



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Aspectos cronobiológicos, emocionales y nutricionales en pacientes con Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad

Tannia Valeria Carpio Arias

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA

**Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació
Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia**

**Aspectos cronobiológicos, emocionales y nutricionales en pacientes con
Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad.**

Tannia Valeria Carpio Arias

2018



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació

Departament de Nutrició, Ciències de l'Alimentació i Gastronomia

**Aspectos cronobiológicos, emocionales y nutricionales en pacientes con
Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad.**

Memoria presentada por Tannia Valeria Carpio Arias para optar por el título de Doctora por la Universitat de Barcelona, dirigida por:

Dra. María Izquierdo Pulido.

Directora y Tutora

Dr. José Ángel Alda Diez

Co-director

Tannia Valeria Carpio Arias

Barcelona, 2018

Financiamiento:

Este trabajo ha sido financiado por:



Ministerio de Economía y Competitividad.
Instituto de Salud Carlos III. Ayudas a Proyectos de Investigación (PI11/2009) España.



Fundación Bosch i Gimpera Universidad de Barcelona, España.



Centro de Investigaciones Biomédicas en Red, Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición.
CIBEROBN CB06/03, iniciativa del Instituto de Salud Carlos III, España.



INSA-UB. Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària - Universitat de Barcelona.



Universitat de Barcelona- Barcelona, España.



Secretaría de Educación Superior, Ciencia, tecnología e Innovación del Gobierno de la República del Ecuador. Beca “Programa Universidades de Excelencia - GAR” (Grupo de Alto Rendimiento) 2014.

Por lo que me han regalado, a las mujeres de mi vida:

Un dulce valor, Carolina.

Una implacable determinación, Ruth.

Una historia de valentía, Yolanda y Leonor.

Una llama en el corazón, María Victoria.

Agradecimientos

En mi período de formación doctoral quiero dar gracias a las personas que me han acompañado y apoyado, seguramente las palabras me queden cortas en comparación con el sentimiento que quisiera expresarles:

A mi directora y tutora de tesis, Dra. María Izquierdo, por acogerme y depositar toda su confianza desde mi llegada a Barcelona, por toda su paciencia y pasión en los proyectos que hemos emprendido, gracias por haber sido una gran jefa, que mantiene el equilibrio entre la exigencia que caracteriza su excelencia, pero también su parte humana más cálida, es una persona maravillosa a quien llevaré en mi corazón por el resto de mi vida, la quiero mucho y gracias por todas sus enseñanzas.

A mi co-director de tesis: Dr. José Angel de Alda, coordinador de la Unidad de TDAH del Hospital Sant Joan de Dèu-Barcelona por todo su apoyo técnico y científico; José Ángel: muchas gracias por contestar amablemente siempre a mis preguntas y terminar con la frase “buen trabajo”, mil gracias por compartir conmigo el fascinante mundo de la psiquiatría infantil. A la Sra. Anna Huguet Miguel, psicóloga del Hospital Sant Joan de Dèu Barcelona, muchas gracias por todo tu apoyo, por tus ideas y conocimientos compartidos.

A la Dra. Trinitat Cambras y Dr. Antoni Diez del Departamento de Fisiología de la Universidad de Barcelona, muchas gracias por ayudarme a entender un poco la ciencia “del tiempo”, me llevo entrañables recuerdos suyos, y puedo decir que ha sido un verdadero honor trabajar con ustedes en el increíble mundo de la cronobiología.

A la Dra. Alejandra Ríos, amiga y compañera del grupo de investigación en Genómica Nutricional, con quien compartí mucho de mi tesis, gracias por cada consejo y gracias por permitirme trabajar juntas en este proyecto.

A mis compañeros y compañeras de laboratorio: sean de mi grupo de investigación y del resto del departamento de “Nutrición, Ciencias de la Alimentación y Gastronomía”. Con ustedes he tenido la suerte de compartir tantas cosas, cada uno es un mundo distinto, y sin embargo juntos, nos hemos podido sentir como en casa, y aprender los unos de los otros, gracias por todo, estoy segura que los echare mucho de menos. Un abrazo especial a Fernanda Zerón, gracias por estar en mis peores momentos, porque siempre he podido contar contigo, amiga: te quiero muchísimo, sé que llegarás muy lejos y me alegra tanto haberte conocido!. A “Yady”, porque nunca han existido fronteras para nuestra amistad y porque juntas hemos sabido llevar mejor la vida de una doctoranda.

A quienes hacen la Secretaría de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación-Ecuador (SENESCYT), gracias por su gestión y acompañamiento.

A mi amado esposo, gracias por haberme acompañado de mil maneras en este proceso, por su apoyo incondicional y por creer en mí tanto, incluso más que yo misma. Le amo y

agradezco mucho a la vida por haberle conocido y caminar juntos en cada sueño que emprendemos.

A mis padres: Pepe y Carolina, porque siempre me han enseñado el valor de las cosas y la responsabilidad de conseguir mis propios sueños, pero sobre todo por enseñarme lo hermosa que es la vida mostrándome los detalles de la sensibilidad y bondad siempre con actos y jamás con palabras, por regalarme la vida, la música, el arte, la historia, el deporte y por apoyarme en todas mis decisiones, por locas que les hayan parecido, siempre han estado conmigo. A mis suegros: Susana y Guillermo, por su apoyo y por quererme como soy. A mis hermanos de sangre: Natalia, Nicolás y Antonella porque son mis amigos y mis compañeros de toda la vida, a mis hermanos de corazón: Flor, Elvia, Nelly, Melannie, Dennise, y Galo por todo su cariño y apoyo, a mis queridos sobrinos, alegría de cada día.

Por último, dedico estas líneas a la persona más importante de mi vida, a mi preciosa María Victoria, faltarían las palabras para decirte cuanto te amo hijita, cuando llegaste a este mundo te quedaste con mi corazón para siempre, contigo nació en mí la valentía que me faltaba, me convertiste en mamá, y eres la responsable del nacimiento de nuevas esperanzas e ilusiones. Sé que nos espera una vida hermosa juntas, prometo hacer de todo para que tu existencia sea lo más feliz posible.

Abreviaturas y acrónimos:

TDAH	Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad.
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.
MBCT	Mindfulness-based cognitive therapy.
ODD/TND	Oppositional defiant disorder / Trastorno Negativista Desafiante
SC	Sistema Circadiano.
NSQ	Núcleo Supraquiasmático.
TRH	Tracto retino hipotalámico.
CLOCK	Circadian Locomotor Output Cycles Kaput.
CCGs	Clock Controlled Genes.
BMAL	Brain and muscle ARNT-like protein.
CRY	Genes del criptocromo.
PER	Genes Period. (period circadian protein homolog, 1, 2, 3)
MESOR	Mean estimating statistics of rhythm
SNP	Single nucleotide polymorphism.
5-HT	5-hidroxitriptamina o serotonina
5-HTT	Transportador de la serotonina.
HTR	Receptor de la serotonina.
TPH	Triptófano-hidroxilasa.
SLC6A4	Gen que codifica el transportador de la serotonina.
5-HTTLPR	Serotonin transporter linked polymorphic region.
POMC	Neuronas anorexigénicas de propio melanocortina.
α-MSH	Hormona estimulante de melanocitos α .
MC4R	Ligando endógeno del receptor de melanocortina 4.
NPY/AgRP	Neuropéptido Y/ligante agouti.
GABA	Ácido gamma amino butírico.
K-SADS-PL	Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia
WISC-IV	Escala de Weschler para evaluar el cociente intelectual.
CFA	Cuestionario de frecuencia de alimentos.
IMC	Índice de masa Corporal.
IMC/ Z score	Índice de masa corporal Z-score.
IOTF	International Obesity Task Force.
TEMPS	Programa de análisis de datos cronobiológicos.
CPRS/CTRS	Conners Parent Rating Scale/Conners teacher rating scale.
CBCL	Child Behavior Checklist.
PCR	Protein Chain Reaction.
MSP1	Enzima de digestión.
STATA	Programa de análisis de datos estadísticos.
DESR	Desregulación emocional

Tabla de Contenidos

Presentación.	1
1. Introducción.	5
1.1 Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH).	5
1.1.1 Definición, epidemiología y comorbilidad del TDAH.	5
1.1.2 Criterios diagnósticos del TDAH.	6
1.1.3 Etiología del TDAH.	7
1.1.4 Tratamiento del TDAH.	9
1.1.4.1 Tratamientos psicopedagógico y psicológicos	9
1.1.4.2 Tratamiento farmacológico	10
1.1.4.3 Otros tratamientos	11
1.1.5 Problemas relacionados con la dieta en pacientes con TDAH.	12
1.2 Aspectos cronobiológicos del TDAH	18
1.2.1 Definiciones básicas	18
1.2.2 Mecanismos moleculares de la cronobiología	19
1.2.3 Técnicas cronobiológicas en la práctica clínica	20
1.2.4 Ritmos circadianos en el TDAH	23
1.2.4.1 Genes reloj en pacientes con TDAH	23
1.2.4.2 Evidencias de alteraciones circadianas en pacientes con TDAH	24
1.2.4.3 Peso corporal, alteraciones de los ritmos circadianos y TDAH	27
1.2.4.4 Relación dieta sueño en pacientes con TDAH.	29
1.3 La serotonina y sus implicaciones en el TDAH.	32
1.3.1 Serotonina y polimorfismo del transportador de la serotonina	32
1.3.2 Polimorfismo del 5-HTTLPR e implicaciones en el TDAH.	35
1.3.3 Implicaciones nutricionales de la serotonina en el TDAH	37
2. Hipótesis y objetivos	41
2.1 Hipótesis	42
2.2 Objetivos	42
3. Sujetos y métodos	47
3.1 Sujetos	47
3.2 Métodos y materiales	48

3.2.1 Procedimientos diagnósticos del TDAH	48
3.2.2 Evaluación de la ingesta dietética	50
3.2.3 Determinación de mediciones antropométricas y bioquímicas	51
3.2.4 Evaluación de la salud circadiana.	51
3.2.4.1 Evaluación circadiana por actigrafía	52
3.2.4.2 Evaluación circadiana por cuestionarios	54
3.2.5 Genotipado del gen SLC6A4.	55
3.3 Análisis estadístico	57
4. Resultados	61
4.1 Alteraciones de los patrones circadianos de actividad motora en niños y adolescentes con trastorno de déficit de atención e hiperactividad. Circadian pattern of motor activity in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder.	61
4.2 La variabilidad de la intensidad de la luz, está asociada con cambios en los patrones circadianos de actividad motora en niños y adolescentes con TDAH. Seasonal light variability related with circadian alterations of motor activity in children and adolescents with ADHD versus control patients.	78
4.3 La calidad y las alteraciones del sueño se asocian con la dieta en niños y adolescentes con TDAH: un estudio de caso de control. Sleep quality and sleep disturbances associate with diet in children and adolescents with ADHD: a control-case study.	90
4.4 El polimorfismo del transportador de la serotonina en población pediátrica con TDAH y su relación con síntomas internalizantes y externalizantes y peso corporal. Serotonin-transporter polymorphism in pediatric population with ADHD and implications in internalizing & externalizing symptoms and body weight: A preliminary study.	110
4.5 Los niveles séricos de hierro y ferritina se asocian con síntomas conductuales y capacidades cognitivas en niños y adolescentes con TDAH. Iron	127

and ferritin serum levels associates with behavioral symptoms and cognitive abilities in children and adolescents with ADHD

5. Discusión 145

5.1 Estudio cronobiológico de la actividad motora en niños y adolescentes con TDAH. 146

5.1.1 Patrones circadianos de la actividad motora en población pediátrica con TDAH. 146

5.1.2 Intensidad de la luz y su influencia en los patrones de actividad motora en niños y adolescentes con TDAH. 150

5.2 Calidad y alteraciones del sueño asociados con dieta en niños y adolescentes con TDAH. 151

5.3 Polimorfismo del receptor de la serotonina (5-HTTLPR), síntomas de comportamiento e implicaciones nutricionales en pacientes con TDAH. 153

5.4 La deficiencia de hierro se asocia con síntomas de comportamiento y habilidades cognitivas en niños y adolescentes con TDAH. 155

6. Conclusiones 159

7. Bibliografía 165

8. Anexos

A. Otras publicaciones en revistas indexadas.

A.1 Sistema indígena diversificado de cultivos y desarrollo local en la Amazonía ecuatoriana.

