



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD
SEROTONINÉRGICA CEREBRAL EN ESCOLARES CON
TRASTORNO POR DÉFICIT DE ATENCIÓN Y CONTROLES**

TÉSIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
MARTHA CRISTINA FERNÁNDEZ CRUZ

TUTOR: DR. GABRIEL MANJARREZ GUTIÉRREZ
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

CIUDAD DE MÉXICO, DICIEMBRE 2016



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.

ÍNDICE

Índice	2
Glosario abreviaturas	3
Resumen	4
Antecedentes	6
Planteamiento del problema	13
Objetivos	13
Hipótesis	14
Material y métodos	14
Descripción general del estudio	17
Resultados	20
Discusión	24
Conclusiones	28
Bibliografía	28
Anexos	38

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

5-HT	5-Hidroxitriptamina (Serotonina)
TDAH	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad
FL L-Trp	Fracción libre de L-Triptófano
PAEs	Potenciales auditivos evocados de larga latencia
N1/P2	Componente N1/P2
DA	Dopamina
NE	Noradrenalina
L-Trp	L-Triptófano
DMS 5	Manual Estadístico de los trastornos mentales 5
SNC	Sistema Nervioso Central
ISRS	Inhibidores Selectivo de la recaptura de Serotonina
5-HIAA	Ácido 5-hidroxi-indol-acético
IMC	Índice de masa corporal
mseg	Milisegundos
μ V	Microvolt
EEG	Electroencefalograma
AgCl	Cloruro de plata
kHz	Kilohertz
dB	Decibeles

RESUMEN

OBJETIVO. Determinar si los escolares con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) tienen una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral a través de la fracción libre (FL) del L-triptófano (L-Trp) plasmático y de la amplitud del componente N1/P2 del potencial auditivo evocado (PAE).

MATERIAL Y METODOS. Se efectuó un estudio transversal comparativo en 52 escolares (veintidós con TDAH y 30 controles). A todos los escolares se les determinó el L-Trp libre, unido a albúmina, total y el PAE con 3 intensidades del estímulo sonoro. Los resultados fueron analizados mediante la *t* de Student y Regresión Lineal Simple. Aceptando un nivel de significación de $P < 0.05$.

RESULTADOS. Los escolares con TDAH mostraron una disminución significativa del L-Trp plasmático libre, unido a albúmina y total ($P < 0.001$). Además tuvieron una pendiente más pronunciada del componente N1/P2 del PAE en relación a los escolares controles ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES. Los presentes resultados confirman que los escolares con TDAH tienen una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral reflejada por un aumento de la respuesta de la corteza auditiva primaria evaluada a través del incremento en la amplitud del componente N1/P2 del PAE. Por lo tanto, todos estos hallazgos en conjunto nos permiten proponer el uso del registro del componente N1/P2 del PAE, junto con la determinación de la fracción libre del L-Trp plasmático como indicadores clínicos, no invasivos de los cambios de la actividad serotoninérgica cerebral observada en estos escolares con TDAH y en otros donde esté involucrada la serotonina cerebral.

ABSTRACT

OBJECTIVE. To assess the hypothesis that patients with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) have a lower level of brain serotonergic neurotransmission through measurement of plasma free fraction of L-tryptophan and intensity-dependence auditory evoked potentials (IADEPs).

Material and Methods. A cross-sectional study was carried out in 52 children (Twenty-two with ADHD and 30 controls). We measured the free fraction, bound and total plasma L-tryptophan and recording IDAEPs with three intensities of sound stimulation. The results were analyzed by Student's *t*-test, with a level of significance of $P < 0.05$.

Results. The children with ADHD showed a significantly lower level in the free fraction, bound to albumin and total plasma L-tryptophan ($P < 0.001$). It is noteworthy that the slope of amplitude/stimulus intensity functions (ASF) of the N1/P2 component was significantly higher in children with ADHD ($P < 0.05$).

Conclusions. The present results confirm that children with ADHD have a decrease significant of the serotonergic activity reflected by an increase of the response of primary auditory cortex evaluated through the increase in the amplitude of component N1/P2 of IADEPs. These findings suggest an important deterioration of brain serotonergic activity as a pathophysiological mechanism in children with ADHD. Therefore, we propose these biochemical and electrophysiological procedures as noninvasive clinical indicators of brain serotonergic activity in these patients.

I) ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

El trastorno por déficit de atención/hiperactividad (TDAH) es el síndrome neurobiológico del desarrollo más frecuentemente diagnosticado en la infancia. Tiene una prevalencia mundial de 8 al 12% en la etapa escolar (1-6), persiste en la edad adulta en más del 60% de los casos (7). En México, la prevalencia es del 8% en los escolares y adolescentes y en la edad adulta se desconoce. El TDAH ocupa la primera causa de atención psiquiátrica en la población infantil, alrededor del 44% según la Encuesta Nacional de Epidemiología en Psiquiatría del 2012 (8). Se caracteriza por tener síntomas de inatención e impulsividad/hiperactividad en un grado que es incompatible con el nivel de desarrollo de los individuos. Los síntomas del TDAH persisten en la edad adulta y en la mayoría de los pacientes está asociado con un deterioro funcional y mayor riesgo de depresión, abuso de sustancias, y con comportamientos antisociales (1-6). El diagnóstico del TDAH se basa en los síntomas conductuales que deberán de persistir durante más de 6 meses y se efectúa alrededor de 7 a los 12 años de edad (2-5), el diagnóstico se define a través del Manual estadístico de los trastornos mentales (DSM-5) emitido por la Asociación Americana de Psiquiatría (9). La presentación clínica del TDAH es heterogénea con tres subtipos identificados de acuerdo con el síntoma más prevalente; principalmente inatentos, hiperactivos/impulsivos y combinados, de curso crónico y con una gran variabilidad en la expresión de los síntomas (1-9). El TDAH por lo general se asocia con una deficiencia cognitiva en el control inhibitorio y de la función ejecutiva, por ello los perfiles neuropsicológicos de los pacientes muestran una gran heterogeneidad interindividual (1,6,10,11).

La heterogeneidad clínica del TDAH, posiblemente sea debida al conjunto de vías neuronales causales que conducen al desarrollo del trastorno (3,6,10,12,13). Diversos estudios apoyan que los factores genéticos están involucrados activamente (7,10,12-16), en las últimas décadas se han señalado diversas anomalías del Sistema Nervioso Central

(SNC) (3,6,10,12,17-20). Sin embargo, falta información sobre los mecanismos de vinculación de los genotipos, los procesos neuronales y los síntomas cognitivos/conductuales. Hallazgos recientes señalan que hay otros trastornos del neurodesarrollo como el autismo, la esquizofrenia y la epilepsia que comparten variantes genéticas con el TDAH (12,22,23). Estos avances científicos apoyan la búsqueda de datos clínicos o fenotipos cognitivos indefinidos que son más propensos a relacionarse con los mecanismos neurobiológicos implicados en los síntomas del TDAH, en particular los rasgos compartidos con diferentes condiciones neuropsiquiátricas y por lo tanto merecen una mayor atención clínica.

Recientemente ha cobrado importancia los aspectos genéticos causales en el TDAH (7,10,12-16), estudios familiares han demostrado que los padres de los pacientes con TDAH tienen mayor riesgo de tener el trastorno, y para estimar la contribución relativa de los genes y el medio ambiente, se han utilizado diversos estudios en gemelos para determinar la varianza fenotípica del TDAH en la población en general, ya que el conjunto de síntomas del TDAH pueden ser explicados tanto por fuentes genéticas como ambientales (7,15,24-27). Los estudios en gemelos han demostrado una heredabilidad del 76% en niños y adolescentes y en los adultos es menor del 30% (7,15). Los esfuerzos realizados en los últimos 15 años han identificado genes implicados en la etiología del TDAH, se han observado asociaciones significativas de varios genes candidatos: Transportador de dopamina 1 (DAT1), receptores de dopamina 2, 3, 4 y 5 (DRD2, DRD3, DRD4 y DRD5), dopamino-descarboxilasa (DDC), transportador de serotonina (5-HTT), receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} y proteína asociada a sinaptosomal P-25 (SNAP25) (15,28-35).

Además, varios factores ambientales han sido identificados como factores de riesgo para el desarrollo del TDAH. Eventos intrauterinos como el estrés materno durante el embarazo,

la exposición prenatal al tabaco, alcohol, otras drogas y toxinas ambientales, así como complicaciones durante el embarazo y el parto, en donde se incluyen a la encefalopatía hipóxico-isquémica, las convulsiones, las lesiones cerebrales por infecciones del SNC, la exposición a plomo y otras sustancias tóxicas (36-42) son factores de riesgo que intervienen en el desarrollo de la enfermedad. Asimismo, las adversidades psicosociales y altos niveles de conflictos familiares, crianza inadecuada e inconsistente, problemas maritales, evaluación negativa de los niños a los conflictos familiares y aquellos que han sufrido privación temprana institucional (43-46).

