabólico (Dubnoff) por 10 minutos a 25°C. El desarrollo de la reacción se midió en un espectrofotómetro Varian DM a 628 nm de excitación. En cada ensayo se incluyó una curva estándar de albúmina humana y las concentraciones se expresaron en gramos por decilitro.

## **Anexo 9**

### **Registro del potencial auditivo evocado**

- 1.** Se efectuaron los registros a las 8:00 h en un cuarto oscuro, aislado acústica y eléctricamente, con el paciente en reposo y con los ojos cerrados.
- 2.** Se realizó un registro de 2 canales (A1, A2). Se utilizó Cz como referencia.
- 3.** 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 5 ohms, en ningún caso se requirió tricotomía.
- 4.** El paciente se colocó en un sillón reclinable, se mantuvo en reposo con las luces apagadas.
- 5.** Se le colocaron audífonos ajustables y se procedió a la aplicación de series de 200 tonos de 1 KHz de frecuencia, 100 mseg de duración con 10 mseg de elevación y 10 mseg de tiempo de caída, en una ventana de 1000 y 1500 mseg con cuatro intensidades del estímulo sonoro 50, 70, 90 y 103 dB, generado por un estimulador del mismo equipo Viking 4, los estímulos fueron presentados en forma binaural por medio de audífonos.
- 6.** Los registros fueron colectados con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz y un filtro análogo de 0.1 a 150 Hz.

- 7.** Fueron evaluados 200 barridos para cada intensidad, 200 mseg antes del estímulo y 200 mseg posestímulo. Los artefactos en todos los ensayos se excluyeron cuando el voltaje excedió de 50  $\mu\text{V}$ , en cualquiera de los dos canales y en cualquier momento del registro.
- 8.** Las gráficas X-Y de los PAEs fueron examinadas y las crestas más prominentes fueron identificadas mediante un software Viking 4, Nicolet. Las latencias en mseg y las amplitudes en  $\mu\text{V}$  fueron también calculadas. La amplitud del componente N1/P2 del PAE se consideró como la suma en  $\mu\text{V}$  entre las crestas de las ondas N1 y P2.

## Anexo 10

### CDI Describe como te has sentido en las últimas dos semanas.

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ años Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### Item 1

- Me siento triste de vez en cuando.
- Me siento triste muchas veces.
- Me siento triste todo el tiempo.

#### Item 2

- Nunca me va a ir bien.
- No se si me va a ir bien.
- Yo se que me va a ir bien.

#### Item 3

- Casi todo lo hago bien.
- Muchas cosas las hago mal.
- Todo lo hago mal.

#### Item 4

- Muchas cosas me divierten.
- Algunas cosas me divierten.
- Nada me divierte.

#### Item 5

- Todo el tiempo me siento mal.
- Muchas veces me siento mal.
- A veces me siento mal.

#### Item 6

- A veces creo que me van a pasar cosas malas.
- Me preocupa que me vayan a pasar cosas malas.
- Estoy seguro que me van a pasar cosas terribles.

#### Item 7

- Me odio a mi mismo.
- No me gusta como soy.
- Me gusta como soy.

#### Item 8

- Todas las cosas malas son por mi culpa.
- Muchas cosas malas son por mi culpa.
- Generalmente muchas cosas malas no son por mi culpa.

#### Item 9

- No pienso en matarme.
- Pienso en matarme pero no voy a hacerlo.
- Quiero matarme.

#### Item 10

- Todos los días me dan ganas de llorar.
- Muchos días me dan ganas de llorar.
- A veces me dan ganas de llorar.

#### Item 11

- Todo el tiempo me siento preocupado.
- Muchas veces e siento preocupado.
- A veces me siento preocupado.

#### Item 12

- Me gusta estar con la gente.
- Muchas veces no me gusta estar con la gente.
- No me gusta estar con la gente.

#### Item 13

- Nunca puedo decidirme.
- Es difícil decidirme.
- Es Fácil decidirme.

#### Item 14

- Me veo bien.
- En algunas cosas me veo bien.
- Me veo mal.

#### Item 15

- Siempre me cuesta trabajo hacer mi tarea.
- Muchas veces me cuesta trabajo hacer mi tarea.
- No tengo problema para hacer mi tarea.

#### Item 16

- Todas las noches tengo problemas para dormir.
- Muchas noches tengo problemas para dormir.
- Duermo bastante bien.

#### Item 17

- A veces me siento cansado.
- Muchas veces me siento cansado.
- Siempre me siento cansado.

#### Item 18

- Casi nunca tengo ganas de comer.
- Muchas veces no tengo ganas de comer.
- Como bastante bien.

#### Item 19

- No me siento preocupado si algo me duele.
- Muchas veces me preocupa si algo me duele.
- Siempre estoy preocupado porque algo me duele.

#### Item 20

- No me siento solo.
- Muchas veces me siento solo.
- Siempre me siento solo.

**Item 21**

- Nunca me divierto en la escuela.
- A veces me divierto en la escuela.
- Muchas veces me divierto en la escuela.

**Item 22**

- Tengo muchos amigos.
- Tengo algunos amigos pero quiero tener mas.
- No tengo ningún amigo.

**Item 23**

- Me va bien en la escuela.
- Antes e iba mejor en la escuela.
- Me va mal en materias donde antes me iba bien.

**Item 24**

- Nunca puedo ser tan bueno como otros niños.
- Si quiero puedo ser tan bueno como otros niños.
- Soy tan bueno como otros niños.

**Item 25**

- Nadie me quiere.
- No sé si alguien me quiere.
- Estoy seguro que alguien me quiere.

**Item 26**

- Generalmente hago lo que me dicen.
- Casi nunca hago lo que me dicen.
- Nunca hago lo que me dicen.

**Item 27**

- Me llevo bien con los demás.
- Muchas veces me peleo.
- Siempre me peleo.

**Recuerda contestar el otro lado.**