A.2 Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo “Semáforo Nutricional” en Ecuador

B. Comunicaciones en congresos científicos

B.1 Comunicación 1. Póster

B.2 Comunicación 2. Póster

B.3 Comunicación 3. Póster

B.4 Comunicación 4. Póster

B.5 Comunicación 5. Póster

B.6 Comunicación 6. Póster

B.7 Comunicación Oral

C. Cuestionarios

C1. Criterios diagnósticos del TDAH

Criterios de la Asociación Americana de Psiquiatría: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- Fifth edition DSM-5*

C2. Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario

C.3 Cuestionario Trastornos del sueño de Bruni

Presentación

Aspectos Evolutivos, Emocionales y Motriciles en niños con Trastorno de Atención e Hiperactividad



Presentación.

El trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) es un trastorno del neuro-desarrollo altamente prevalente en la infancia, caracterizado por un patrón de comportamiento definido por dos síntomas nucleares, la falta de atención y la hiperactividad/impulsividad, que suele acompañarse de problemas de rendimiento y de adaptación en los entornos sociales o educativos de los sujetos que la padecen. La etiología de este trastorno es compleja, ya que sus causas exactas aún no se han dilucidado por completo, sin embargo el TDAH parece presentar anormalidades estructurales y funcionales que responden a una combinación de varios factores ambientales y genéticos.

Estudios previos han mostrado que el TDAH está asociado con alteraciones de los ritmos circadianos. Esta condición podría tener un impacto en la sintomatología y las comorbilidades de estos pacientes, no obstante, estas asociaciones han sido escasamente abordadas. En este sentido, no se ha analizado, si la variabilidad del ritmo circadiano de la actividad motora puede tener algún impacto en parámetros como la sintomatología o el estado del peso corporal de estos pacientes. Tampoco se ha analizado si los pacientes con este trastorno tienen una mayor sensibilidad a factores externos como la intensidad de la luz (que suelen sincronizar los ritmos circadianos) respecto a pacientes sanos.

Adicionalmente, la salud circadiana se puede ver afectada por los problemas de sueño que a su vez son comunes en el TDAH. Sin embargo, los estudios que relacionan el impacto de la dieta en el sueño en estos pacientes, han mostrado ciertas inconsistencias en sus resultados. Se desconoce sobre todo si algún componente nutricional de la dieta pueda actuar como factor etiológico de los estos problemas.

Por otro lado, algunos factores genéticos podrían ser comunes tanto para el TDAH como para los problemas de comportamiento y las comorbilidades psicopatológicas. Un polimorfismo funcional de la región promotora de la serotonina (5-HTTLPR) podría brindar una explicación molecular de estos fenómenos. Además, estudios previos sugieren que, problemas de comportamiento como la inestabilidad emocional, la ansiedad el estrés y otros síntomas conductuales o rasgos psicológicos pueden modular la relación entre el apetito, la ingesta de alimentos y mecanismos posteriores para controlar el peso. Esta observación

podría estar relacionada con la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad observada en la población con TDAH.

Finalmente, varios estudios han demostrado que los patrones poco saludables de dieta en los pacientes con TDAH podrían conducir a determinadas deficiencias nutricionales, sumadas al propio hecho de que estados deficitarios de micronutrientes como por ejemplo el hierro exacerban la sintomatología de este trastorno. Sin embargo estos resultados han presentado algunas inconsistencias; y tampoco se ha analizado el riesgo potencial entre la deficiencia del hierro y los síntomas nucleares del TDAH (falta de atención e hiperactividad/impulsividad).

Por lo descrito, el objetivo del presente proyecto de tesis es evaluar las distintas asociaciones entre los aspectos cronobiológicos, emocionales y nutricionales en población pediátrica con TDAH, tanto en su sintomatología y comorbilidades como en aspectos de su salud en general como el estado del peso corporal.

1. Introducción

Aspectos Evolutivos, Emocionales y Motriciles en Niños con Trastorno de Atención e Hiperactividad



1. Introducción

1.1 Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH).

1.1.1 Definición, epidemiología y comorbilidad del TDAH.

Según el DSM-5 (*American Psychiatric Association*, 2013), el Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH), se caracteriza por síntomas generalizados de falta de atención, hiperactividad e impulsividad no adecuados a la edad de desarrollo de quien lo padece. Por esta razón, muchos niños y adolescentes con TDAH presentan dificultades para regular su comportamiento y ajustarse a las normas esperadas para su edad. La consecuencia es que, presentan dificultades de adaptación en su entorno familiar, escolar e incluso social, a menudo rinden por debajo de sus capacidades y pueden presentar trastornos emocionales y del comportamiento, lo que representa un perfil de calidad de vida bastante más bajo respecto al de un niño sano (Yang *et al.*, 2013; Quintero *et al.*, 2017).

El TDAH es una enfermedad de inicio infantil y se estima que sus consecuencias se pueden seguir presentando hasta en un 80% en la adolescencia y entre el 30-65% en la edad adulta. Parece que afecta más al sexo masculino y que los niños suelen presentar una prevalencia más alta del subtipo impulsivo/hiperactivo, mientras que las niñas suelen presentar más un subtipo inatento, siendo más frecuente en la clínica la presentación combinada (Biederman *et al.*, 2005; Bauermeister *et al.*, 2007). Se estima que el TDAH afecta a un 3,4% (CI 95% 2.6-4.5) de la población mundial (Polanczyk *et al.*, 2015) mientras que la prevalencia en España se sitúa alrededor de 5-8% en niños y 2.5-4.0% en adolescentes (González *et al.*, 2015). Actualmente se considera el trastorno del neurodesarrollo más frecuente.

Las comorbilidades con otras patologías en los pacientes con TDAH son muy comunes y variables, presentándose en un 60-80% de los casos. Entre ellas, se pueden citar: trastornos de conducta, de ansiedad y depresión, así como la presencia del Trastorno de Negativista Desafiante (*ODD-Oposition defiant disorder*; Biederman & Faraone, 2003). En este sentido, una investigación realizada en Estados Unidos mostró que el 27% de niños con este trastorno tenía un trastorno de conducta, el 18% trastornos de ansiedad y el 14% tenía depresión. Cabe señalar, que, las circunstancias sociales fueron un factor importante en el

riesgo de comorbilidad, ya que los niños de entornos más pobres tenían 3.8 veces más riesgo de desarrollar tres o más comorbilidades que los niños en mejor posición (30% vs. 8%; Larson *et al.*, 2009). Otras comorbilidades como la dislexia, el trastorno de coordinación motora, los trastornos del espectro autista, los trastornos de tics, el trastorno bipolar, los trastornos de uso de sustancias y trastornos de personalidad también han sido descritos en pacientes con este trastorno (Bolea-Alamañac *et al.*, 2014).

1.1.2 Criterios diagnósticos del TDAH.

No existe un marcador biológico para el TDAH, por lo que el diagnóstico es clínico y se realiza de acuerdo con criterios establecidos en función de la historia clínica del niño y de la repercusión de los síntomas del comportamiento en su red de relaciones. Dicho diagnóstico se complementa con la evaluación neuropsicológica, que permite establecer la magnitud de los déficits y detectar deficiencias en otras áreas funcionales (Schuch *et al.*, 2015).

Los criterios diagnósticos del TDAH son definidos, de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales 5ª edición (DSM-5; American Psychiatric Association, 2013) los cuales se presentan en el **Anexo C1**.

En función de los resultados se podrán clasificar las siguientes presentaciones:

- a. **Presentación combinada:** Si se cumplen el Criterio A1 (inatención) y el Criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) durante los últimos 6 meses.
- b. **Presentación predominante con falta de atención:** Si se cumple el Criterio A1 pero no se cumple el criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) durante los últimos 6 meses.
- c. **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.

El diagnóstico del TDAH es exclusivamente clínico obteniendo la información mediante entrevista a los padres y paciente, observación directa del paciente y con información de la escuela sobre el funcionamiento del niño/a en el aula.

Se complementa con diversos cuestionarios y escalas que pueden ayudar al personal clínico en el diagnóstico y en la búsqueda de la comorbilidad asociada.

1.1.3. Etiología del TDAH.

La etiología del TDAH implica la interrelación de componentes neurobiológicos, genéticos y medioambientales (incluida la dieta) que alteran el desarrollo cerebral, lo que resulta en anomalías estructurales y funcionales del mismo (**Figura 1**). Los factores que han recibido mayor atención por parte de la comunidad científica se resumen a continuación:

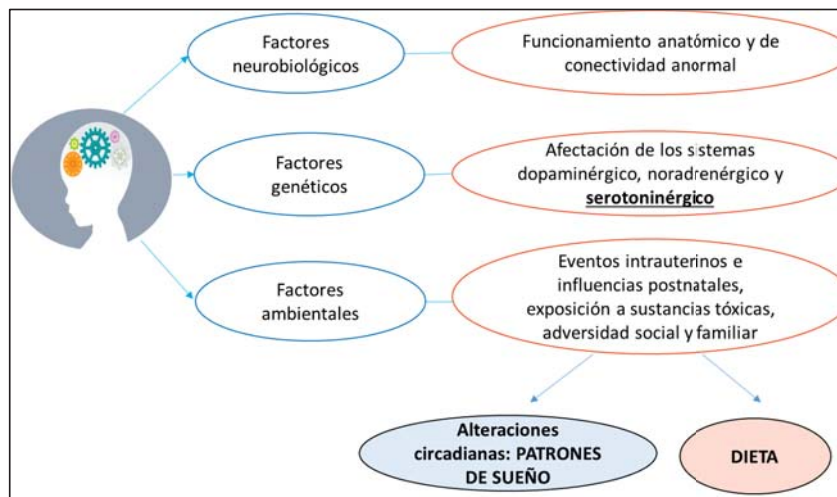


Figura 1: Factores etiológicos del TDAH.

- a. **Factores neurobiológicos:** Los estudios de neuroimagen indican que el TDAH es el resultado de un funcionamiento anatómico y de conectividad anormal a lo largo de los circuitos fronto-estriado, fronto temporal, fronto-parietal y/o fronto-estriado-parieto-cerebeloso. Además, la corteza prefrontal, la corteza cingular anterior, el caudado, el globo pálido, las regiones parietales, las regiones temporales, el cuerpo calloso, esplenio, vermis cerebeloso y cerebelo también han recibido una importante atención en estas investigaciones (Weyandt, Swentosky & Gudmundsdottir, 2013).
- b. **Factores genéticos:** Varios estudios de asociación genética se han llevado a cabo en los últimos años para identificar genes candidatos relacionados con el TDAH

(Franke *et al.*, 2009; Gatt *et al.*, 2014). Los factores genéticos influyen principalmente por la alta heredabilidad de tipo poligénica que explicaría hasta un 60-70% de esta varianza (Faraone *et al.*, 2005). Los genes más estudiados son aquellos que codifican sustancias bioactivas de los sistemas dopaminérgico, noradrenérgico y serotoninérgico (Puper-Ouakil *et al.*, 2008; Franke *et al.*, 2009; Kebir *et al.*, 2009). Adicionalmente se han estudiado otros genes que al parecer tienen importancia en el desarrollo del TDAH, sin embargo estos estudios se pueden considerar aún preliminares (Hawi *et al.*, 2015; Schuch *et al.*, 2015).

En la **Tabla 1**, se resumen los genes que muestran asociaciones genéticas con el TDAH. Cabe señalar que en este trabajo de investigación nos centraremos en el estudio del sistema serotoninérgico el cual se explicará con más detalle en el **Capítulo 1.3**.

Tabla 1. Genes que muestran evidencia replicada asociada con TDAH.

Gen	Variante asociada	Función Biológica
<i>SLC6A3</i>	40 bp VNTR	Regulador de dopamina extracelular y mediador de la recaptación de dopamina de la sinapsis.
<i>DRD4</i>	48 bp VNTR	GPCR activado por el neurotransmisor de la dopamina.
<i>D3D5</i>	148 bp dinucleotido repeticiones de dinucleótido	Traduce señales extracelulares en forma de dopamina en varias respuestas intracelulares, incluidos los efectos sobre la adenilato ciclasa, y los niveles de conductividad de Ca ²⁺ y K ⁺ .
<i>SLC6A4</i>	40 bp indel	Miembro de la familia de transportadores que depende de Na ⁺ y Cl ⁻ . Mediador de la recaptación de serotonina de las sinapsis.
<i>HTR1B</i>	rs6296	GPCR para serotonina. De interés para los fármacos antidepresivos y sustancias psicoactivas
<i>SNAP25</i>	rs3746544	Proteína de membrana plasmática esencial para la fusión de vesículas sinápticas y liberación de neurotransmisores
<i>SLC9A9</i>	Inversión de puntos de ruptura	Miembro de la gran familia de portadores de solutos 9. Actúa en el intercambio electro neutral de iones de hidrógeno / sodio a través de las membranas.
<i>LPHN3</i>	Haplotipo abarcando exones	Codifica un miembro de la subfamilia latrofilina de GPCR. Puede actuar en transducción de señales y adhesión celular.