Actualmente, se ha propuesto la hipótesis de la “Dopamina” con factor causal del TDAH, debido a que su disfunción produce los síntomas clínicos del trastorno (10,13,28,29,54-57). La hipótesis se basa en la eficacia clínica observada en los pacientes con TDAH tratados con metilfenidato, además de la evidencia de los estudios de imágenes cerebrales, los cuales sugieren una reducción de la actividad dopaminérgica en la región fronto-estriatal (57,58). Sin embargo, la hipótesis pasa por alto la complejidad fenotípica de la enfermedad y las posibles interacciones con otros sistemas de neurotransmisión (Serotoninérgico, Noradrenérgico, Glutamatérgico, etc). En consecuencia, el TDAH es un trastorno heterogéneo que se manifiesta por diversas dimensiones del comportamiento, inatención, hiperactividad e impulsividad que a menudo concurren con otros trastornos del comportamiento, como son los trastornos oposicionista desafiante y de la conducta (17,20,28,29,54-56). Es probable que los diferentes sistemas de neurotransmisión y su relativo balance entre ellos, tengan diferentes grados de influencias sobre las dimensiones del comportamiento. Además la variación genética involucrada en estos sistemas de neurotransmisión probablemente participe en su delicado equilibrio y tengan un efecto sobre la función de estos productos químicos cerebrales, que juegan un papel importante en la fisiopatología del TDAH (6,12,13,17,20,28,29,54-58)

Un creciente número de estudios en animales de experimentación sugieren la participación activa de la 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina), como mediador de inatención, impulsividad e hiperactividad (32,33,54,56). Se ha observado que los roedores que tienen mayor cantidad de 5-HT en la corteza frontal, efectúan peores tareas de atención e impulsividad (34). Además estudios recientes en ratones hiperactivos por la anulación del gen del transporte de dopamina (DAT-KO), exhiben un aumento de los niveles extracelulares de DA que ocasiona un aumento de la locomoción (34,59). Al tratar estos ratones con psicoestimulantes, se observa un efecto de disminución de actividad motora, esta reducción en la hiperactividad no se asocia con cambios en los niveles extracelulares de DA (34,59). Estos resultados sugieren que la respuesta a estos fármacos es a través de otro mecanismo distinto al bloqueo del transportador de dopamina. También estos ratones cuando son tratados con fármacos serotoninérgicos, inhibidores de la recaptura de serotonina (ISRS) y/o los precursores de la amina, producen disminución de la actividad motora en estos ratones, independientemente de los cambios en los niveles de dopamina, sugiriendo que la serotonina juega un papel importante en la modulación del comportamiento hiperactivo en estos ratones (34,60,61). Por lo tanto, el sistema serotoninérgico modula la neurotransmisión dopaminérgica, la interrupción de este sistema podría modificar la actividad dopaminérgica cerebral y afectaría las conductas mediadas por la DA.

Las neuronas serotoninérgicas ubicadas en los núcleos de rafe envían proyecciones a las neuronas dopaminérgicas localizadas en las regiones del cerebro medio, (sustancia negra y el área tegmental central) (62). Además se proyectan a las terminales dopaminérgicas presentes en el cuerpo estriado, núcleo accumbens y la corteza prefrontal (61). Estas inervaciones permiten la regulación funcional dopaminérgica, tanto en la descarga neuronal y liberación de DA (54,56). Sin embargo, no está claro como la 5-HT tiene estos dos efectos,

inhibitorios y excitatorios. También diferentes receptores serotoninérgicos participan en la regulación de la neurotransmisión dopaminérgica entre los que se encuentran el 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} (30,32,33,35,56). Se ha observado que agonistas de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} aumentan la liberación de dopamina estriatal, mientras que el antagonista del receptor 5-HT_{1B}, inhibe la liberación de dopamina (56). Estos datos proporcionan evidencia del papel facilitador que tiene la 5-HT sobre la liberación de DA en el estriado. Alternativamente, los receptores 5-HT_{2A} que se encuentran en las neuronas dopaminérgicas inhiben el disparo neuronal mientras que el agonista del receptor 5-HT_{2A} libera DA (32,63).

Así que la capacidad que tiene la 5-HT para ejercer sus influencias de facilitación e inhibición sobre la neurotransmisión dopaminérgica, depende de su grado de modulación sobre los comportamientos mediados por DA, este aspecto es un asunto complejo y puede ser debido a la función específica de la región cerebral estudiada, los fármacos utilizados y los subtipos de receptores serotoninérgicos involucrados (30,32,33,35,54,56,59,60,63). Por tanto, hay una gran cantidad de evidencia que demuestra que la neurotransmisión dopaminérgica está funcionalmente regulada por la neurotransmisión serotoninérgica, lo que tiene implicaciones importantes en el control de las conductas comúnmente exhibidas en los pacientes con TDAH.

Al respecto existen varios reportes en la literatura que han evaluado la actividad serotoninérgica en los niños con TDAH a través de medidas directas ó indirectas, se ha reportado un aumento del ácido 5-hidroxiindolacético en el líquido cefalorraquídeo ó en pruebas farmacológicas que indican una función anormal serotoninérgica (64,65). También se ha reportado una disminución de la 5-HT plasmática en estos niños (66). Además se ha observado que los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina son eficaces en disminuir el cuadro clínico del TDAH (34). Sin embargo, los resultados han sido

inconsistentes. Algunos muestran disminución de la actividad serotoninérgica, mientras otros indican un aumento de dicha actividad.

Recientemente se ha propuesto al componente N1/P2 de los potenciales auditivos evocados (PAEs) y la fracción libre del L-triptófano plasmático (FL del L-Trp), aminoácido precursor de la síntesis de serotonina, como indicadores no invasivos de la actividad serotoninérgica cerebral (67-75). Los PAEs se clasifican de acuerdo al momento de aparición después del estímulo sonoro, en tempranos, intermedios y tardíos. Los tempranos e intermedios representan la actividad neuronal de las estructuras desde el oído hasta el tallo cerebral, mientras que los tardíos reflejan la actividad de la corteza cerebral. Las ondas que lo componen se designan como positivas (P) o negativas (N) y se les añade un número de acuerdo al orden de aparición (67-75). A los PAEs se les estudia la amplitud, la latencia y la pendiente que relaciona la amplitud del componente N1/P2 en función a la intensidad de los estímulos auditivos a diferente intensidad en 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. La estabilidad interindividual de los PAEs es excelente en las correlaciones test-retest con una $r = 0.90$. La amplitud de N1 en sujetos adultos sanos mide $2.8 \pm 1.7 \mu\text{V}$, la amplitud de P2 es de $5.6 \pm 2.8 \mu\text{V}$, la latencia promedio de N1 es de 91.9 ± 11 y la de P2 es de 167.3 ± 24.3 milisegundos (67-75).

En diversos estudios en animales de experimentación y humanos se ha demostrado que la serotonina participa en la modulación de la respuesta de las neuronas de la capa IV de la corteza auditiva primaria localizada en el lóbulo temporal a nivel del área 41 de Brodmann, sitio en donde se produce este componente. Al existir una disminución de serotonina en esta área se produce un aumento de la respuesta neuronal y consecuentemente un incremento de la intensidad del componente N1/P2 del PAE ó lo contrario se observa

cuando hay un aumento de serotonina, se produce una disminución significativa del componente N1/P2 del PAE (71-75). Además se ha observado en los pacientes diabéticos tipo 1 y 2 un incremento significativo de la pendiente del componente N1/P2 en función de la intensidad del estímulo, lo que sugiere una actividad serotoninérgica disminuida (73,75-78), mientras que una intensidad disminuida indica una mayor actividad serotoninérgica, como se ha observado en niños y ratas con restricción del crecimiento intrauterino (71,72). Por lo tanto, debido a la elevada frecuencia de los cuadros de TDAH en los niños escolares que normalmente se complican con cronicidad, recurrencia y resistencia al tratamiento, la FL del L-Trp plasmático y la intensidad del componente N1/P2 del PAE podrían ser indicadores no invasivos de la actividad serotoninérgica cerebral en estos pacientes con TDAH.

II) JUSTIFICACIÓN

En la última década, la mayoría de la investigación neurobiológica del TDAH, ha propuesto al sistema dopaminérgico como principal responsable en el desarrollo de TDAH y se ha efectuado menos hincapié en la participación del sistema serotoninérgico cerebral, probablemente debido a que el metilfenidato, droga dopaminérgica que ha demostrado eficacia en el tratamiento del TDAH.

Sin embargo, estudios en humanos y en animales de experimentación han establecido la participación activa del sistema serotoninérgico, ya que se ha demostrado que interviene en la regulación de las conductas de atención, impulsividad e hiperactividad, además, diversos estudios en ratones knockout del transportador de dopamina, tratados con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina ó precursores de la síntesis del neurotransmisor producen un efecto inhibitorio de la hiperactividad que muestran estos ratones knockout, lo que sugiere que la serotonina juega un papel importante en la modulación de la neurotransmisión dopaminérgica. La actividad serotoninérgica cerebral ha

sido evaluada en niños con TDAH a través de métodos indirectos, cuyos resultados han sido inconsistentes (serotonina plasmática, medición del precursor en LCR). Recientemente se ha propuesto al componente N1/P2 del potencial auditivo evocado (PAE) y la fracción libre (FL) del L-triptófano (L-Trp) plasmático, aminoácido precursor de la síntesis de serotonina, como indicadores no invasivos de la actividad serotoninérgica cerebral.

Teniendo en mente todos los hallazgos anteriormente comentado y debido a la elevada frecuencia de los cuadros TDAH en los niños escolares, y con el fin de saber si la modificación de los niveles de serotonina cerebral en estos pacientes proporciona información que pueden cambiar la conducta de tratamiento y progresar en el modelo fisiopatológico de la enfermedad.

III) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Pregunta de investigación

¿Está disminuida significativamente la actividad serotoninérgica cerebral en los pacientes con TDAH en comparación a los niños controles sanos?

IV) OBJETIVO GENERAL

Determinar si los pacientes con TDAH presentan una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral en comparación a los controles sanos.

V) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Se determinó la actividad serotoninérgica cerebral en los escolares con TDAH y controles sanos a través de:

1. Medir las concentraciones de L-Trp libre y total.
2. Determinar la pendiente del componente N1/P2 del PAE dependiente de la intensidad del estímulo.

VI) HIPÓTESIS

Los pacientes con TDAH tienen una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral en comparación a los controles sanos

VII) MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio. Transversal, comparativo.

Universo de estudio. Pacientes escolares de la Ciudad de México, de ambos géneros que acudieron al Laboratorio de Patología Molecular de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología y al servicio de Psiquiatría del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Descripción de las variables:

Según la metodología:

Variable independiente. Presencia o ausencia de TDAH.