<i>GIT1</i>	rs550818	GPCR kinasa. Se cree que está involucrado en el tráfico de vesículas, adhesión y aumento de la velocidad de migración celular. Y se sabe que la sobreexpresión de GIT1 regula el receptor beta2-adrenérgico.
<i>NOS1</i>	180–210 bp CA repeat	Media varios procesos biológicos, incluida la neurotransmisión y se informa que se asocia con afecciones neurodegenerativas.

Abreviaciones: GPCR, Receptores acoplados a proteína G (G-protein-coupled receptors); UTR, región sin traducir (untranslated Region); VNTR, número variable de repeticiones en tándem (variable number tandem repeat). Adaptado de Hawi *et al.*, (2015).

- c. **Factores ambientales**, como eventos intrauterinos (el estrés materno durante el embarazo, exposición prenatal al tabaco, alcohol y otras drogas / toxinas ambientales), complicaciones de embarazo y parto, así como retraso del crecimiento intrauterino, bajo peso al nacer y prematuridad. Además también se incluyen las influencias ambientales posnatales tempranas como las convulsiones neonatales, las lesiones cerebrales, la exposición al plomo y a los bifenilos policlorados en el desarrollo (Biederman, & Faraone, 2003). Adicionalmente, la adversidad psicosocial y los altos niveles de conflicto familiar también se asocian en la actualidad con este trastorno (Puper-Ouakil *et al.*, 2008). Por último, y no menos importante, se ha observado una asociación importante entre la etiología del TDAH con la dieta (Ríos-Hernández *et al.*, 2017; Pelsser *et al.*, 2017), y con algunas alteraciones circadianas, entre ellas los patrones de descanso/sueño (Coogan & McGowan 2017; Craig *et al.*, 2017) sin embargo estos dos aspectos se explicaran con detalle más adelante.

1.1.4. Tratamiento del TDAH.

El tratamiento habitualmente recomendado por las Guías de Práctica Clínica del TDAH es el tratamiento multimodal que incluye tratamiento psicopedagógico, psicológico y farmacológico

1.1.4.1. Tratamientos psicopedagógico y psicológicos.

Intervenciones psicopedagógicas que son un conjunto de prácticas para mejorar el aprendizaje que se realiza en el contexto escolar (Serrano-Troncoso *et al.*, 2013; Sonuga-Barke *et al.*, 2013).

Terapias psicológicas que incluyen terapias de conducta y entrenamiento en habilidades sociales, tanto para los pacientes como para los padres/madres. (Serrano-Troncoso *et al.*, 2013).

Terapia cognitiva basada en Mindfulness (Mindfulness-based cognitive therapy- MBCT) es un tratamiento psicológico de tercera generación que ha mostrado evidencias en la disminución de síntomas, la mejora del estado de ánimo y una mejora en la calidad de vida en pacientes con TDAH, por lo que puede posicionarse como un tratamiento novedoso (Cairncross & Miller, 2016; Meppelink *et al.*, 2016).

1.1.4.2. Tratamiento Farmacológico.

El tratamiento farmacológico es una parte crucial del manejo del TDAH. El número de niños y adolescentes que reciben tratamiento con medicamentos ha aumentado marcadamente en las últimas dos décadas (Bolea-Alamañac *et al.*, 2014; Luan *et al.*, 2017). Los fármacos más utilizados son los de tipo estimulante. En España se comercializan las siguientes: Lisdexanfetamina (Elvanse®) y metilfenidato (Concerta®, Rubifen®, Equasym®, Medikinet®). En los pacientes donde el uso de estos fármacos no proporciona los resultados esperados, se suelen utilizar fármacos no estimulantes, como: Atomoxetina (Strattera®) y Guanfacina (Intuniv®).

El principal tratamiento farmacológico actual para el TDAH es el clorhidrato de metilfenidato, (un medicamento estimulante) el cual ha mostrado ser efectivo aproximadamente en el 70% de los niños que sufren este trastorno (Bolea-Alamañac *et al.*, 2014). Los efectos farmacológicos del clorhidrato del metilfenidato consisten en la inhibición de la recaptación de dopamina y noradrenalina: bloquea los transportadores de estas catecolaminas, aumentando su concentración en el espacio sináptico y por tanto sus efectos de neurotransmisión. También potencia levemente la función de la serotonina. El clorhidrato de metilfenidato por tanto actúa aumentando la actividad cerebral, especialmente en áreas que desempeñan un papel clave en el control de la atención y el comportamiento (Larson *et al.*, 2009).

Los beneficios de este medicamento a menudo incluyen: mejora de la concentración, aumento de la atención al realizar una tarea, menos impaciencia e impulsividad, aumento de

la organización de tareas en el aula y mejora de las habilidades para escuchar. Sin embargo, el clorhidrato de metilfenidato también muestra efectos secundarios como un pequeño aumento en la presión arterial y en el ritmo cardíaco, pérdida de apetito, insomnio, cefalea, dolor abdominal y cambios de humor. Además, el tratamiento farmacológico, no puede ser usado en todos los pacientes, la adherencia a la medicación suele ser baja y muchas veces las dificultades académicas y sociales de los sujetos con este trastorno persisten (Catalá-López *et al.*, 2017).

1.1.4.3. Otros tratamientos

Si bien el tratamiento psicofarmacológico con metilfenidato tiene indudables efectos positivos sobre los síntomas de TDAH, también tiene limitaciones significativas, por lo que en la actualidad, el uso de tratamientos alternativos ha cobrado una importante fuerza (Danielson *et al.*, 2017). Se puede mencionar como los principales tratamientos alternativos a los siguientes:

Suplementos dietéticos, se han utilizado suplementos herbales como el ginkgo biloba (Ponto & Schultz, 2003), y picnogenol (Tenenbaum *et al.*, 2002), con resultados muy poco concluyentes; el uso de la L-carnitina por su parte, parece tener efectos en la atención de los pacientes pero no en la hiperactividad/impulsividad (Van Oudheusden & Scholte, 2002; Arnold *et al.*, 2007;); mientras que el uso de la melatonina ha mostrado mejoras en los patrones de descanso en pacientes con TDAH (Bendz & Scates, 2010). Adicionalmente, la ingesta de ácidos grasos esenciales ha mostrado una especial atención en el desarrollo del TDAH debido a su papel en el funcionamiento cerebral y del sistema nervioso central. Por tanto, la suplementación de Ω 3 ha sido foco de interés en el tratamiento de este trastorno (Sonuga-Barke, 2015; Cooper *et al.*, 2016). Debido a su importancia, este tema se ampliará más adelante.

Además en la última década, varios estudios han mostrado una importante relación entre la **práctica de actividad física** y múltiples beneficios en la sintomatología de pacientes con TDAH (Smith *et al.*, 2013; Izquierdo-Pulido *et al.*, 2015; Hoza *et al.*, 2016), la evidencia sugiere que el ejercicio físico puede tener un impacto positivo en el desempeño conductual, neurocognitivo, escolar, en las habilidades motoras y emocionales y en el control inhibitorio (Gapin & Etnier, 2010; Pontifex *et al.*, 2013; Hillman *et al.*, 2014).

1.1.5 Problemas relacionados con la dieta en pacientes con TDAH.

Las asociaciones entre diferentes patrones dietéticos y problemas en la alimentación en niños con TDAH han sido examinadas en varios estudios y desde distintas perspectivas (**Figura 2**). Se acepta de forma generalizada que las deficiencias nutricionales pueden afectar el desarrollo neurocognitivo, conductual y físico en esta importante etapa de la vida (Sha'ari *et al.*, 2017; Heilskov *et al.*, 2015; San Mauro *et al.*, 2017).

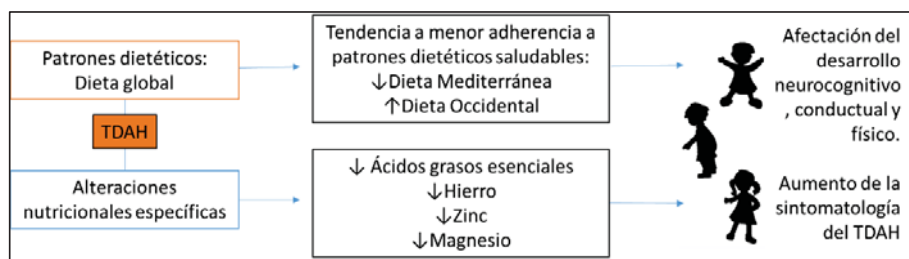


Figura 2: Visión global de los problemas de dieta en pacientes con TDAH

Diferentes estudios han demostrado que los niños y adolescentes con TDAH suelen tener un alto riesgo de desarrollar hábitos alimentarios indeseables y menor adherencia a patrones dietéticos saludables como por ejemplo a la dieta mediterránea (Ríos-Hernández *et al.*, 2017). En este mismo sentido, Park *et al.*, (2012) encontró que una mayor ingesta de postres azucarados, alimentos fritos y sal se asociaron con más problemas de aprendizaje, atención y comportamiento, mientras que Howard *et al.*, (2011) sugirió que los niños que tienen una ingesta alimentaria con un patrón de dieta occidental suelen tener deficiencias de micronutrientes como hierro, zinc y magnesio además de niveles circulantes más bajos de omega-3 frente a omega-6. Además, Van Egmond-Fröhlich *et al.*, (2012) señala que los síntomas de TDAH podrían estar asociados con una mala selección de alimentos en lugar de comer en exceso.

Por su parte, las intervenciones dietéticas en pacientes con TDAH, han sido analizadas en estudios previos como por ejemplo en el estudio de Ghanizadeh & Haddad, (2015) en el cual se concluye que la intervención dietética mejora notablemente la atención de los pacientes con TDAH. Recientemente, Pelsser *et al.*, (2017), en un meta análisis, concluyen que la dieta tiene un papel crucial en la sintomatología de este trastorno.

Otros estudios en relación con la alimentación se han focalizado en el concepto de que el TDAH puede ser la consecuencia, en algunos niños, de una reacción de hipersensibilidad a ciertos alimentos (Pelsser *et al.*, 2010; Millichap & Yee, 2012). Por ello, se han planteado tratamientos dietéticos para el TDAH en los cuales se plantea la eliminación de ciertos alimentos (denominadas como las dietas restrictivas) o bien a ciertos componentes de los alimentos, como es la eliminación de colorantes artificiales.

- a. Las **dietas restrictivas** de eliminación han mostrado ciertas mejoras en la sintomatología de este trastorno lo que podría ofrecer oportunidades de tratamiento en subgrupos de pacientes que no responden o son demasiado jóvenes para el uso de medicamentos. Estas dietas consisten en eliminar la mayoría de los alimentos que pueden tener propiedades antigénicas o alergénicas potenciales como leche, productos lácteos, huevos, nueces y algunas frutas (Nigg *et al.*, 2012; Pelsser *et al.*, 2017). La hipótesis que apoya esta asociación se refiere a que estos alimentos podrían inducir altos niveles de *IgG* lo que podría conducir a una recaída en el comportamiento de la población infantil con TDAH (National Institute of Mental Health, 2016). Ly *et al.*, (2017) en su artículo de revisión explica que el mecanismo candidato de las dietas de eliminación y el TDAH se podrían explicar en base al eje microbiota-intestino-cerebro que posiblemente involucra interacciones complejas entre sistemas múltiples, incluyendo el sistema metabólico, inmune, endócrino y neuronal, por lo que las perspectivas de investigación futuras estarían encaminadas en el estudio de estas asociaciones.
- b. La **eliminación de los colorantes artificiales de la dieta**, se basa en la hipótesis de que la ingesta de ciertos aditivos alimentarios como los colorantes artificiales está asociada a los problemas de aprendizaje e hiperactividad. En este sentido, un meta análisis concluye que los colorantes artificiales alimentarios tienen un pequeño pero estadísticamente significativo efecto adverso en los síntomas del TDAH (Sonuga-Barke *et al* 2013). Los mecanismos implicados en esta asociación aún no están claros (Pelsser *et al*, 2017) por lo que se requiere más estudios referentes a este tema, utilizando evaluación doble ciego y/o resultados a largo plazo.

- c. Se ha planteado también que **un consumo elevado de azúcares** simples estaría asociado con mayores índices de hiperactividad Wolraich (1995). Así, se ha propuesto reducir o eliminar los azúcares simples en pacientes con TDAH para mejorar su sintomatología. El mecanismo podría estar explicado en parte por un posible deterioro cognitivo resultante de la hipoglicemia reactiva, derivada de la ingesta de azúcares simples, a la cual son más sensibles los niños que los adultos Kim & Chang, (2011). No obstante, los resultados son poco concluyentes y se requieren más estudios que exploren la dirección y los mecanismos que subyacen a esta asociación. Finalmente Yu *et al.*, (2016) observó un mayor consumo de bebidas azucaradas en pacientes con TDAH sin embargo cuestiona que este fenómeno se podría considerar tanto causa como consecuencia del desorden, por lo que recomienda que las investigaciones futuras exploren la dirección y los mecanismos que subyacen a esta asociación.

Además de los estudios realizados sobre dieta total, que se han citado anteriormente, también existen numerosos trabajos en los que se ha investigado la participación de diferentes nutrientes sobre el TDAH y su sintomatología. A continuación, se describen estos estudios.

- a. **Ácidos grasos esenciales (Omega 3).** Los bajos niveles de omega-3 (Ω 3) se han asociado con trastornos del sistema nervioso central debido a su importante papel en el funcionamiento cerebral (Grant & Guest, 2016). Asimismo, se han encontrado niveles bajos de estos ácidos grasos en pacientes con TDAH, que podrían ocasionar unas concentraciones inadecuadas de serotonina y dopamina, neurotransmisores clave en este trastorno (Young & Conquer, 2005; Chalon, 2006; Colter *et al.*, 2008; Patrick & Ames, 2015).

Por estas razones, se ha estudiado los efectos beneficiosos de la suplementación de Ω 3 en la sintomatología del TDAH que se podrían sintetizar en los resultados de tres revisiones sistemáticas y meta análisis que se mencionan a continuación:

En primer lugar, Bloch *et al* (2011) concluyen que la administración de suplementos de ácidos grasos omega-3, particularmente con dosis más altas de ácido eicosapentaenoico, fue modestamente efectiva en el tratamiento del TDAH comparada con la farmacoterapia disponible actualmente como por ejemplo los

psicoestimulantes. Por otro lado Sonuga-Barke *et al.*, (2013) informaron que la suplementación con ácidos grasos libres produjo reducciones pequeñas pero significativas en los síntomas del TDAH. Más recientemente Cooper *et al.*, (2016) concluyen que los estudios de suplementación de Ω 3 realizados hasta la fecha proporcionarían además una evidencia sugestiva de moderados efectos en la reducción de los problemas de regulación emocional y Trastorno Negativista Desafiante, que son comorbilidades comunes en el TDAH.

Por lo que se puede concluir que la prescripción de ácidos grasos esenciales puede ser razonable debido primero a la evidencia de eficacia moderada y segundo a que estos suplementos presentan un perfil relativamente benigno de efectos secundarios. De esta manera, su utilización podría aumentar la eficacia de las intervenciones farmacológicas tradicionales o podría ser una alternativa para las familias que rechazan otras opciones psicofarmacológicas.

- b.** El **hierro** es un elemento esencial que participa en una amplia variedad de procesos metabólicos con una importante función en el sistema nervioso central, y en numerosos mecanismos de neurotransmisión. La deficiencia de hierro juega un papel importante en la regulación de la actividad dopaminérgica, dado que este mineral actúa como cofactor de la tirosina hidroxilasa, un paso crítico en la síntesis de dopamina (Wigglesworth, 1998) y otras catecolaminas (Cortese *et al.*, 2008) que se asocian con la patogenia del TDAH (**Figura 3**). Hasta la fecha, numerosos estudios han demostrado que los niños con TDAH tienen niveles de hierro más bajos (Oner *et al.*, 2010; Wang *et al.* 2017), este estado sub carencial o carencial podría afectar y agravar los problemas cognitivos, motores, de desarrollo y de conducta característicos de este trastorno (Halterman *et al.*, 2001; Konofal *et al.*, 2004; Oner *et al.*, 2010). Oner *et al.*, (2012) y Percinel *et al.*, (2016) sugirieron que la hiperactividad estaba significativamente asociada con los niveles de ferritina en estos pacientes. Adicionalmente, Lange *et al.* (2017) observó que los sujetos obesos con TDAH mostraban una ingesta menor de hierro comparada con sujetos con peso normal. Finalmente, y pese a los importantes hallazgos encontrados con la relación de este trastorno y el estado del hierro, una revisión sistemática reciente (Hariri & Azadbakht,

2015) recomienda realizar investigaciones más profundas que permitan obtener conclusiones sobre las recomendaciones de suplementación de este mineral en pacientes con TDAH.

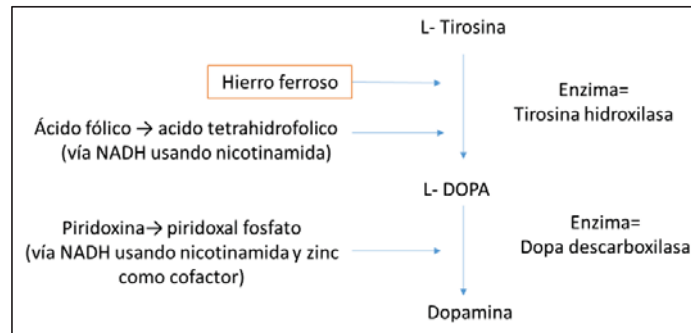


Figura 3. Deficiencia de hierro como posible factor de riesgo en la etiología del TDAH.

(Adaptada de Cortese *et al.*, 2008).

- c. El **zinc** es un mineral que juega un papel clave en la función inmune, el crecimiento y el desarrollo, la reproducción, y el desarrollo del cerebro. Es un cofactor esencial para más de 100 enzimas y es crucial para la conversión de la piridoxina (B6) a su forma activa. Este mineral también es necesario para la conversión de triptófano en serotonina. Además, el zinc está involucrado en la producción y regulación de la melatonina, que participa en el metabolismo de la dopamina, y también es cofactor de delta-6 desaturasa, una enzima clave en la síntesis de ácidos grasos (Dodig-Curković *et al.*, 2009). Varios estudios han demostrado que la suplementación con zinc, acompañado del tratamiento farmacológico, mejoraba los síntomas en pacientes con TDAH (Salehi *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016). No obstante, estos mismos autores, señalaron que todavía la evidencia existente no justifica una suplementación en la dieta de este mineral para todos los pacientes con TDAH. Investigaciones futuras deben incluir diferentes aspectos que puedan tener influencia como por ejemplo las interacciones fármaco-nutriente para que conduzcan a conclusiones sólidas que respalden las recomendaciones dietéticas.
- d. El **magnesio** se ha reconocido como un cofactor para más de 300 reacciones enzimáticas, jugando un importante papel en diversos mecanismos del organismo, incluidos la regulación de la contracción muscular, la presión sanguínea, el

metabolismo de la insulina, la excitabilidad cardíaca, el tono vasomotor, la transmisión nerviosa y la conducción neuromuscular (Gröber *et al.*, 2015). Diversos estudios han relacionado este mineral con el TDAH, donde además de encontrar valores más bajos de magnesio sérico en estos pacientes respecto a población sana, se observó un efecto positivo cuando dichos pacientes tomaron suplementos dietéticos de magnesio (Huss *et al.*, 2010; Mousain-Bosc, *et al.*, 2004). Sin embargo, recientemente se ha sugerido que se requieren más evidencias científicas que apoyen la suplementación generalizada de magnesio (Hariri *et al.*, 2015; Lange, 2017).

1.2. Aspectos cronobiológicos del TDAH.

1.2.1. Definiciones básicas.

El estudio científico de los ritmos biológicos corresponde a la **cronobiología**. El nombre de esta ciencia viene de *cronos*-tiempo, *bios*-vida, *logo*-conocimiento e indica el estudio de los efectos del tiempo en los seres vivos. La cronobiología, de hecho, estudia los **ritmos biológicos** es decir las variaciones periódicas que se manifiestan en los seres vivos y que se han generado como una consecuencia de la adaptación a la vida sobre la Tierra en respuesta a los cambios geofísicos (Cambras & Diez 2015).

La cronobiología se centra principalmente en el estudio de los ritmos que tienen períodos próximos a los de la rotación de la tierra (24 horas) y se los denominan **ritmos circadianos**. Estos ritmos son generados por estructuras de los seres vivos que actúan como relojes endógenos a su vez que permiten a los organismos predecir y anticiparse a los cambios medioambientales así como desarrollar mecanismos fisiológicos y conductuales de adaptación al medio ambiente, por lo tanto los relojes biológicos deben ser sincronizados entre sí y con el entorno exterior (Johnston *et al.*, 2016).

Por su parte, el **sistema circadiano** (SC) se define como el sistema responsable de la generación y mantenimiento de los ritmos circadianos del organismo y de su sincronización con el medio ambiente. El SC es un conjunto formado por los marcapasos, vías de sincronización y mecanismos de difusión del mensaje rítmico (Roenneberg *et al.*, 2007).

La principal estructura del SC, en mamíferos reside en **el núcleo supraquiasmático (NSQ)** dentro del hipotálamo (**Figura 4**). Las neuronas del NSQ generan ciclos ligeramente superiores a 24 horas incluso en ausencia de ciclos ambientales. Este marcapasos central se encuentra específicamente en la parte baja del hipotálamo, junto (bilateralmente) al tercer ventrículo, sobre el quiasma óptico.

El NSQ recibe información de la retina a través de un tracto neural especializado, denominado tracto retino hipotalámico (TRH), que es independiente de las vías que intervienen en la visión. Así el NSQ se sincroniza gracias a la existencia de un tipo de células ganglionares intrínsecamente fotosensibles, provistas del pigmento *melanopsina* (Hughes *et al.*, 2015).

El NSQ puede sincronizar respuestas en base a sincronizadores externos que son señales ambientales capaces de modificar la duración del ciclo o período al que oscila el reloj endógeno, dirigiéndolo y encarrilando, estos sincronizadores se denominan *Zeitgebers*.

Aunque el principal *Zeitgebers* es el ciclo de luz/oscuridad, se sabe también que existen otros agentes sincronizadores como por ejemplo el consumo de alimentos (ingesta/ayuno) y el ejercicio programado (actividad/reposo) que son capaces de reajustar los ritmos biológicos a un orden temporal concreto (Garaulet, & Gómez-Abellán, 2013).

El NSQ a su vez sincroniza el funcionamiento de varias estructuras u osciladores periféricos, mediante la secreción periódica de hormonas y la actividad del sistema vegetativo.

Además, en la actualidad se sabe que otros órganos como el corazón, el hígado, el aparato digestivo, los pulmones, el páncreas, la piel o incluso el tejido adiposo son capaces de generar ritmos propios (Carrasco-Benso *et al.*, 2016) aunque regulados por el NSQ (Repert & Weaver, 2002), teniendo sus propios sincronizadores.

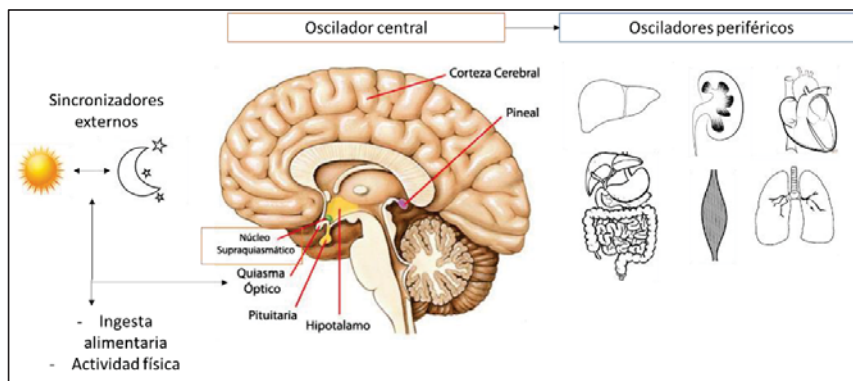


Figura 4: Nucleo Supraquiasmático y funcionamiento del Sistema circadiano

1.2.2. Mecanismos moleculares de la cronobiología.

La maquinaria molecular del reloj circadiano es todo un conjunto de genes y proteínas que se encuentran en cada una de las neuronas del NSQ, que generan un ciclo en los procesos de transcripción y traducción; es decir, de expresión génica y síntesis proteica (Cambras y Diéz, 2015).