Variabes dependientes. Niveles séricos de L-triptófano libre y amplitud y pendiente del componente N1/P2 del PAE.

Variabes de confusión. Presencia de otros trastornos psiquiátricos (depresión, ansiedad, etc) desnutrición aguda y crónica, diabetes mellitus, insuficiencia renal y hepática, otros trastornos neurológicos, crisis convulsivas, tic crónico, trastornos del neurodesarrollo, Trastorno de Tourette.

DESCRIPCIÓN OPERATIVA DE VARIABLES:

TDAH. Es un trastorno de conducta que aparece en la infancia, en el intervienen factores genéticos y ambientales. Se diagnostica a partir de los 7 años de edad. Se manifiesta por

un aumento de la actividad física, impulsividad y dificultad para mantener la atención en una actividad durante un periodo de tiempo continuo. Frecuentemente se puede asociar a otros problemas neuropsiquiátricos. Sus consecuencias se aprecian en distintos ambientes de la vida del niño, no solo en el escolar, sino que también afecta en gran medida las relaciones interpersonales, tanto en la familia, con otros niños y con sus maestros. El diagnóstico se establece de acuerdo a los criterios del DSM-5 (9). Es una variable nominal, se midió como presente o ausente.

Actividad serotoninérgica cerebral. Se determinó a través de los niveles plasmáticos de L-Trp libre así como amplitud y pendiente del componente N1/P2 del PAE. El L-Trp es un aminoácido esencial que se obtiene de las proteínas de la dieta, existen dos fracciones del aminoácido en el plasma, una unida a albúmina y otra libre. La fracción libre pasa al cerebro a través de la barrera hematoencefálica, es captado por las neuronas serotoninérgicas del tallo cerebral donde es hidroxilada en su posición cinco por la triptófano-5-hidroxilasa y el 5-hidroxitriptófano formado es descarboxilado por la descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos y transformado en serotonina. Las muestras del ultrafiltrado del plasma se corrió por duplicado para evaluar la confiabilidad de la medición. Es una variable continua, se expresó en $\mu\text{Mol/L}$.

En relación a la amplitud del componente N1/P2 de los PAEs, es la distancia que existe entre las crestas de N1 y P2, se obtiene mediante la medición del registro gráfico del PAE y el uso de los cursores del equipo Vikingo 4 (73,75-78). Se consideró la amplitud del componente N1/P2 en tres intensidades del estímulo acústico (70, 90 y 103 dB). Se calculó la confiabilidad del evaluador con dos mediciones en días diferentes. La actividad serotoninérgica cerebral estuvo representada por la pendiente de la amplitud del componente N1/P2 del PAE en función del estímulo sonoro. Es una variable cuantitativa continua y se expresó en μV .

SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Tamaño de la muestra: Para una varianza combinada de 0.84 en los valores de la pendiente del componente N1/P2 del PAE obtenida en estudios previos (73,75-78), diferencia mínima de 2 unidades, $\beta = 5\%$ y $\alpha = 0.01$ se calcularon 20 pacientes por grupo mediante el programa Epistat. Se integraron dos grupos:

Grupo I: Escolares con TDAH (22 escolares).

Grupo II: Controles sanos (30 escolares)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Generales. Todos los participantes en el estudio fueron de ambos géneros de 7 a 12 años de edad, con diagnóstico de TDAH de acuerdo a los criterios del DSM-5 (9), con audición normal determinada por audiometría tonal, que sabían leer y escribir y aceptaron participar en el estudio.

Específicos

Grupo I. Escolares con diagnóstico de TDAH, que cumplieran los criterios de DSM-5

Grupo II. Controles sanos que no cumplieron los criterios de TDAH

Criterios de no inclusión.

Presencia de depresión, ansiedad, trastorno afectivo orgánico, esquizofrenia, otros trastornos psicóticos. Coeficiente intelectual menor de 70, trastornos disociativos ó de la personalidad, adopción, abuso físico o sexual. Sin malformaciones congénitas, Patologías cardíacas, endocrinológicas. Ingesta reciente de medicamentos las últimas 4 semanas con actividad serotoninérgica (fluoxetina, sertralina, paroxetina, fluvoxamina, citalopram, fenfluramina, buspirona, litio, sumatriptán o análogos) o anticolinérgicos (antihistamínicos, bloqueadores H_1) ingesta de alimentos psicoestimulantes como café o chocolate en los

últimos 15 días. Y los pacientes que no tuvieron los estudios completos tanto bioquímicos como los PAEs.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Se seleccionaron escolares con TDAH que acudieron al Servicio de Psiquiatría del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y también pacientes que respondieron a la invitación para el proyecto, mediante el muestreo por bola de nieve y material visual (anexo 11) en Unidades de Medicina Familiar, Hospitales Generales de Zona, Centros Médicos Nacionales y escuelas de las colonias Roma, Narvarte y Doctores. Se solicitó la autorización de los padres y de los pacientes para participar en el estudio y una vez aclaradas todas sus dudas se procedió al llenado de la hoja de consentimiento informado y asentimiento (Anexos 2, 3). Enseguida se evaluó el diagnóstico de TDAH según los criterios de DSM-5 (9) (Anexo 1), como instrumento de tamizaje se realizó entrevista estructurada neuropsiquiátrica MINI-KID donde se incluyeron solo los que fueron positivos en el módulo O, posteriormente se realizó una entrevista clínica por especialista en Psiquiatría Infantil y de la Adolescencia; además a los padres y maestros también se les solicitó que contestaran el instrumento de evaluación Conners para padres, se les otorgó el instrumento de evaluación Conners para maestros, no causó ningún riesgo o molestia a los pacientes, si resultaron con diagnóstico de TDAH al final del estudio fueron enviados a departamento de Psiquiatría de su unidad de adscripción. Veinticuatro horas después de la aplicación de las escalas, a todos los pacientes se les tomaron 3 ml de sangre por punción de vena periférica. Las muestras de sangre fueron colocadas en tubos de borosilicato con 450 μ L de una solución anticoagulante ACD (citrato de sodio 3.6 mg, ácido cítrico 9.9 mg y dextrosa 11 mg, amortiguados con una solución de trizma base 50 mM, pH 7.40). Los tubos con las muestras sanguíneas se protegieron del aire atmosférico sellándolos con parafilm y se centrifugaron a 500 g. Se les midió el L-Trp total y el libre mediante un Kit Elisa. Para

disminuir las posibles variaciones atribuibles al ritmo circadiano, la obtención de las muestras de sangre se realizaron entre las 07.00 y las 08.00 h en todos los pacientes y las determinaciones del L-Trp se efectuaron en el Laboratorio de Patología Molecular de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología, CMN, Siglo XXI.

Además se les efectuaron los PAEs en la misma unidad de investigación. Los pacientes fueron sentados cómodamente en un sillón con la cabeza quieta de frente a la pared 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 (Electrodo de discos de EEG, NE-101, 10 mm de diámetro). 200 Tonos de 1 KHz de frecuencia, 100 milisegundos de duración con 10 milisegundos de elevación y 10 milisegundos de tiempo de caída, en una ventana de 1000 y 1500 milisegundos con tres intensidades del estímulo sonoro 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. Se evaluaron 200 barridos para cada intensidad, 200 milisegundos antes del estímulo y 200 milisegundos post estímulo. Los artefactos en todos los ensayos se descartaron cuando el voltaje fue mayor de 50 μ 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 latencias en milisegundos y las amplitudes en μ V fueron también calculadas. La amplitud del componente N1/P2 del PAE se consideró como la suma en μ V entre las crestas de las ondas N1 y P2. El componente N1 representa la cresta más negativa dentro de los 60 y 120 milisegundos y el componente P2 es la cresta positiva dentro de los 110 y 210 milisegundos. Estos dos componentes representan las funciones integrativas de la corteza auditiva, cuya regulación está asociada a la inervación serotoninérgica cortical (82).

Además se diseñó una hoja de concentración de los datos clínicos: identificación, antecedentes patológicos, edad, datos antropométricos que incluyeron peso, talla e índice de masa corporal y comorbilidades.

VIII) ENSAYOS BIOQUÍMICOS

Determinación del L-triptófano en el plasma libre y total y la diferencia entre ellos se consideró el unido a albúmina (Anexo 6)

ENSAYOS ELECTROFISIOLÓGICOS

Potenciales auditivos evocados de larga latencia (Anexo 7)

IX) ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó medias y desviaciones estándar para describir las características clínicas de los pacientes, y la diferencia entre ellos se determinó mediante la prueba de t de Student, ya que los valores obtenidos tuvieron una distribución normal, con un nivel de significación de $P < 0.05$. Para la comparación de las concentraciones de L-Trp libre, unido y total, primero se determinaron los valores promedio y las desviaciones estándar y la comparación entre ellas se efectuó a través de la prueba t de Student aceptando un nivel de significación de $P < 0.05$. La amplitud del componente N1/P2 fue evaluada en todas las intensidades 70, 90 y 103 dB y la relación entre las amplitudes del componente N1/P2 en función de la intensidad de los estímulos sonoros, fue calculada a través de un análisis de regresión lineal para cada uno de los grupos del estudio y se compararon las pendientes obtenidas de cada grupo.

XIII) RESULTADOS

Las características clínicas de los escolares con y sin TDAH se describen en la Tabla 1. No existieron diferencias significativas en la edad, peso corporal, talla e índice de masa corporal entre los grupos. Interesantemente se observó que el 63% de los escolares con TDAH se presentó en el género masculino en comparación al género femenino.