A partir de los estudios de microarrays, se acepta en la actualidad que del 10 al 30% del genoma humano queda bajo el control de relojes moleculares circadianos. Esto implica que la expresión de la mayor parte de las variables de la conducta, psicológicas y bioquímicas muestran ritmos circadianos (Garaulet & Gómez Abellán, 2013; Lopez-Minguez *et al.*, 2017).

De esta manera, se ha analizado a nivel molecular, que el control de la expresión de los ritmos circadianos se realiza a través de los denominados “genes reloj” que a su vez regulan los *CCGs* (*Clock Controlled Genes*). Los genes reloj, en resumen, confieren ritmicidad a los procesos moleculares y fisiológicos, al codificar una serie de proteínas que generan mecanismos de autorregulación mediante bucles de retroalimentación transcripcionales positivos (activadores) y negativos (inhibidores) (Albrecht, & Eichele, 2003).

Los elementos positivos: *CLOCK* (circadian locomotor output cycles kaput) y *BMAL1* (brain and muscle ARNT-like protein) forman el heterodímero *CLOCK/BMAL1* que controla la expresión de los relojes moleculares circadianos. Mientras que los genes *PER's* (period circadian protein homolog) y los genes *CRY's* (Cryptochrome) son responsables de la fracción negativa que forman el heterodímero *CRY/PER2* que se transloca al núcleo para inhibir la actividad de *CLOCK/BMAL1*, de tal manera se produce un ciclo de activación e inhibición que se repite cada 24 horas. (Roenneberg *et al.*, 2007; Dibner *et al.*, 2010).

Los estudios sobre nutrigenética y cronobiología, han demostrado asociaciones importantes en alteraciones metabólicas como el sobrepeso y la obesidad y los genes reloj. Por ejemplo, se ha relacionado los genes *BMAL1* con el metabolismo lipídico, *CLOCK* y *BMAL1* con la homeostasis de la glucosa, mientras que *CLOCK* y *PER* parecen estar asociados con la regulación del apetito (Gekakis *et al.*, 1998), demostrando que también los ritmos de la alimentación y el metabolismo son regulados por procesos biológicos internos (Micó *et al.*, 2016).

1.2.3. Técnicas cronobiológicas en la práctica clínica.

La determinación de un ritmo circadiano se puede realizar de múltiples maneras, las cuales dependerán por ejemplo del objetivo o de las características de la población de estudio.

Actualmente, se utilizan técnicas no invasivas, como el uso de actímetros o cuestionarios validados para la determinación de ritmos biológicos.

El modelo matemático que se suele usar para estudiar un ritmo suele ser el método del *cosinor* (correspondiente a la función sinusoidal). Los distintos parámetros que caracterizan los ritmos biológicos (**Figura 5**) ajustados a una sinusoidal, son los siguientes:

- **Periodo:** es el intervalo de tiempo entre dos puntos iguales de ritmo, es decir el tiempo en el que se tarda en producirse una oscilación completa. Se le designa formalmente con la letra “T”.
- **MESOR** (*Mean Estimating Statistics of Rhythm*): es el valor medio de los puntos de la curva, o media aritmética de todos los valores obtenidos dentro de un ciclo.
- **Amplitud**, es el parámetro que representa la magnitud de un ritmo y que proporciona una idea del grado de variación entorno al valor promedio. Su valor se mide sobre la curva sinusoidal y no directamente sobre las mediciones reales.
- **Acrofase**, es el tiempo en que tarda la variable estudiada en alcanzar el valor máximo de ritmo.

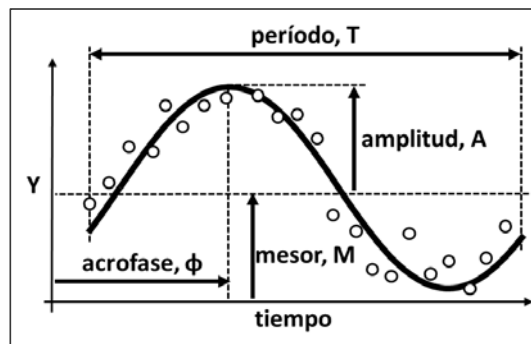


Figura 5. Parámetros que caracterizan los ritmos biológicos ajustados a una sinusoidal

(Adaptado de Cambras & Díez-Noguera, 2015)

La **actimetría** es un método simple y no invasivo de uso relativamente reciente que permite evaluar indirectamente el ritmo de actividad motora a través del sueño-vigilia. Consiste en la obtención de un registro prolongado de datos mediante el empleo de un dispositivo denominado acelerómetro, que registra los cambios en la aceleración de manera que indique la actividad del individuo. La representación gráfica del patrón circadiano de

actividad, se caracteriza por presentar valores bajos durante la noche (sueño) y valores elevados durante el día (vigilia). En la **Figura 6** se puede observar un ejemplo del ritmo de actividad en pacientes pediátricos sanos obtenidos a partir de registros tomados cada minuto durante 7 días consecutivos en una muestra de estudio.

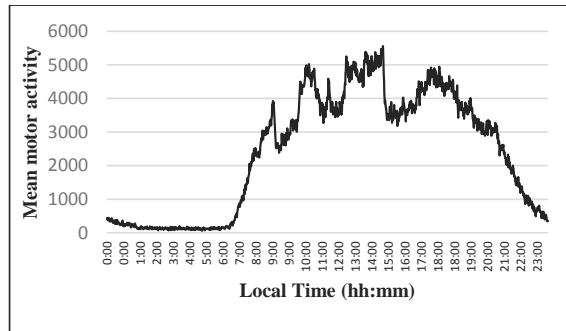


Figura 6. Ritmo circadiano de la actividad motora en una muestra de niños y adolescentes.

Intensidad de la luz. Muchas veces mediante el uso de los mismos dispositivos para la determinación de actividad se puede determinar también la intensidad de la luz. En población pediátrica esta medición contribuye a una monitorización real de los ciclos sueño vigilia, donde los valores más bajos de luz se presentan en la noche. Estas variaciones incluso podrían proporcionar importante información sobre el tiempo que el niño/a pasa en el exterior o si existe variación estacionaria entre los individuos de la población de estudio. En la **Figura 7** se puede apreciar un ejemplo de la intensidad de luz del verano en datos tomados en una población de estudio.

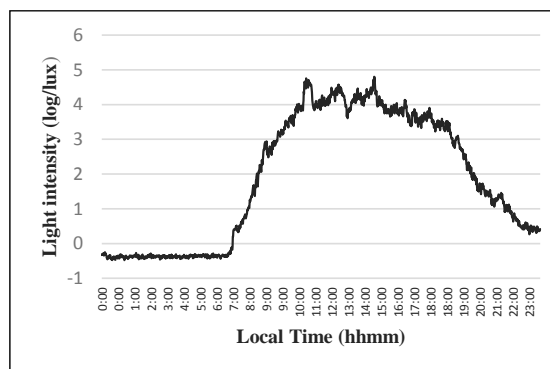


Figura 7. Ritmo circadiano de la intensidad de la luz en una muestra de niños y adolescentes.

1.2.4. Ritmos circadianos en el TDAH.

Factores externos de la vida de un individuo como el trabajo por turnos, el aumento a la exposición a la luz brillante (artificial) durante la noche, los viajes trans meridianos o el elevado consumo de snacks pueden producir una alteración de los ritmos biológicos. Todo ello aumenta la irregularidad inter diaria de los ritmos circadianos y pueden producir un fenómeno denominado *cronodisrupción*. Este fenómeno se ha asociado con un aumento de riesgo a desarrollar ciertas enfermedades o con el empeoramiento de patologías preexistentes como el envejecimiento prematuro, el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, obesidad y síndrome metabólico (Yang, & Shieh, 2009; Garaulet, 2009; Smolensky *et al.*, 2015).

En este sentido, las anomalías del ritmo circadiano están asociadas con afecciones psiquiátricas comunes, incluida la depresión mayor, la esquizofrenia, el trastorno bipolar (Lall *et al.*, 2012; Pritchett *et al.*, 2012) y el TDAH (Kooij & Bijlenga, 2014). Coogan *et al.*, (2016), en su artículo de revisión, postula que los ritmos circadianos podrían considerarse como una comorbilidad del TDAH, ya que se ha demostrado en varios estudios que la alteración circadiana está más implicada en pacientes que lo padecen que en población en general.

1.2.4.1 Genes reloj en pacientes con TDAH.

Dado que el TDAH es una condición altamente hereditaria (Hawi *et al.*, 2015), puede haber vínculos genéticos entre este trastorno y el sistema circadiano. Los estudios de asociación de genoma completo implican a polimorfismos del gen del reloj circadiano con el TDAH. Lasky-Su *et al.*, (2008) identificaron a *PER1* como asociado con el TDAH en la infancia y la adolescencia, mientras que Brookes *et al.*, (2006) informan una posible asociación del TDAH con polimorfismos en *PER2*. Así también la asociación del alelo T del rs1801260 SNP en el gen *CLOCK* con síntomas en adultos con TDAH ha sido descrito por una serie de estudios (Kissling *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2014).

Otro estudio realizado en pacientes adultos con TDAH mostró que este trastorno se asoció con la pérdida de ritmicidad en los genes *PER2* y *BMAL1* de la expresión en un oscilador periférico: la mucosa oral (Baird *et al.*, 2012), sin embargo la naturaleza de este oscilador es entendido de manera muy incompleta, tales alteraciones pueden aproximarse a

disfunción del reloj central, o pueden ser consecuencias de más eventos como patrones de alimentación alterados en el TDAH.

Mogavero *et al.*, (2016) por su parte ha asociado el comportamiento agresivo (comorbilidad frecuente del TDAH) con una expresión alterada de los genes reloj, los cuales parecen regular la transcripción de la monoaminoxidasa A y otros neurotransmisores. Sin embargo se deben realizar más estudios para comprender mejor los mecanismos moleculares que subyacen este trastorno y su relación con la salud circadiana.

1.2.4.2 Evidencias de alteraciones circadianas en pacientes con TDAH

Se han encontrado múltiples evidencias de alteraciones de los ritmos circadianos en distintas manifestaciones circadianas en pacientes con TDAH que se mencionan a continuación:

- a. **Secreción de melatonina:** La hormona melatonina es producida por la glándula pineal dando la señal de “oscuridad química”. La secreción de melatonina exhibe un claro ritmo circadiano, su secreción empieza a producirse alrededor de 2 horas antes de acostarse y sus niveles plasmáticos máximos generalmente oscilan entre las 02:00 y las 03:00 a.m. en un ambiente de oscuridad (Dibner *et al.*, 2010). Se ha observado una secreción alterada de esta hormona en pacientes adultos con TDAH (Baird *et al.*, 2012; Bijlenga *et al.*, 2013b). Bijlenga *et al.*, (2013b) observó además que los patrones de sueño-vigilia y sueño retrasado se asociaban con retrasos de la secreción de melatonina, actividad y temperatura en pacientes adultos con TDAH, respecto a pacientes sanos.
- b. **Secreción de cortisol:** El cortisol se secreta siguiendo un ritmo circadiano con un aumento justo antes de despertarse por la mañana y luego un declive durante el resto del día de 24 horas. Se cree que el cortisol está involucrado en la regulación de los ritmos circadianos en particular de la sincronización de los osciladores periféricos. De esta manera Imeraj *et al.*, (2012) observó un patrón de secreción de cortisol diario con una curva más plana (menos amplitud diaria) en pacientes pediátricos con TDAH. Por otra parte, los pacientes con Trastorno Negativista Desafiante mostraban una curva más pronunciada con niveles de cortisol relativamente más altos por la mañana

que por la tarde a diferencia del subgrupo sin TND que mostraba un perfil totalmente contrario. Además, los niveles más bajos de cortisol circulante en respuesta al estrés se han asociado con muchas de las características del TDAH infantil, que incluye un comportamiento menos adaptativo, mayores niveles de ansiedad (Hastings *et al.*, 2009) y peor rendimiento cognitivo (Hong *et al.*, 2003). Lo que podría indicar que los niveles de cortisol alterados se asocian con la gravedad de la sintomatología del TDAH.