Tabla 1. Datos clínicos de niños controles y con TDAH

	Controles N = 30	TDAH N = 22
Edad (meses)	115 ± 4.92	101 ± 12

El parámetro clínico más importante que se determinó en los pacientes con TDAH y controles fueron las diferentes fracciones de L-Trp plasmático, como se puede ver en la Tabla 2 y Figura 1, los pacientes con TDAH tuvieron una disminución significativa de las concentraciones de L-Trp libre, unido a albúmina y total al compararlos con los controles sanos (P <0.001). En cuanto a la relación FL/L-Trp total se observó una disminución significativa en estos pacientes con TDAH en relación a la que mostraron los controles sanos (P <0.001).

Tabla 2. Concentración de L-Triptófano en el plasma de niños controles y con TDAH

L-triptófano	Controles N = 30	TDAH N = 22
Fración libre	8.75 ± 1.32	3.55 ± 2.49*
Únido a albúmina	36.70 ± 2.67	19.95 ± 4.51*
Total	45.53 ± 3.72	23.50 ± 3.32*
Relación fracción libre/total	0.192 ± 0.007	0.151 ± 0.002*

Cada punto representa los valores promedios ($\mu\text{mol/L}$) \pm desviación estándar de niños controles y con TDAH. Todas las determinaciones fueron efectuadas en muestras por duplicado. La diferencia entre grupo fue obtenida por *t* de Student.*P <0.001

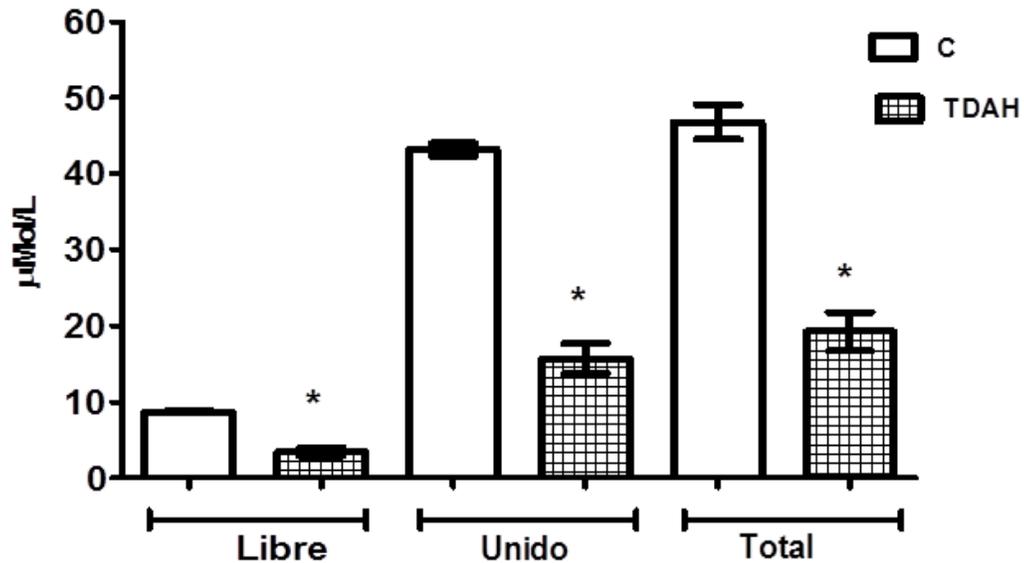


Figura 1. Concentración de L-Trp plasmático. C) control y TDAH) trastorno por déficit de atención. Cada barra representa los valores promedio \pm desviación estándar de 30 niños en el grupo control y 22 en el grupo con TDAH. Todas las determinaciones fueron efectuadas por duplicado. La diferencia entre grupo fue obtenida por la prueba *t* de Student . * $P < 0.001$

Los PAE consisten en tres ondas que se inician después de 50 milisegundos de dar un estímulo sonoro. La primera onda se identifica como P1, la siguiente onda se designa N1 (cresta más negativa dentro de los 60 y 120 milisegundos) y la segunda onda positiva corresponde a P2 (cresta positiva dentro de los 110 y 210 milisegundos. Además a partir de las crestas de las ondas N1 y P2 se integra el componente N1/P2, parámetro electrofisiológico más importante que se evaluó en estos pacientes con TDAH y controles sanos (ver Figura 2).

A todos los pacientes que ingresaron al estudio se les dieron estímulos auditivos con tres intensidades 70, 90 y 103 dB, con el patrón de respuesta cortical auditiva obtenida fue posible calcular la pendiente del componente N1/P2 del PAE en cada uno de los grupos (controles y con TDAH). Dicha pendiente proporciona una función que relaciona la amplitud

en μV del componente N1/P2 con la intensidad del estímulo auditivo. Nótese que los pacientes con TDAH mostraron una pendiente significativamente más pronunciada (pendiente = $-4.72 + 3.96$) a la que tuvieron los escolares controles (pendiente = $-0.11 + 1.43$), $P < 0.005$ (Figura 3)

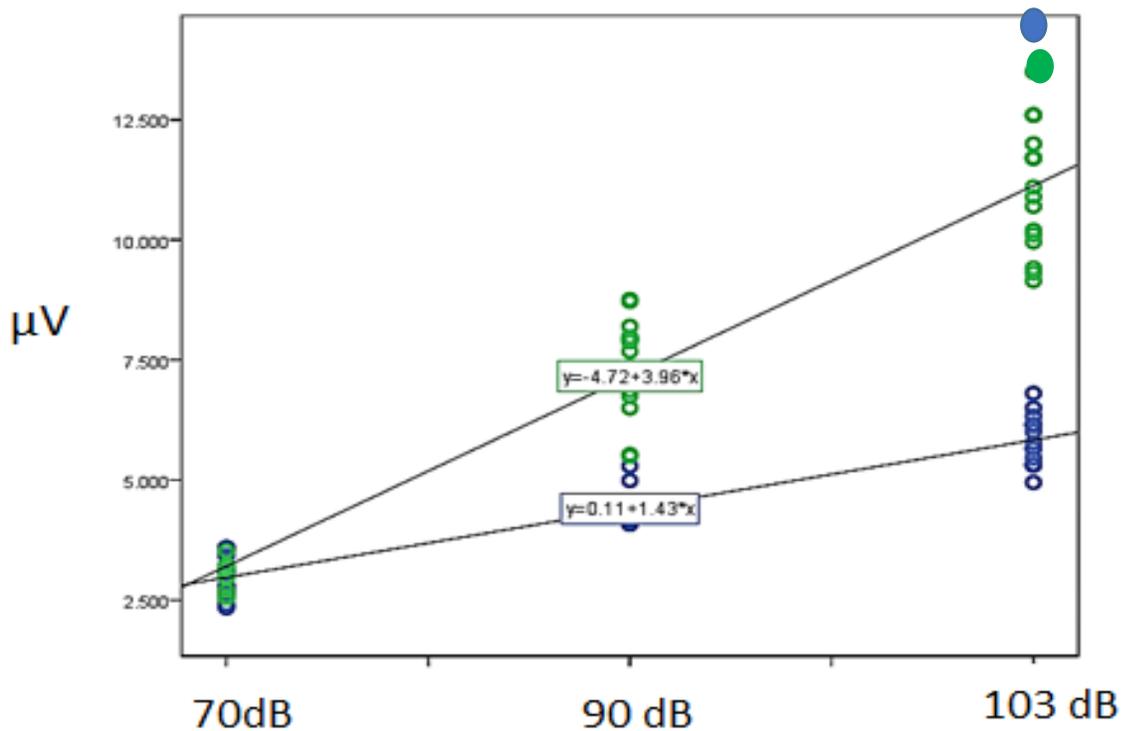


Figura 2. Diagrama de dispersión y análisis de regresión lineal. , escolares controles ($n = 30$), pendiente ASF = $0.11 + 1.43$ intensidad, $r^2 = 0.88$; , escolares con TDAH ($n = 22$), pendiente ASF = $-4.72 + 3.96$ intensidad, $r^2 = 0.896$. Prueba t Student, $P < 0.05$

XIV) DISCUSIÓN

El propósito del presente estudio fue evaluar la actividad eléctrica de la corteza auditiva primaria por medio del componente N1/P2 del PAE y la fracción libre del L-Triptófano plasmático como indicadores periféricos de la actividad y biosíntesis de serotonina cerebral en escolares con TDAH. Se ha demostrado que las alteraciones del componente N1/P2 reflejan la actividad cortical auditiva alterada secundaria a cambios en la síntesis y de la neurotransmisión serotoninérgica (71-75).

Resultados del presente estudio muestran que los escolares con TDAH tuvieron una disminución significativa de la fracción libre del L-Triptófano plasmático. Existe evidencia en la literatura que la fracción libre del aminoácido y su unión a la albúmina juega un papel importante en regular la cantidad del L-Triptófano libre disponible en el plasma para su transporte al cerebro. Además existen otros factores metabólicos que contribuyen a modificar su disponibilidad del aminoácido a nivel sanguíneo; entre ellos se encuentra la concentración de albúmina y la cantidad de ácidos grasos libres (67-75). Por lo tanto estos mecanismos regulan la cantidad del L-Trp disponible en la sangre para su paso al cerebro a través de la barrera hemato-encefálica por un mecanismo de transporte activo que está mediado por un sistema de transporte de membranas al cerebro (64-65), en donde es captado por las neuronas serotoninérgicas; de este modo estimula o disminuye la síntesis del neurotransmisor serotonina (66-75).

De forma interesante en nuestro estudio observamos que los escolares con TDAH mostraron una disminución significativa de la concentración del L-Trp libre, unido a albúmina y total. Estos hallazgos en conjunto nos permiten plantear que durante la evolución del TDAH se produce un aumento de la enzima triptófano pirrolasa hepática (59-62), secundario a la elevación de los niveles de cortisol sanguíneo que frecuentemente se observan en estos pacientes que cursan con un estado de estrés (13), este mecanismo

metabólico puede explicar la disminución de L-Trp en la sangre, ya que es desviado a otras vías metabólicas como la síntesis de nicotinamida adenin dinucleótido, las vías de ácido nicotínico y cinurénico, y en la de gluconeogénesis(54-56); todos estos cambios metabólicos en conjunto contribuyen a disminuir la disponibilidad del L-Trp plasmático para la síntesis de serotonina en el cerebro de los escolares con TDAH.