- c. **Cronotipo:** Este parámetro clasifica al individuo según su preferencia horaria: por la mañana o por la noche. Varios estudios han mostrado una predilección del cronotipo nocturno en pacientes con TDAH (Rybak *et al.*, 2007; Baird *et al.*, 2012; Voinescu *et al.*, 2012). En concreto, Rybak *et al.*, (2007) encontraron en una muestra de pacientes adultos con TDAH una prevalencia del 40% del cronotipo nocturno, mientras que solo el 18.5% mostró preferencia por el cronotipo matutino. Estos datos contrastan con la población general de la misma edad, donde solo el 10.8% exhibe la preferencia vespertina-nocturna y el 40.2% exhibe la preferencia matutina. Estos estudios también han encontrado una importante asociación entre la falta de atención y el cronotipo nocturno en pacientes adultos con TDAH. Se ha postulado como hipótesis que estas asociaciones se podrían explicar por los efectos de la deficiencia de sueño en estos pacientes (Rybak *et al.*, 2007; Voinescu *et al.*, 2012; Caci *et al.*, 2015; MacGowan *et al.*, 2016).
- d. **Jet Lag Social (JLS)** Es la discrepancia entre el horario de sueño del fin de semana (o de días libres) y el horario de días laborables. El JLS se ha relacionado con múltiples trastornos de salud en población general como por ejemplo depresión, obesidad y síndrome metabólico (Parsons *et al.*, 2015). Se ha observado que el JLS podría ser un predictor de los síntomas de TDAH en adultos, específicamente de la impulsividad (McGowan *et al.*, 2016).
- e. **Actividad Motora:** Un reciente meta análisis ha analizado que el uso de la actimetría en pacientes con TDAH es una buena herramienta para la determinación de ritmos circadianos de actividad motora y parámetros de sueño (De Crescenzo *et al.*, 2014). Es así que se ha señalado una actividad motora significativamente más alta en cuatro

tiempos específicos del día (4:00, 6:00, 15:00 y 16:00 horas) en pacientes adultos con TDAH comparada con pacientes sanos (Tonetti *et al.*, 2017). Otro estudio que se realizó con 76 pacientes adultos con TDAH y mediciones de actimetría durante 6 días con intervalos de medida cada minuto encontró que los pacientes con TDAH mostraron patrones de actividad alterados con mayor desplazamiento hacia la noche (Fasmer *et al.*, 2015). Finalmente Faedda *et al.*, (2016) ha utilizado la actimetría en pacientes con TDAH como herramienta para diferenciar síntomas de un Trastorno Bipolar. Se podría decir que el uso de la actimetría al ser una técnica no invasiva podría proporcionar marcadores bioconductuales que contribuyan al diagnóstico de comorbilidades psiquiátricas como el TDAH.

- f. ***Determinación de los parámetros del sueño***: Las alteraciones del ciclo sueño/vigilia son muy frecuentes en la sociedad contemporánea y muy relacionadas con el estilo de vida moderno. Este ritmo biológico puede verse afectado, a su vez, por la presencia del TDAH (Chamorro *et al.*, 2017). Así, el insomnio tiene una prevalencia estimada de 27% en adultos con este trastorno (Schredl *et al.*, 2007) y las alteraciones del sueño ocurren en más del 80% de pacientes con este trastorno (Sobanski *et al.*, 2008). Además, muchos niños con TDAH tienen dificultad para dormirse, mayor resistencia a la hora de acostarse y dificultades para levantarse por la mañana. Estos pacientes también suelen presentar trastornos del sueño como: interrupción e inquietud, disminución de la eficiencia, trastornos de respiración, aumento nocturno de la actividad, insomnio y trastorno de las distintas etapas de sueño (Van der Heijden *et al.*, 2005; Kooij & Bijnenga, 2014). La interrupción de sueño tendría también una implicación social, emocional y cognitiva en la calidad de vida de niños con TDAH (Yürümez & Kılıç, 2016).

Se ha descrito también que los pacientes con este trastorno suelen tener mayor riesgo de presentar síndrome de fase tardía del sueño, es decir: insomnio del inicio del sueño si el paciente se acuesta temprano el cual desaparece cuando se acuesta tarde (Walters *et al.*, 2008; Bijnenga *et al.*, 2013a; Van Veen *et al.*, 2010). Lo que además se ha correlacionado positivamente con la gravedad de los síntomas de inatención de este trastorno (Gamble *et al.*, 2013).

Por último se ha observado que el tratamiento con melatonina en estos pacientes suele mejorar una serie de parámetros. Se incluye por un lado, el aumento en el tiempo total y la eficiencia del sueño, y por otro lado la disminución en la latencia del sueño, inquietud nocturna y dificultad para conciliar el sueño (Van der Heijden *et al.*, 2005), sin embargo se requieren más estudios para confirmar los efectos a largo plazo de estas intervenciones.

- g. **Terapia farmacológica y ritmos circadianos** Se ha postulado que la medicación usada como parte de la terapia farmacológica en el TDAH podría afectar los ritmos circadianos de estos pacientes. Dos estudios en modelos animales han estudiado estas asociaciones, por un lado Algahim *et al.*, (2009) han demostrado que el uso prolongado del metilfenidato puede afectar los comportamientos diurnos en modelos animales. Mientras que Baird *et al.*, (2013) analizaron que tanto el metilfenidato como la atomoxetina podrían provocar alteraciones en los perfiles de expresión en el NSQ de los genes reloj.

Otro estudio mostró que el metilfenidato podría alterar los ritmos de velocidad de disparo eléctrico en el SNC, incrementando la amplitud del ritmo y reduciendo la variabilidad del mismo, por lo que estas observaciones sugieren que, este medicamento podría alterar el reloj circadiano (Antle *et al.*, 2012). Además, el uso de metilfenidato ha demostrado que afecta negativamente algunos parámetros del sueño como la latencia y duración del mismo, pero podría beneficiar a otros aspectos como la eficiencia del sueño (Boonstra *et al.*, 2007).

Por lo tanto, en estudios de la ritmicidad circadiana en TDAH es importante considerar las implicaciones que la medicación pueda ocasionar.

1.2.4.3. Peso corporal, alteraciones de los ritmos circadianos y TDAH.

Los estudios referentes a los mecanismos que subyacen al sobrepeso/obesidad y la cronodisrupción/crononutrición en población en general son relativamente recientes. Sin embargo, muestran vínculos con sólidas evidencias. Bandín *et al.*, (2014) encontraron que un patrón rítmico de menor amplitud y una alta fragmentación de los ritmos circadianos (determinada por una alta variabilidad del ritmo inter diario) se relacionaba con una menor pérdida de peso corporal en adultas obesas sometidas a un programa de reducción de peso.

Se ha relacionado también el cronotipo nocturno con un mayor riesgo de obesidad. Estas asociaciones se han demostrado a nivel molecular, como los vínculos con polimorfismos de riesgo del gen *CLOCK*, anomalías endócrinas como menores concentraciones de grelina en plasma, entre otras alteraciones fisiológicas, metabólicas y bioquímicas, tanto en población adulta como en población pediátrica (Garaulet *et al.*, 2016; Malone *et al.*, 2016; Ruíz-Lozano *et al.*, 2016).

No obstante, la asociación entre la cronodisrupción y la obesidad en pacientes con TDAH presenta hasta la actualidad limitadas evidencias. Se puede mencionar un único estudio realizado por Vogel *et al.*, (2015), donde estos autores observaron que curiosamente los pacientes con obesidad, sin diagnóstico de TDAH, tenían una alta prevalencia de síntomas de este trastorno. Además se observó manifestaciones de disrupciones del ritmo circadiano medido a través de la duración corta de sueño en días libres, y un patrón de alimentación inestable (saltarse el desayuno y atracones de alimentos posteriores) que se asociaron con un mayor IMC en los sujetos de esta muestra de estudio.

Por otro lado, los estudios que brindan una explicación sobre el vínculo entre la alta prevalencia de obesidad y el TDAH, han centrado su atención en los problemas de sueño. De esta manera, se ha explicado que el dormir poco puede dar lugar a un patrón de alimentación inestable, que a su vez aumenta el IMC (Vogel *et al.*, 2015). El sueño corto y la interrupción prolongada del mismo juegan un papel importante en el apetito, las hormonas de la saciedad, los procesos metabólicos (Spiegel *et al.*, 2004; Yoo *et al.*, 2017) y las elecciones alimentarias (Blunden *et al.*, 2011; Beebe *et al.* 2013; Hogenkamp *et al.*, 2013).

Una revisión reciente concluye que la desalineación de los ritmos circadianos y el descanso insuficiente son factores de riesgo modificables para el desarrollo del sobrepeso y la obesidad (Broussard & Van Cauter, 2016), por tanto, los estudios que analicen factores circadianos desde la perspectiva de la cronobiología, es decir haciendo uso del conocimiento de la fisiología, las matemáticas y los propios cálculos cronobiológicos, podrían explicar más amplia y detalladamente los mecanismos que contribuyan al entendimiento de la obesidad en el TDAH.

1.2.4.4 Relación dieta-sueño en pacientes con TDAH.

El binomio sueño-dieta son factores altamente interrelacionados en la sintomatología del TDAH además, y como se ha explicado anteriormente, los problemas del sueño podrían conducir a problemas nutricionales como el sobrepeso y la obesidad en estos pacientes ya que la falta de sueño puede afectar el equilibrio energético (Spiegen *et al.*, 2004; Bebee *et al.*, 2013; Hogenkamp *et al.*, 2013), sin embargo, estudios recientes han observado una relación en el sentido contrario, es decir que también la dieta (como factor etiológico) podría conducir a problemas del sueño.

En este sentido, se ha observado que una ingesta de carbohidratos, grasas y azúcares puede provocar más problemas de sueño en niños con TDAH (Blunden *et al.*, 2011), sin embargo, los estudios realizados en el campo de los trastornos del sueño y los nutrientes, (sobre todo aislados) en pacientes con este trastorno son muy escasos. Algunos estudios apoyaron que los fragmentos de proteínas o aminoácidos, como el triptófano, cuando fueron administrados en dosis farmacológicas, pueden tener influencia en el desarrollo del sueño, aunque la evidencia clínica aún no presenta evidencias sólidas (Grandner *et al.*, 2010; Grandner *et al.*, 2013). Por otro lado, el consumo de grasa ha presentado resultados contradictorios, ya que ciertos autores aseguran que un mayor consumo de lípidos se relaciona con una mayor duración del sueño, mientras que otros autores encontraron una relación contraria (Peuhkuri *et al.*, 2012a). En un gran estudio, con 4.552 individuos, se encontró que la dificultad para quedarse dormido se asoció con una mayor ingesta de ácido hexadecanoico (una grasa saturada) y una menor ingesta de ácido dodecanoico (un ácido graso saturado; Grandner *et al.*, 2013). Sin embargo, los mecanismos fisiológicos de esas asociaciones todavía son desconocidos. Con respecto a los ácidos grasos poliinsaturados de cadena muy larga, se conoce que juegan un papel importante en la glándula pineal y en la producción de melatonina (Catalá, 2010), a pesar de esta clara conexión biológica con el sueño, no se observó una mejora en parámetros subjetivos u objetivos de sueño o secreción de melatonina en un estudio realizado en más de 100 adultos con insomnio crónico después de la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados (Peuhkuri *et al.*, 2012a)

Con respecto al consumo de micronutrientes, una ingesta disminuida de **vitaminas del grupo B**, puede interrumpir el sueño ya que éstos presentan una influencia en la secreción

de melatonina (Peuhkuri *et al.*, 2012b; Partinen & Westermarck, 2014), la **vitamina B6** por ejemplo promueve la ansiedad psicológica y las consiguientes alteraciones del sueño como la somnolencia diurna excesiva (Huang *et al.*, 2013), mientras que la **vitamina B12** contribuye a la secreción de melatonina, es así como el tratamiento con diferentes dosis de vitamina B12 ha mostrado un beneficio potencial sobre el ritmo de sueño-vigilia y en el síndrome de retraso de fase del sueño medidos por actigrafía (Peuhkuri *et al.*, 2012a)

Por otra parte, la ingesta de **ácido fólico** fue inversamente asociada con la alteración del sueño (Beydoun *et al.*, 2014) y se encontró una menor ingesta de carbohidratos, ácido fólico y vitamina B12 en personas con insomnio comparados con los que duermen normalmente (Zadeh & Begum, 2011).

La ingesta reducida de **vitamina D** también podría afectar los estados de ánimo y los niveles de serotonina, lo que podría repercutir en mayores problemas de sueño (Partinen & Westermarck, 2014), así también, varios núcleos en el hipotálamo y el tronco cerebral que están involucrados en el sueño tienen altos niveles de receptores de vitamina D (Gominak & Stumpf, 2012). Deficiencias de esta vitamina se han asociado con el tiempo de sueño y siestas subjetivas aumentadas en mujeres posmenopáusicas (Grandner *et al.*, 2010) y con mayor dificultad para mantener el sueño (Grandner *et al.*, 2013). En otro estudio, bajos niveles en suero total de 25-dihidroxitamina D se asociaron con corta duración y menor eficiencia del sueño (Massa *et al.*, 2015).

Por otro lado y pese a que el **hierro** ha sido uno de los micronutrientes más estudiados en la fisiopatología del TDAH, solo unos pocos estudios han explorado la asociación entre este mineral y las alteraciones del sueño en pacientes con este trastorno. Se ha encontrado por ejemplo que niveles bajos de hierro/ferritina se asocian con síndrome de piernas inquietas y trastornos de transición de sueño-vigilia en estos pacientes (Oner *et al.*, 2007; Konofal *et al.*, 2007). Adicionalmente, Cortese *et al.*, (2009) publicó un estudio en el que se evaluó la actividad motora durante el sueño en niños con TDAH, en el que se concluyó que los niveles de ferritina por debajo de 45 mg/l podrían indicar un riesgo de alteración de los patrones de sueño normales (movimientos anormales y pequeños despertares) en niños con TDAH, lo que también podría causar estrés tanto para los padres como para los niños afectados, que a su vez podría agravar los síntomas característicos del TDAH.

Se ha sugerido una relación entre los niveles de *magnesio* y el sueño (Peuhkuri *et al.*, 2012a). Es así que niveles óptimos periféricos y centrales de magnesio son necesarios para la consolidación del sueño, especialmente después de la privación del mismo (Chollet *et al.*, 2001). Además, se ha observado que la administración de melatonina, magnesio y zinc parecen mejorar la calidad del sueño y la calidad de vida en pacientes con insomnio primario (Rondanelli *et al.*, 2011).

Finalmente el *zinc* ha mostrado correlaciones clínicas significativas relacionadas con el estado de ánimo, la cognición, la percepción del dolor y el sueño (Song *et al.*, 2012) debido a su acción como un antagonista del receptor glutamato/N-metil-D-aspartato (Rondanelli *et al.*, 2011) que también actúa como un cofactor importante para el metabolismo de los neurotransmisores, prostaglandinas y melatonina, e indirectamente en el metabolismo de la dopamina (Partinen & Westermarck, 2014).

Con respecto al TDAH, en un estudio con 810 niños de 5 a 12 años de edad después de 12 semanas de ingesta de una combinación de ácidos grasos omega-3 y omega-6, magnesio y zinc, se produjo una reducción considerable en los síntomas de déficit de atención e hiperactividad/impulsividad y problemas relacionados con el sueño (problemas para conciliar el sueño, dormir durante la noche y baja calidad del sueño) reduciéndose significativamente en más de 40% en estos pacientes (Huss *et al.*, 2010).

1.3. La serotonina y sus implicaciones en el TDAH.

1.3.1 Serotonina y polimorfismo del transportador de la serotonina.

La **serotonina** o 5-hidroxitriptamina (5-HT; **Figura 8**) es un neurotransmisor clave del sistema nervioso central. Se produce en ciertas regiones cerebrales y en algunas partes del cuerpo mediante un proceso de conversión bioquímica a partir del L-Triptófano y la enzima triptófano-hidroxilasa (TPH). Se sabe que la serotonina participa en la regulación de una amplia gama de funciones físicas y rasgos psicológicos que incluyen: el sueño, el apetito, la actividad sexual, la regulación del comportamiento, el estado de ánimo, la atención y el control motor (Berger *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2006; Kiive & Harro, 2013).

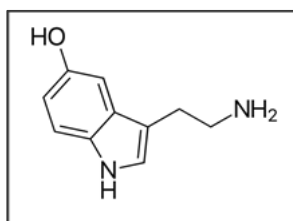


Figura 8: Estructura química de la 5-hidroxitriptamina (5-HT)

La serotonina se almacena en las vesículas sinápticas, las cuales al recibir una estimulación neuronal, liberan 5-HT en la hendidura sináptica. Una vez ahí, la serotonina puede unirse a los receptores de las neuronas tanto post-sinápticas como pre-sinápticas y desencadenar los efectos de la neurotransmisión serotoninérgica (**Figura 9**). Además, cuando existe un exceso de 5-HT en el espacio sináptico, la serotonina vuelve a la neurona pre-sináptica, donde puede volverse a almacenar en las vesículas y/o degradarse con la ayuda de la monoamina oxidasa (MAO) en un metabolito inactivo, el ácido 5-hidroxiindolacético. (Berger *et al.*, 2009) (**Figura 9**).

Desde hace varias décadas, existe un interés especial en el **transportador de la serotonina** (5-HTT), ya que esta molécula participa en dos funciones importantes dentro de la actividad serotoninérgica (Lesch & Mössner, 1998):

1. Modula la recaptación de serotonina en las terminaciones nerviosas serotoninérgicas y

2. Determina la magnitud de la respuesta postsináptica a la serotonina y la cantidad de señalización de serotonina.

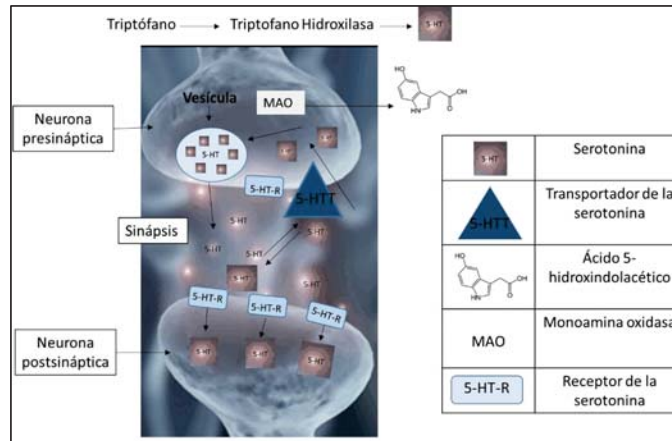


Figura 9. Esquema de la neurotransmisión serotoninérgica. (Adaptado de Ehara *et al.*, (2011).

El gen que codifica al transportador de la serotonina es el *SLC6A4* (Figura 10) y está localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q11.1-q12) (Gelernter *et al*, 1995). Este gen consta de 14 exones que se extienden a lo largo de 31 kb y 12 intrones dispersos a través de esos segmentos de codificación.

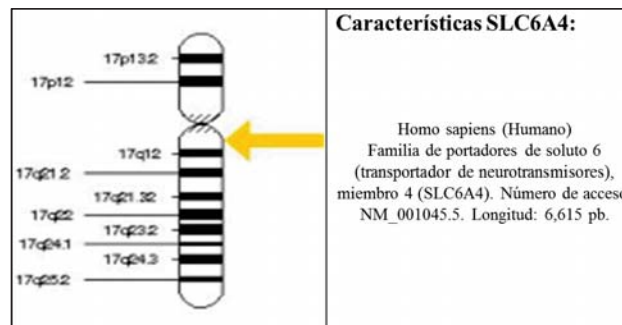


Figura 10. Gen SLC6A4 (Adaptado de U.S. National library of Medicine. Genetics Home Reference. Descargado en <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SLC6A4>)

Se ha demostrado que un polimorfismo de repetición en el promotor del gen *SLC6A4* afecta la tasa de captación de serotonina, por lo que puede jugar un papel importante en las funciones de este neurotransmisor (Lesch & Mössner, 1998). Este polimorfismo funcional se

encuentra situado en la región promotora del gen, y se le denomina *5-HTTLPR* (*serotonin transporter linked polymorphic región*). Se caracteriza por una inserción/delección de un fragmento de 44 pares de bases (pb) dando lugar a dos alelos comunes: una variante corta (*S*) con 14 copias y una variante larga (*L*) con 16 copias de 20-23 pb de repetición de secuencia imperfecta. Una sustitución de A→G (ver letras del recuadro) está localizada en el nucleótido 6 dentro de la primera franja de 22bp que caracteriza al alelo *L*, localizado en 1,629 nt 5' del exón 1 de HTT (**Figura 11**).

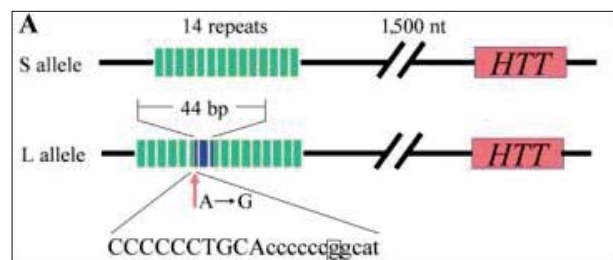


Figura 11. Esquema de los alelos del 5-HTTLPR. Adaptad de Hu et al., 2006.

Se ha postulado como variante de riesgo a la variante corta (*S*), ya que ésta se asocia con una menor eficacia transcripcional basal del 5-HTTLPR dando como resultado una baja captación de 5-HT respecto a la variante larga (*L*) que posee una eficacia transcripcional tres veces mayor (Berger *et al.*, 2009). Se sabe además que, entre los individuos de etnia blanca, la frecuencia del alelo L es ~0.60, y la frecuencia del alelo S es ~0.40. No obstante, se suele producir una variación inter poblacional sustancial (Hu *et al.*, 2006).

Se utilizan distintas clasificaciones en función de que se haya utilizado o no la acción de una enzima de restricción, la MspI que permite la diferenciación de más alelos debido a la presencia de un polimorfismo de tipo SNP (single nucleotide polymorphism) en la misma región del promotor. Así, se establecen dos tipos de clasificación:

- a. Bi-alelica clásica (alelos *S* y *L*) la cual suele usarse con una discriminación de acuerdo al tamaño del alelo: LL (556-pb), LS (556 pb) y SS (513pb);
- b. Tri alelica (alelos *S*, *L_G* y *L_A*) que resultan posterior al corte de la secuencia de CCGG mediante una enzima (MspI). Así, se obtienen los siguientes alelos: SS, SL_G, SL_A, L_GL_G, L_GL_A y L_AL_A, los cuáles se diferencian en función de su actividad

transcripcional en baja actividad (SS, L_GL_G), mediana actividad (SL_G, L_AL_G) y alta actividad (SL_A, L_AL_A); (**Figura 12**) (Enoch *et al.*, 2012). El alelo *S* parece tener un modo de acción dominante, por lo que muchos estudios suelen agrupar a los genotipos SS y SL (Heils *et al.*, 1996) finalmente se puede usar la agrupación de SS, SL_G, SL_A, L_GL_G, L_GL_A como alelos de baja a media actividad y L_AL_A como alelo de alta actividad (Hu *et al.*, 2006).

Adicionalmente, se han identificado además variantes dentro del polimorfismo de 5-HTTLPR, como SNP *A-G*, sin embargo no se ha encontrado una funcionalidad específica en estos SNP's (Goldman *et al.*, 2011).

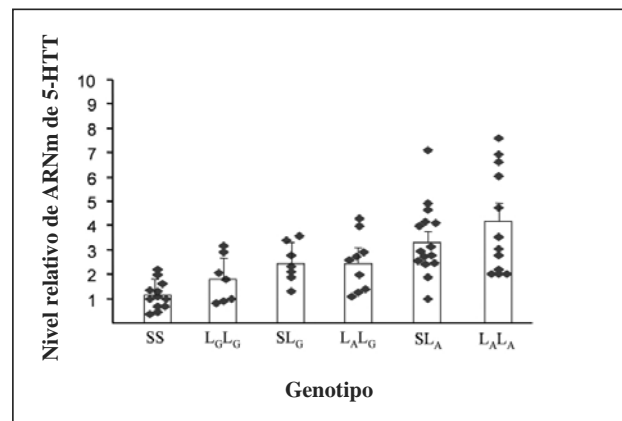


Figura 12. Genotipos del 5-HTTLPR y actividad transcripcional. Adaptado de Hu *et al.*, 2006.

1.3.2. Polimorfismo del 5-HTTLPR e implicaciones en el TDAH.

La disminución transcripcional de actividad del alelo *S* parece estar involucrada en la patogénesis de múltiples trastornos psiquiátricos (Kenna *et al.*, 2012), incluyendo ansiedad, depresión (Goldman *et al.*, 2011), esquizofrenia, autismo (Gadow *et al.*, 2013), el trastorno obsesivo compulsivo (Hu *et al.*, 2006) trastorno bipolar (Kenna *et al.*, 2012) y una amplia gama de rasgos psicológicos, conductuales y funciones físicas, incluyendo el estado de ánimo y el sueño.

Estudios recientes han sugerido que los alelos *S* y *L_G* del polimorfismo de 5-HTTLPR pueden jugar un importante rol en los componentes de impulsividad (Eun *et al.*, 2016) hiperactividad e inatención (Baptista *et al.*, 2017) en pacientes con TDAH.