Otro aspecto importante del presente estudio fue que los escolares con TDAH tienen una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral a través del aumento de la amplitud del componente N1/P2 del PAE dependiente de la intensidad del estímulo auditivo. En efecto, se demostró que los escolares con TDAH tuvieron una elevación significativa del componente N1/P2, que sugiere que la amplitud de este componente refleja la actividad serotoninérgica cerebral, ya que se ha demostrado que al existir una elevación de la concentración de serotonina en la corteza auditiva, se produce una disminución del componente N1/P2 y lo contrario sucede cuando hay una menor concentración del neurotransmisor en la corteza auditiva primaria (72).

Hergel y cols (67-70), observaron que la amplitud del componente N1/P2 del PAE a diferentes intensidades de estímulos sonoros producen una pendiente que representa la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria, en especial la capa IV, sitio en donde arriban los estímulos sonoros del tálamo (67); además observaron que los pacientes deprimidos bajo tratamiento con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina juega un papel primordial en la modulación de la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria (68). El hecho de que los escolares controles mostraron una pendiente más horizontal del componente N1/P2, refleja una mayor integración funcional del sistema serotoninérgico cerebral.

Así mismo, evidencia experimental 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 (83). También se ha observado que la actividad de la enzima triptófano-5-hidroxilasa, limitante de la biosíntesis de serotonina se incrementa progresivamente con el aumento de la intensidad del estímulo sonoro (83). Todos estos hallazgos en conjunto apoyan el hecho de que la serotonina modula la actividad neuronal de la corteza auditiva (67-83).

Recientemente se ha demostrado en ratas adultas normales que la administración de L-Trp a razón de 100 mg/kg de peso corporal por vía intraperitoneal, se produce una elevación del L-Trp en la corteza auditiva primaria, acompañado de un aumento de la concentración de serotonina 30 minutos después de la administración del aminoácido, además una disminución del componente N1/P2 del PAE; de la misma manera se observó con los agonistas serotoninérgicos. Todos estos hallazgos apoyan el hecho de que un nutriente esencial en la dieta modifica la actividad neuronal de la corteza auditiva primaria (71-74). Por lo tanto, el componente N1/P2 del PAE, ha sido propuesto como un indicador de la actividad moduladora del sistema serotoninérgico sobre las neuronas de la capa IV de la corteza auditiva primaria, en donde un bajo tono serotoninérgico induce una mayor intensidad de la respuesta neuronal registrada a través del aumento en la amplitud del componente N1/P2 y viceversa (71-78); este componente N1/P2, es el resultado de la integración espacial y temporal de varios procesos neuronales(71). El análisis del dipolo eléctrico que comúnmente se utiliza para la determinación de los PAE en los pacientes, ha permitido identificar dos sub-componentes (74). El polo tangencial registra la activación de la corteza auditiva primaria y el polo radial detecta la actividad generada por las estructuras de la corteza auditiva primaria.

Recientemente se ha propuesto que alteraciones de la actividad auditiva cortical expresada por cambios en la amplitud del componente N1/P2 dependiente de la intensidad del estímulo sonoro de los PAE, parecen ser la consecuencia de un mecanismo central ubicado

en el tallo cerebral como un elemento importante para regular las entradas sensoriales a la corteza cerebral (74-78). De acuerdo a esta hipótesis, una reducción de la actividad cortical refleja una actividad pronunciada de este mecanismo, cuyo propósito es proteger al cerebro sobre la carga sensorial, mientras que un aumento de la actividad cortical auditiva estaría relacionada con una falta de dicho mecanismo; siguiendo con este concepto el aumento de la amplitud del componente N1/P2 dependiente de la intensidad del estímulo sonoro observado en los escolares con TDAH, indicaría una disminución de este mecanismo regulador; diversos autores han sugerido que este mecanismo se ubica a nivel del tallo cerebral y está representado por el sistema serotoninérgico (67-78). Se ha demostrado que la serotonina tiene una función homeostática en el SNC ajustando y modulando factores de ganancia y niveles de excitabilidad de los nerviosos corticales (75). La capa IV de la corteza cerebral, tanto sensorial como auditiva tienen una densa inervación serotoninérgica procedente de los núcleos del rafe del tallo cerebral y recibe la mayoría de las entradas sensoriales procedentes del tálamo (76). Por ello se ha propuesto que las proyecciones serotoninérgicas modulan el procesamiento de las señales sensoriales iniciado en la corteza cerebral (71-78).

De tal forma que los resultados bioquímicos y electrofisiológicos observados en los escolares con TDAH sugieren que la respuesta de su corteza auditiva primaria dependiente de la intensidad del estímulo sonoro puede estar también modulada por el tono serotoninérgico y en el caso de estos escolares, una neurotransmisión serotoninérgica disminuida podría producir un comportamiento diferente de dicha corteza auditiva, evaluada en el presente estudio por medio de los cambios registrados en la respuesta de la corteza auditiva como un aumento significativo en la amplitud del componente N1/P2 del PAE.

XV) CONCLUSIONES

En conclusión, los presentes resultados confirman que los escolares con TDAH tienen una disminución significativa de la actividad serotoninérgica cerebral reflejada por un aumento de la respuesta de la corteza auditiva primaria evaluada a través del incremento en la amplitud del componente N1/P2 del PAE. Por lo tanto, en base a todos los hallazgos, se propone el uso del registro del componente N1/P2 del PAE, junto con la determinación de la fracción libre del L-Trp plasmático como indicadores clínicos, no invasivos de los cambios de la actividad serotoninérgica cerebral observada en estos escolares con TDAH y en otros donde esté involucrada la serotonina cerebral.

XVIII) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Biederman J. Attention-deficit/hyperactivity disorder: a life-span perspective. *J Clin Psychiatry* 1998; 59 Suppl 7:4-16.
2. Akinbami LJ, Liu X, Pastor PN, et al. Attention deficit hyperactivity disorder among children aged 5–17years in the United States, 1998–2009. *NCHS Data Brief* 2011; 70:1–8.
3. De la Fuente A, Xia S, Branch C, et al. A review of attention-deficit/hyperactivity disorder from the perspective of brain networks. *Front Hum Neurosci* 2013; 7:192.
4. Millichap JG. Etiologic classification of attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Pediatrics* 2008; 121(2):e358-e365.
5. Biederman J, Faraone SV. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet* 2005; 366(9481):237-48.
6. Spencer TJ, Biederman J, Mick E. Attention-deficit/hyperactivity disorder: diagnosis, lifespan, comorbidities, and neurobiology. *J Pediatr Psychol* 2007; 32(6):631-42.

7. Boomsma DI, Saviouk V, Hottenga JJ, et al. Genetic epidemiology of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD index) in adults. *PLoS One* 2010; 5(5): e10621. doi: 10.1371/journal.pone.0010621
8. Medina-Mora. Encuesta Nacional de Salud Mental en adolescentes 2012, INPRF proyecto No. CONACYT-SEP-SSEDF-2003-CO1-22. Centro de Información en Salud Mental y Adicciones (CISMAD)
9. American Psychiatry Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed. Arlington VA: American Psychiatry Association, 2013
10. Swanson JM, Kinsbourne M, Nigg J, et al. Etiologic subtypes of attention-deficit disorder: brain imaging molecular genetic and environmental factors and dopamine hypothesis. *Neuropsychol Rev* 2007; 17(1):39-59.
11. Cortese S, Brown TE, Corkum et al. Assessment and management of sleep problems in youths with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2013; 52(8):784-96.
12. Burbach JP. Neuropsychiatric connections of ADHD genes. *Lancet* 2010; 376(9750):1367–8.
13. Purper-Ouakil D, Ramoz N, Lepagnol-Bestel AM, et al. Neurobiology of attention deficit/hyperactivity disorder. *Pediatr Res*. 2011; 69(5 Pt 2):69R-76R.
14. Pingault JB, Viding E, Galéra C, et al. Genetic and Environmental Influences on the Developmental Course of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms from Childhood to Adolescence. *JAMA Psychiatry*. 2015 May 6. doi: 10.1001/jamapsychiatry 2015.046
15. Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005; 57(11):1313-23.

16. van Mil NH, Steegers-Theunissen RP, Bouwland-Both MI, et al. DNA methylation profiles at birth and child ADHD symptoms. *J Psychiatr Res* 2014; 49:51-9.
17. Seidman LJ, Valera EM, Makris N. Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005; 57(11):1263-72.
18. Makris N, Biederman J, Monuteaux MC, et al. Towards conceptualizing a neural systems-based anatomy of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Dev Neurosci* 2009; 31:36–49.
19. Rubia K, Cubillo A, Smith AB, et al. Disorder specific dysfunction in right inferior prefrontal cortex during two inhibition tasks in boys with attention-deficit hyperactivity disorder compared to boys with obsessive compulsive disorder. *Hum Brain Mapp* 2010; 31:287–299.
20. Konrad K, Eickhoff SB. Is the ADHD brain wired differently? A review on structural and functional connectivity in attention deficit hyperactivity disorder. *Hum Brain Mapp* 2010; 31:904–916.
21. Williams NM, Zaharieva I, Martin A, et al. Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyperactivity disorder: a genome-wide analysis. *Lancet* 2010; 376:1401–1408.
22. Yang CJ, Tan HP, Du YJ. The developmental disruptions of serotonin signaling may involved in autism during early brain development. *Neuroscience* 2014; 16:267:1-10.
23. Donev R, Gantert D, Alawam K, et al. Comorbidity of schizophrenia and adult attention-deficit hyperactivity disorder. *World J Biol Psychiatry* 2011; 12(S1):52-56.
24. Faraone SV, Biederman J. Is attention deficit hyperactivity disorder familial? *Harv Rev Psychiatry* 1994; 1:271–287.

25. Sprich S, Biederman J, Crawford MH, et al. Adoptive and biological families of children and adolescents with ADHD. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2000; 39:1432–1437.
26. Nigg J, Nikolas M, Burt SA. Measured gene-by-environment interaction in relation to attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49:863–873.
27. Pennington BF, McGrath LM, Rosenberg J, et al. Gene X environment interactions in reading disability and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Dev Psychol* 2009; 45:77–89.
28. Li D, Sham PC, Owen MJ, et al. Meta-analysis shows significant association between dopamine system genes and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Hum Mol Genet* 2006; 15:2276–2284.
29. Yang B, Chan RC, Jing J, et al. A meta-analysis of association studies between the 10-repeat allele of a VNTR polymorphism in the 3-UTR of dopamine transporter gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B:541–550.
30. Smoller JW, Biederman J, Arbeitman L, et al. Association between the 5HT1B receptor gene (HTR1B) and the inattentive subtype of ADHD. *Biol Psychiatry* 2006; 59:460–467.
31. Mick E, Faraone SV. Genetics of attention deficit hyperactivity disorder. *Child Adolesc Psychiatry Clin N Am* 2008; 17:261–284.
32. Ribasés, M., Ramos-Quiroga, J. A., Hervás, A., Bosch, R., Bielsa, A., Gastaminza, X. Bayés, M. (2007). Exploration of 19 serotonergic candidate genes in adults and children with attention-deficit/hyperactivity disorder identifies association for 5HT2A,

DDC and MAOB. *Molecular Psychiatry*, 14(1), 71–85.
<http://doi.org/10.1038/sj.mp.4002100>

33. Heiser P, Dempfle A, Friedel S, et al. Family Based association study of serotonergic candidate genes and attention-deficit/hyperactivity disorder in a German sample. *J Neural Transm* 2007; 114(4):513-21.
34. Quist JF, Kennedy JL. Genetics of childhood disorders: XXIII. ADHD, Part 7: The serotonin system. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2001; 40(2):253-6.
35. Xu X, Brookes K, Sun B, et al. Investigation of the serotonin 2C receptor gene in attention deficit hyperactivity disorder in UK samples. *BMC Res Notes* 2009; May 5; 2:71. doi: 10.1186/1756-0500-2-71.
36. Talge NM, Neal C, Glover V. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? *J Child Psychol Psychiatry* 2007; 48(3):245–61.
37. Ribas-Fitó N, Torrent M, Carrizo D, et al. Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social behavior at 4 years of age. *Environ Health Perspect* 2007; 115(3):447–50.
38. Pineda DA, Palacio LG, Puerta IC, et al. Environmental influences that affect attention deficit/hyperactivity disorder: study of a genetic isolate. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2007; 16(5):337–46.
39. Strang-Karlsson S, Räikkönen K, Pesonen AK, et al. Very low birth weight and behavioral symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in young adulthood: the Helsinki study of very-low-birth-weight adults. *Am J Psychiatry* 2008; 165(10):1345–53.
40. Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, et al. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288(6):728–37.

41. Nicolescu R, Petcu C, Cordeanu A, et al. Environmental exposure to lead, but not other neurotoxic metals, relates to core elements of ADHD in Romanian children: performance and questionnaire data. *Environ Res* 2010; 110(5):476–83.
42. Jacobson JL, Jacobson SW. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *J Pediatr* 2003; 143(6):780–8.
43. Biderman J, Milberger S, Faraone SV, et al. Family-environment risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. A test of Rutter's indicators of adversity. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52(6):464–70.
44. Ellis B, Nigg J. Parenting practices and attention-deficit/hyperactivity disorder: new findings suggest partial specificity of effects. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2009; 48(2):146–54.
45. Counts CA, Nigg JT, Stawicki JA, et al. Family adversity in DSM-IV ADHD combined and inattentive subtypes and associated disruptive behavior problems. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2005; 44(7):690–8.
46. Rutter M, Sonuga-Barke EJ. X. Conclusions: overview of findings from the era study, inferences, and research implications. *Monogr Soc Res Child Dev* 2010; 75(1):212–29.
47. Holtkamp K, Konrad K, Müller, et al. Overweight and obesity in children with Attention-Deficit/hyperactivity Disorder. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(5):685–9.
48. Waring ME, Lapane KL. Overweight in children and adolescents in relation to attention-deficit/hyperactivity disorder: results from a national sample. *Pediatrics* 2008; 122(1):e1-6.
49. Martínez de Velasco R, Barbudo E, Pérez-Templado J, et al. Review of the association between obesity and ADHD. *Actas Esp Psiquiatr* 2015; 43(1):16-23.

50. Corkum PH, Tannock R, Moldofsky H. Sleep disturbances in children with attention deficit/hyperactivity disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1998; 37(6): 637-46.
51. Cortese S, Vincenzi B. Obesity and ADHD: Clinical and Neurobiological Implications. *Curr Top Behav Neurosci* 2012; 9:199-218.
52. Rosmond R, Dallman MF, Björntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(6):1853-9.
53. Rosmond R, Dallman MF, Björntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(6):1853-9.
54. Oades RD. Dopamine-serotonin interactions in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Prog Brain Res* 2008; 172:543-65.
55. Volkow ND, Wang GJ, Kollins SH, et al. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *JAMA* 2009; 302(10):1084-91.
56. Hall FS, Sora I, Hen R, et al. Serotonin/dopamine interactions in a hyperactive mouse; reduced serotonin receptor 1B activity reverses effects of dopamine transporter knockout. *PLoS One* 2014; 9(12):e115009. doi: 10.1371/journal.pone.0115009. eCollection 2014.
57. Seidman LJ, Valera EM, Makris N. Structural brain imaging of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005; 57(11):1263-72.
58. Ptacek R, Kuzelova H. Methylphenidate and growth in ADHD children. *Act Nerv Super Rediviva* 2011; 53(2):45-48.

59. Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, et al. Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. *Science* 1999; 283(5400):397-401.
60. Zepf FD, Stadler C, Demisch L, et al. Serotonergic functioning and trait-impulsivity in attention deficit/hyperactivity-disordered boys (ADHD): influence of rapid tryptophan depletion. *Human Psychopharmacol* 2008; 23(1):43-51.
61. Volkow ND, Gatley SJ, Fowler JS, et al. Serotonin and the therapeutic effects of Ritalin. *Science* 2000; 288(5463):11.
62. Jacobs BL, Azmitia EC. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 1992; 72(1):165-229.
63. Hawi Z, Dring M, Kirley A, et al. Serotonergic system and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): a potential susceptibility locus at the 5-HT(1B) receptor gene in 273 nuclear families from a multi-centre sample. *Mol Psychiatry* 2002; 7(7):718-25.
64. Flory JD, Newcorn JH, Miller C, et al. Serotonergic function in children with attention-deficit hyperactivity disorder: relationship to later antisocial personality disorder. *Br J Psychiatry* 2007; 190:410-4.
65. Paclt I, Koudelová J, Krepelová A, et al. Biochemical markers and genetic research of ADHD. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26(4):423-30.
66. Hercigonja Novkovic V, Rudan V, et al. Platelet serotonin concentration in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychobiology* 2009; 59(1):17-22.
67. Hegerl U, Juckel G. Intensity dependence of auditory evoked potentials as an indicator of central serotonergic neurotransmission: a new hypothesis. *Biol Psychiatry* 1993; 33(3):173-87.

- 68.** Hegerl U, Juckel G. Auditory evoked dipole source activity: indicator of central serotonergic dysfunction in psychiatric patients? *Pharmacopsychiatry* 1994; 27(2): 75-8.
- 69.** 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_{1A} autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21(6): 710-6.
- 70.** Juckel G, Csepe V, Molnar M, Hegerl U, Karmos G. Intensity dependence of auditory evoked potentials in behaving cats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996; 100(6): 527-37.
- 71.** Gabriel Manjarrez, G., Hernández, Z. E., Robles, O. A., González, R. M., & Hernández, R. J. (2001). Developmental impairment of auditory evoked N1/P2 component in rats undernourished in utero: its relation to brain serotonin activity. *Developmental Brain Research*, 127(2), 149–155. [http://doi.org/10.1016/S0165-3806\(01\)00129-8](http://doi.org/10.1016/S0165-3806(01)00129-8)
- 72.** Manjarrez GG, Cisneros I, Herrera MR, Robles OA, Vazquez EF, Hernandez RJ: Prenatal impairment of brain serotonergic transmission in infants. *J Pediatr* 2005; 147(5): 592-6.
- 73.** Manjarrez G, Herrera R, Leon M, Hernández J. A low brain serotonergic neurotransmission in children with type 1 diabetes detected through the intensity dependence of auditory evoked potentials. *Diabetes Care* 2006; 29(1): 73-7.
- 74.** Manjarrez GG, Hernandez AE, N1/P2 component of auditory evoked potential reflect changes of the brain serotonin biosynthesis in rats. *Nutr Neurosci* 2005; 8(4): 213–8.

- 75.** Manjarrez G, Vazquez F, Delgado M, Herrera H, Hernandez-RJ. A functional disturbance in the auditory cortex related to a low serotonergic neurotransmission in women with type 2 diabetes. *Neuroendocrinology* 2007; 86(4):289–94.
- 76.** Manjarrez G, Herrera R, Mejenes S, Godinez T, Hernandez-RJ. A functional change of the auditory cortex related to the brain serotonergic neurotransmission in type 1 diabetic adolescents with and without depression. *World J Biol Psychiatry* 2009, 10(4 Pt 3):877-83.
- 77.** Herrera-Marquez, R., Hernandez-Rodriguez, J., Medina-Serrano, J., Boyzo-Montes de Oca, A., & Manjarrez-Gutierrez, G. (2011). Association of metabolic syndrome with reduced central serotonergic activity. *Metabolic Brain Disease*, 26(1), 29–35. <http://doi.org/10.1007/s11011-010-9229-3>
- 78.** Manjarrez GG, Ramírez CR, Borrayo SG, Hernández RJ. Disturbance of serotonergic neurotransmission in patients with postmyocardial infarction and depression. *Metab Brain Dis* 2013; 28(1):15-20.
- 79.** Must A, Dallal GE, Dietz WH. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of Body Mass Index (Wt/ht²) and triceps skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 1991; 3(4):83946.
- 80.** Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, et al. Establishing a standard definition for childverweightand obesity worldwide: international survey. *BMJ* 2000; 320(7244):1240-3.
- 81.** Peat M, Gibb JW. High-performance liquid chromatography determination of indoleamines, dopamine, and norepinephrine in rat brain with fluorometric detection. *Anal Biochem* 1983; 128(2): 275-80.
- 82.** Semple MN, Scott BH. Cortical mechanism in hearing. *Curr Opin Neurobiol* 2003;13(2):167-173..

83. Boadle-Biber MC, Corley KC, Graves L, Phan TH, 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 [Internet]. 1989 Mar 20 [cited 2016 Oct

XIX) ANEXOS

ANEXO 1

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DEL DSM- 5

A. Patrón persistente de inatención y/o hiperactividad-impulsividad que interfiere con el funcionamiento o el desarrollo, que se caracteriza por (1) y/o (2):

1. Inatención: Seis (o más) de los siguientes síntomas durante al menos 6 meses, en un grado que no concuerda con el nivel de desarrollo y que afecta directamente las actividades sociales y académicas/laborales:

a. Con frecuencia falla en prestar la debida atención a detalles o por descuido se cometen errores en las tareas escolares, en el trabajo o durante otras actividades (p. ej., se pasan por alto o se pierden detalles, el trabajo no se lleva a cabo con precisión).

b. Con frecuencia tiene dificultades para mantener la atención en tareas o actividades recreativas (p. ej., tiene dificultad para mantener la atención en clases, conversaciones o en la lectura prolongada).

c. Con frecuencia parece no escuchar cuando se le habla directamente (p. ej., parece tener la mente en otras cosas, incluso en ausencia de cualquier distracción aparente).

d. Con frecuencia no sigue las instrucciones y no termina las tareas escolares, los quehaceres o los deberes laborales (p. ej., inicia tareas pero se distrae rápidamente y se evade con facilidad).

e. Con frecuencia tiene dificultad para organizar tareas y actividades (p. ej., dificultad para gestionar tareas secuenciales; dificultad para poner los materiales y pertenencias en orden; descuido y desorganización en el trabajo; mala gestión del tiempo; no cumple los plazos).

f. Con frecuencia evita, le disgusta o se muestra poco entusiasta en iniciar tareas que requieren un esfuerzo mental sostenido (p. ej., tareas escolares o quehaceres domésticos; en adolescentes mayores y adultos, la preparación de informes, completar formularios, revisar artículos largos).

g. Con frecuencia pierde cosas necesarias para las tareas o actividades (p. ej., materiales escolares, lápices, libros, instrumentos, billetero, llaves, papeles del trabajo, gafas, móvil).

h. Con frecuencia se distrae con facilidad por estímulos externos, (para adolescentes mayores y adultos, puede incluir pensamientos no relacionados).

i. Con frecuencia olvida las actividades cotidianas (p. ej., hacer las tareas, hacer las diligencias; en adolescentes mayores y adultos, devolver las llamadas, pagar las facturas, acudir a las citas).

2. Hiperactividad e impulsividad: Seis (o más) de los siguientes síntomas se han mantenido durante al menos 6 meses en un grado que no concuerda con el nivel de desarrollo y que afecta directamente a las actividades sociales y académicas/laborales:

Nota: Los síntomas no son sólo una manifestación del comportamiento de oposición, desafío, hostilidad o fracaso para comprender tareas o instrucciones. Para adolescentes mayores y adultos (a partir de 17 años de edad), se requiere un mínimo de cinco síntomas.

a. Con frecuencia juguetea con o golpea las manos o los pies o se retuerce en el asiento.

b. Con frecuencia se levanta en situaciones en que se espera que permanezca sentado (p. ej., se levanta en la clase, en la oficina o en otro lugar de trabajo, o en otras situaciones que requieren mantenerse en su lugar).

c. Con frecuencia corretea o trepa en situaciones en las que no resulta apropiado. (Nota: En adolescentes o adultos, puede limitarse a estar inquieto.)

d. Con frecuencia es incapaz de jugar o de ocuparse tranquilamente en actividades recreativas.

e. Con frecuencia está “ocupado,” actuando como si “lo impulsara un motor” (p. ej., es incapaz de estar o se siente incómodo estando quieto durante un tiempo prolongado, como en restaurantes, reuniones; los otros pueden pensar que está intranquilo o que le resulta difícil seguirlos).

f. Con frecuencia habla excesivamente.

g. Con frecuencia responde inesperadamente o antes de que se haya concluido una pregunta (p. ej., termina las frases de otros; no respeta el turno de conversación).

h. Con frecuencia le es difícil esperar su turno (p. ej., mientras espera en una cola).

i. Con frecuencia interrumpe o se inmiscuye con otros (p. ej., se mete en las conversaciones, juegos o actividades; puede empezar a utilizar las cosas de otras personas sin esperar o recibir permiso; en adolescentes y adultos, puede inmiscuirse o adelantarse a lo que hacen otros).

B. Algunos síntomas de inatención o hiperactivo-impulsivos estaban presentes antes de los 12 años.

C. Varios síntomas de inatención o hiperactivo-impulsivos están presentes en dos o más contextos (p. ej., en casa, en la escuela o en el trabajo; con los amigos o parientes; en otras actividades).

D. Existen pruebas claras de que los síntomas interfieren con el funcionamiento social, académico o laboral, o reducen la calidad de los mismos.

E. Los síntomas no se producen exclusivamente durante el curso de la esquizofrenia o de otro trastorno psicótico y no se explican mejor por otro trastorno mental (p. ej., trastorno del

estado de ánimo, trastorno de ansiedad, trastorno disociativo, trastorno de la personalidad, intoxicación o abstinencia de sustancias).

Nota: Los síntomas no son sólo una manifestación del comportamiento de posición, desafío, hostilidad o fracaso en la comprensión de tareas o instrucciones. Para los adolescentes mayores y adultos (17 y más años de edad), se requiere un mínimo de cinco síntomas.

Especificar si:

314.01 (F90.2) Presentación combinada: Si se cumplen el Criterio A1 (inatención) y el Criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) durante los últimos 6 meses.

314.00 (F90.0) Presentación predominante con falta de atención:

Si se cumple el Criterio A1 (inatención) pero no se cumple el Criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) durante los últimos 6 meses.

314.01 (F90.1) Presentación predominante hiperactiva/impulsiva:

Si se cumple el Criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) y no se cumple el Criterio A1 (inatención) durante los últimos 6 meses.

Especificar si:

En remisión parcial: Cuando previamente se cumplían todos los criterios, no todos los criterios se han cumplido durante los últimos 6 meses, y los síntomas siguen deteriorando el funcionamiento social, académico o laboral.

Especificar la gravedad actual:

Leve: Pocos o ningún síntoma están presentes más que los necesarios para el diagnóstico, y los síntomas sólo producen deterioro mínimo del funcionamiento social o laboral.

Moderado: Síntomas o deterioros funcionales presentes entre “leve” y “grave”.

Grave: Presencia de muchos síntomas aparte de los necesarios para el diagnóstico o de varios síntomas particularmente graves, o los síntomas producen deterioro notable del funcionamiento social o laboral. ³

ANEXO 2
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD Y HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

México D.F, a _____ de _____ 201__

Por medio de la presente carta estamos invitando a su hijo(a) a participar en el estudio: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD SEROTONINÉRGICA CEREBRAL EN LOS ESCOLARES CON TRASTORNO POR DÉFICIT DE ATENCIÓN E HIPERACTIVIDAD CON Y SIN OBESIDAD. Para que su hijo(a) participe es necesario contar con la autorización tanto de su hijo como de usted. El estudio se realizará en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, y tiene el propósito de evaluar si los niños con Trastornos por déficit de atención e hiperactividad que tiene obesidad presentan una disminución de una sustancia que se produce en el cerebro que se llama serotonina.

Procedimientos:

Si usted y su hijo aceptan participar en el estudio sucederá lo siguiente:

1. En la consulta externa del Servicio de Psiquiatría Infantil del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, se le pedirá que conteste unas preguntas relacionadas con su estado de ánimo y comportamiento en cuanto a atención e hiperactividad en su casa y en la escuela. La contestación de las preguntas tarda aproximadamente 15 a 20 minutos, de acuerdo al resultado de la encuesta, continuará o no en el estudio.
2. En caso de continuar en el estudio se le citará a las 08:00 am, en el laboratorio de Patología Molecular de la Unidad de Investigación Biomolecular del Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI en donde se le tomará tres mililitros de sangre (que equivale a media cucharadita) a través de una punción de la vena localizada en la parte anterior del pliegue del antebrazo para determinar algunas sustancias como: ácidos grasos libres, albumina plasmática y un aminoácido producto de la dieta diaria llamado L-triptófano.
3. Ese mismo día en el laboratorio de investigación, a su hijo(a) se le realizará un estudio que consiste en colocarle unos audífonos por los cuales escuchará 200 sonidos de diferente intensidad, estos sonidos son detectados por el cerebro. Las respuestas cerebrales serán registradas en una computadora, todo este estudio se conoce como potenciales auditivos

evocados, dura aproximadamente 30 minutos, se le colocaran unos electrodos encima del cuero cabelludo y usted acompañará a su hijo.

Posibles riesgos y molestias:

a) La punción de la vena para obtener la muestra de sangre puede ocasionar dolor leve a moderado que pasará después de la punción, es posible que se presente un pequeño moretón que desaparecerá en unos días. En caso de que se registre alguna complicación relacionada con la punción será atendido por los médicos responsables del estudio.

b) En cuanto a los potenciales evocados, la intensidad de los sonidos que se le aplicarán a su hijo no causan ninguna molestia o daño a su audición.

c) Para este estudio se requiere que su hijo sea desvelado la noche previa, así como que sea lavado el cabello y durante el estudio el niño deberá permanecer quieto.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio.

Su hijo no recibirá ningún beneficio directo por su participación, sin embargo los resultados del estudio permitirán incrementar el conocimiento de cómo funciona la atención y la actividad motora en los niños/o niñas con el trastorno por déficit de atención e hiperactividad obesos.

Información sobre resultados

En el momento que usted lo solicite se le dará la información requerida sobre los resultados del estudio.

Participación o retiro.

Usted conserva el derecho de que su hijo se retire del estudio cuando así lo decida, sin que ello afecte la atención médica que recibe su hijo (a) en el Instituto.

Privacidad y confidencialidad.

La información que nos proporcione, como su nombre, teléfono y dirección será guardada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas al cuestionario y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad. Asimismo, el equipo de investigadores, su médico en el Servicio Psiquiatría Infantil del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos que usted lo autorice. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o su bienestar (por ejemplo si llegara a sufrir algún daño físico o si llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley. En caso

de que los resultados de este estudio se publiquen o se presenten en conferencias, no se revelará la identidad de su hijo (a). Para proteger su identidad le asignaremos un número a sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

Declaración de consentimiento informado

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas, y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo que mi hijo (a) participe en la investigación que aquí se describe y autorizo la utilización de los datos para investigaciones futuras que emanen de esta y que estén o no relacionadas con el presente estudio.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:
Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720.
Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico:
comision.etica@imss.gob.mx

Dr. Gabriel Manjarrez Gutiérrez (Teléfono 56 26 69 00, Extensión 22156 de 7.30 a 15.30 h. Celular 0445554192539, las 24 h del día. Dra. Martha Cristina Fernández Cruz (Teléfono 56 27 69 00 extensión 22302 de 730 a 15.30 h. Celular 0445561161429, las 24 h del día). Dra. Rocío Herrera Márquez (Teléfono 56 27 69 00 extensión 22306 de 730 a 15.30 h. Celular 0445529710318, las 24 h del día).

Nombre y Firma del padre, Tutor o representante legal Nombre y Firma del Investigador

Nombre y Firma del Testigo 1

Nombre y Firma del Testigo 2

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Les he explicado el estudio de investigación a los padres y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Fecha_____

ANEXO 3

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD Y HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN PROTOCOLO
DE INVESTIGACIÓN**

Fecha: _____

Te estamos invitando a participar en un estudio de investigación cuyo título es: **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD SEROTONINÉRGICA CEREBRAL EN LOS ESCOLARES CON TRASTORNO POR DÉFICIT DE ATENCIÓN E HIPERACTIVIDAD CON Y SIN OBESIDAD**. El objetivo o motivo del estudio es saber si una sustancia en el cerebro llamada serotonina es diferente en niños con problemas de atención que son gorditos y los que no lo son. Al igual que tú serán invitados otros 60 niños con Trastorno por déficit de atención e hiperactividad atendidos en este hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Será necesario tomarte una muestra de sangre (aproximadamente 3ml o media cucharadita de sangre) de una vena de tu antebrazo.

El mismo día de la toma de la sangre se te realizará un examen en un cuarto sin ruidos colocándote unos audífonos en los oídos por medio de los cuales escucharas varios sonidos, y también se te colocarán 4 parches pequeños (detrás de los oídos, en la cabeza y la frente) y tú actividad del cerebro será captada en una computadora. La duración del estudio es de 30 minutos aproximadamente y no causa molestias.

Como ya sabes, cuándo te saquen la sangre sentirás un piquete cuando la aguja entra en la piel que molesta un poquito pero después de unos minutos ya no, a veces puede aparecer un moretón que se quita en pocos días.

Cuando empieces a participar en el estudio si tienes alguna duda puedes preguntarme todo lo que quieras saber. Sí ahora decidas participar, y después ya no quieres estar puedes irte del estudio cuando tú quieras y nadie se enojará contigo.

Nombre del menor: _____

ANEXO 4

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Fecha: _____

Nombre del paciente: _____

Nombre del familiar: _____

Parentesco del familiar: _____ No. Expediente _____

Teléfono _____

Sexo: Femenino Masculino Edad: _____ años cumplidos

Grado escolar: _____

Fecha en que se dio diagnóstico de TDAH: _____ Subtipo _____

Amplitud N1/P2	
L-Trp Total	
L-Trp Trp Libre	
Peso (kg)	
Estatura(cm)	
IMC	
Porcentil	

ANEXO 4

Determinación de L-triptófano total y libre en el plasma

1. Se obtendrá tres mililitros de sangre en un tubo de borosilicato con 750 μ L de una solución anticoagulante ACD (citrato de sodio 3.6 mg, ácido cítrico 9.9 mg y dextrosa 11 mg, amortiguados con solución tris acetato de sodio 50 mM, pH 7.4.
2. Inmediatamente después de su obtención los tubos con las muestras de sangre serán colocados a temperatura ambiente y se protegerán de la luz.
1. Una hora después los tubos con la sangre se centrifugarán a 600 g, durante 3 minutos.
4. Se obtendrá un ultrafiltrado del plasma con membranas Nanosep 30K, el tiempo de centrifugación empleado será de 60 segundos a 3,000 g.
5. Se tomarán 20 mL del ultrafiltrado y del plasma total, se desproteinizarán con ácido HClO₄, 0.1 M, más metabisulfito de sodio 4 mM. Se centrifugarán a 15,000 g, 10 minutos.
6. Se utilizará una columna de simetría C₁₈ de fase reversa, 3.9 X 150 mm de longitud y 5 μ m de tamaño de la partícula.
7. Se usará 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 3.3 y metanol/agua.
8. La reacción se medirá en un detector fluorométrico a 290 nm de excitación y 330 nm de emisión. La respuesta será cuantificada por un sistema análogo Empower 2.
1. La concentración de la forma libre y total del L-Trp en el plasma será expresada en μ mol/L

ANEXO 5

Registro del potencial auditivo evocado

- 1.** Antes de realizar el estudio, se confirmará la audición normal en los pacientes con audiometría tonal, 20 dB
- 2.** Los estudios se efectuarán a las 7:00 a 8:00 AM para evitar interferencias acústicas, en un cuarto oscuro, aislado acústica y eléctricamente, con la paciente en reposo por 10 minutos, con los ojos cerrados.
- 3.** Se realizará un registro en 2 canales (A1, A2) con Cz como referencia.
- 4.** Se colocarán electrodos de plata de 10 mm de diámetro con gel conductor, se medirá la impedancia del cuero cabelludo y se realizará el estudio siempre y cuando la impedancia de todos los electrodos estén por debajo de 5 ohms, en los casos que requirieran tricotomía, esta se realizará con tricótomo eléctrico, previa autorización del paciente en un diámetro de un centímetro.
- 5.** El paciente se colocará en un sillón reclinable, se mantendrá en reposo 10 minutos con las luces apagadas.
- 6.** Se le colocarán los audífonos ajustables y se procederá a la aplicación de series de 200 tonos, a una tasa de 1.1/segundo, frecuencia de 1.0 kHz y 100 mseg de duración, con cuatro diferentes intensidades: 50, 70, 90 y 103 dB.
- 7.** Se utilizará un filtro análogo de 150 Hz, se registrarán los datos en una ventana de 1500 mseg post-estímulo. Para suprimir los artefactos, se excluirán todos los ensayos que rebasen los $\pm 50 \mu\text{V}$ en cualquier canal en cualquier momento de la promediación.

8. Se obtendrán el promedio de las curvas de todos los sujetos en el período del componente N1/P2 y se imprimirá el registro al final de la sesión que dura aproximadamente 30 minutos.

ANEXO 6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente proyecto no atentó contra la seguridad ni contra la dignidad de los pacientes y cumplió los criterios de ética estipulados con la declaración de Helsinki. El estudio representó un riesgo mínimo para los pacientes según la ley general de salud en materia de investigación, ya que se comparó la actividad serotoninérgica cerebral por medios no invasivos. Existe evidencia en la literatura mundial que sustenta que estímulos auditivos por arriba de 90 dB, e inclusive algunos autores utilizan estímulos de 113 dB producen una reducción paradójica de los PAEs con un impacto en la linearización de la pendiente que relaciona la amplitud en μV del componente N1/P2 con la intensidad del estímulo auditivo. Este fenómeno ha sido interpretado como un mecanismo de protección cortical a la sobreestimulación sensorial. Por lo tanto, individuos que tienen pendientes pronunciadas con estos estímulos tienen una disminución de este mecanismo modulador ubicado en el tallo cerebral y que está representado por el sistema serotoninérgico. Por otro lado, no se ha reportado ninguna complicación auditiva y cortical con estímulos de 90 a 113 dB de intensidad, debido probablemente a que son pocos estímulos con mínima duración. Y una vez que se les explicó a los pacientes y a los familiares todos los aspectos anteriormente señalados, se les solicitó su consentimiento informado y carta de asentamiento a los pacientes. La información obtenida en los cuestionarios y entrevistas de cada paciente son estrictamente confidenciales. Además el estudio no tuvo ningún beneficio personal o remuneración económica para ninguno de los investigadores participantes en el estudio.