Como se puede apreciar en la Tabla 2, los resultados de diversas investigaciones apuntan a que los individuos portadores del alelo de riesgo (S) tienen una mayor susceptibilidad de problemas de comportamiento y comorbilidades que los portadores del alelo L. Se incluyen además hallazgos entre el uso del metilfenidato y el polimorfismo de 5-HTTLPR en estos pacientes.

Tabla 2. Principales hallazgos del polimorfismo de 5-HTTLPR en pacientes con TDAH.

Autor/año	Población	Diseño del estudio (n)	Rasgos de comportamiento
Grevet <i>et al.</i> 2007	Adulta	Casos y controles n=548	Mayor falta de atención y dependencia de drogas, en portadores del alelo S.
Van der Meer <i>et al.</i>, 2015	Adolescentes y jóvenes adultos	Estudio de cohorte prospectivo.	Menor volumen de materia gris en las regiones cerebrales involucradas en el procesamiento cognitivo social y control cognitivo en los portadores del alelo S.
Park <i>et al.</i>, 2015	Pediátrica	Transversal no experimental n=114	Mayores problemas de comportamientos tipo “tics” y hábitos de morderse las uñas en portadores del alelo S/L+L/L. No se encontró asociación entre el polimorfismo de 5-HTTLPR y el uso del metilfenidato
Eun <i>et al.</i>, 2016	Pediátrica	Casos y controles n=1674	Mayores niveles de impulsividad en pacientes con TDAH y trastorno bipolar portadores de alelo S.
Baptista <i>et al.</i>, 2017	Pediátrica	Transversal no experimental n=127	Mayores índices de hiperactividad e inatención en portadores del alelo S sometidos a ambientes estresantes
Li & Lee 2014	Pediátrica	Transversal no experimental n=218	Menor afectividad negativa y menores habilidades sociales en portadores del alelo L

Kiive & Harro, 2013	Pediátrica	Longitudinal n=593	Aumento de la probabilidad de un nivel educativo inferior en la edad adulta de los portadores del alelo <i>L/L</i>
--------------------------------	------------	-----------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Finalmente, un reciente meta análisis (Lee & Song 2015) concluye que desde el punto de vista epidemiológico no se puede respaldar un papel importante entre los alelos *L/S* y la susceptibilidad al TDAH. Sin embargo se comenta también que dentro de este trastorno se manejan distintos subtipos clínicos y sintomatologías diversas que muchas veces no se consideran sobretodo en estudios epidemiológicos.

En la línea de estos resultados, existe un consenso de que la asociación genética del TDAH podría entenderse mejor como el resultado de la influencia del gen en otros síntomas relacionados y que además la etnicidad poblacional y el tamaño de la muestra juega un importante rol dentro de estas investigaciones.

Por todo lo expuesto, no es sorprendente que el estudio de la serotonina sea un foco importante de investigación en el TDAH, que requiera estudios más consistentes considerando, que este complejo trastorno involucra múltiples genes y factores medioambientales por lo que no se puede concluir que un único gen puede ser responsable de este trastorno. (Lee & Song, 2015). No obstante la determinación de efectos fenotípicos específicos podrían contribuir a un mejor entendimiento tanto de las características como de la sintomatología del TDAH que conduzcan a mejores recomendaciones futuras.

1.3.3. Implicaciones nutricionales de la serotonina en el TDAH.

Como **nociones previas** se puede mencionar que el apetito está regulado por los circuitos de alimentación del hipotálamo, donde las neuronas de proopiomelanocortina anoréxigena (POMC) liberan la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH) y el ligando endógeno del receptor de melanocortina 4 (MC4R) que reduce el apetito y la ingesta de alimentos. Mientras que las neuronas del Neuropeptido Y (NPY) aumentan el apetito y la ingesta de alimentos suprimiendo las neuronas POMC al liberar GABA (ácido gamma amino butírico).

En base a lo explicado, los estudios de los efectos de la serotonina en los circuitos de alimentación del hipotálamo revelaron que la serotonina se activa recíprocamente con las neuronas POMC mientras inhibe las neuronas NPY (Namkung *et al.*, 2015).

En este sentido, se ha analizado la relación entre la homeostasis energética y el sistema serotoninérgico, basándose en la hipótesis de que niveles adecuados de serotonina mantienen el apetito controlado ya que existe una sensación general de saciedad y bienestar (Miranda *et al.*, 2017; Leibowitz & Alexander, 1998).

Una función reducida de 5-HT se manifiesta en síntomas como: angustia, ansiedad, y depresión que podría contribuir a una mayor ingesta de alimentos, o a una peor elección de los mismos (Wurtman & Wurtman, 1995; Herbeth *et al.*, 2005; Donovan *et al.*, 2013; Borkowska *et al.*, 2015; Bonnet *et al.*, 2017). Por tanto se ha observado un mayor riesgo de obesidad en portadores del alelo S, tanto en población pediátrica (Fuemmeler *et al.*, 2008; Sookoian *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2017) como en población adulta (Markus & Capello, 2007; Lan *et al.*, 2009; Drabe *et al.*, 2017). Finalmente un estudio encontró que, la inactividad física acentúa la influencia del polimorfismo de la variante S en el riesgo de obesidad (Dias *et al.*, 2015)

Abordando nuestro tema de interés, varios estudios incluidos un meta análisis han mostrado que la **obesidad es más prevalente en individuos con TDAH** comparados con la población general (Cortese & Castellanos, 2014; Weissenberger *et al.*, 2017), sin embargo las investigaciones actuales que apuntan hacia una asociación entre los mecanismos del polimorfismo del transportador de la serotonina con los síntomas del comportamiento y las implicaciones que esto tiene en la dieta/sobrepeso de niños con TDAH, hasta la fecha, no se han descrito.

Se debe mencionar también que, identificar los genes de susceptibilidad en los primeros años de vida, podría proporcionar las bases para las intervenciones futuras que evite que la población infantil con TDAH se convierta en población adulta obesa.



2. Hipótesis y Objetivos

Aspectos (troubleshooting) Errores y Mitigaciones
Tratamiento de Trastorno de Atención e Hiperactividad

2. Hipótesis y objetivos.

2.1 Hipótesis.

El Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (TDAH) es un trastorno complejo que afecta la calidad de vida de quien lo presenta, además de suponer una alta carga de morbilidad y un alto coste para el sistema de salud. Nuestro trabajo enfoca el estudio de este trastorno, y especialmente, de los problemas de comportamiento y comorbilidades psicopatológicas y fisiológicas, que están asociados a esta patología desde perspectivas que hasta la actualidad han sido escasamente abordadas y que justifican nuestras hipótesis:

1. Los niños y adolescentes con TDAH presentan alterados sus ritmos circadianos en comparación con niños y adolescentes sanos. Esta cronodisrupción podría explicar la variabilidad sintomatológica en estos pacientes y las alteraciones en el peso corporal hacia el sobrepeso y la obesidad.
2. Los pacientes con TDAH podrían ser más sensibles a ciertas condiciones medio-ambientales, específicamente la intensidad de la luz. Esta sensibilidad podría manifestarse en valores más altos de actividad motora respecto a sujetos sanos.
3. La alimentación de los niños y adolescentes con TDAH influye en la calidad del sueño de estos pacientes.
4. Los problemas de comportamiento y las comorbilidades psicopatológicas podrían presentar un componente genético, asociado al polimorfismo del receptor del transportador de la serotonina (5-HTTLPR).
5. La dieta, y en concreto, su impacto sobre el estado del hierro en niños y adolescentes con TDAH desempeña un papel importante en los problemas de comportamiento y cognitivos de estos pacientes.

2.2 Objetivos.

Para la consecución de las hipótesis planteadas, se han propuesto cuatro objetivos específicos:

OBJETIVO 1: Evaluar los patrones de ritmos circadianos de actividad motora y la posible relación con la sintomatología y parámetros del peso corporal en niños y adolescentes con TDAH versus pacientes control. Los resultados obtenidos de este objetivo forman parte del siguiente manuscrito:

- *Circadian pattern of motor activity in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder.* Carpio-Arias TV, Alda JA, Ríos-Hernández A, Díez-Noguera A, Cambras T, Izquierdo-Pulido M.

OBJETIVO 2: Evaluar el efecto de la variabilidad estacional de la intensidad de la luz en variables circadianas de la actividad motora de sujetos con TDAH respecto a sujetos sanos. Los resultados de este objetivo forman parte del siguiente manuscrito (short communication):

- *Seasonal light variability associated with circadian alterations of motor activity in children and adolescents with ADHD versus control patients.* Carpio-Arias TV, Alda JA, Ríos-Hernández A, Díez-Noguera A, Cambras T, Izquierdo-Pulido M.
- **OBJETIVO 3:** Estudiar la influencia de la alimentación en la calidad del sueño de niños y adolescentes con TDAH comparados con pacientes sanos. Los resultados obtenidos de este objetivo forman parte del siguiente manuscrito:
 - *Sleep quality and sleep disturbances associate with diet in children and adolescents with ADHD: a control-case study.* Ríos-Hernández A, Carpio-Arias T, Farran-Codina A, Ferreira-García E, Sans O, Alda, JA, Izquierdo-Pulido M.

OBJETIVO 4: Determinar si el rol genético del polimorfismo del receptor del transportador de la serotonina (5-HTTLPR) puede jugar un papel entre los síntomas de comportamiento internalizantes y externalizantes de los pacientes con TDAH. Los resultados obtenidos de este objetivo forman parte del siguiente manuscrito

- *Serotonin-transporter polymorphism in pediatric population with ADHD. Implications in internalizing & externalizing symptoms and body weight: A preliminary study.* Carpio-Arias TV, Huguet A, Ríos-Hernández A, Farran-Codina A, Ferreira-García E, Alda JA, Izquierdo-Pulido M.

OBJETIVO 5: Analizar la relación entre niveles bajos de hierro y ferritina con síntomas de comportamiento y habilidades cognitivas en pacientes con TDAH. Los resultados obtenidos de este objetivo forman parte del siguiente manuscrito:

- *Iron and ferritin serum levels associates with behavioral symptoms and cognitive abilities in children and adolescents with ADHD.* Ríos-Hernández A, Carpio-Arias T, Farran-Codina A, Ferreira-García E, Alda JA, Izquierdo-Pulido M.



Aspectos Epidemiológicos, Etiológicos y Mecanismos en pacientes con Trastorno de Atención e Hiperactividad

3. Sujetos y Métodos



3. Sujetos y Métodos.

3.1 Sujetos.

El presente estudio, de diseño de casos y controles, fue realizado en el Hospital *Sant Joan de Déu* en Barcelona (España). Se reclutó a 130 pacientes, niños y adolescentes en edades comprendidas de los 6 a los 16 años de edad. De los cuales: 10 sujetos fueron excluidos (5 por no cumplir los criterios de selección, 3 por salir del estudio y 2 por mudarse fuera del lugar de recogida de datos), se seleccionó por tanto a 60 pacientes recientemente diagnosticados con TDAH (casos, sin tratamiento previo) y 60 controles sanos pareados por edad y sexo.

Los casos fueron reclutados en la Unidad de TDAH del Servicio de Psiquiatría y Psicología infantojuvenil del Hospital *Sant Joan de Déu*. El diagnóstico de TDAH se realizó de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales en su cuarta edición revisada (DSM-IV-TR; American Psychiatric Association, 2000).

Se usó como herramienta diagnóstica la escala de evaluación del Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad en español (ADHD Rating-Scale-IV.es; DuPaul *et al.*, 1998). La entrevista semiestructurada K-SADS-PL para los trastornos afectivos y la esquizofrenia también se usó para confirmar el diagnóstico de TDAH y otras comorbilidades (Kaufman *et al.*, 1997; Ulloa *et al.*, 2006) mientras que la escala Wechsler de Inteligencia para niños (WISC-IV; Wechsler, 2005) se aplicó para evaluar el cociente intelectual. El diagnóstico de TDAH fue realizado por un equipo de psiquiatras experimentados.

Criterios de exclusión en este estudio fueron utilizados los siguientes criterios de exclusión: coeficiente intelectual < 70, trastorno del espectro autista, psicosis, trastornos del desarrollo y cualquier paciente que hubiera tomado tratamiento farmacológico para el TDAH (incluidos medicamentos, micronutrientes u otros suplementos dietéticos). Los sujetos en los que la gravedad de los síntomas fue significativa, así como aquellos sujetos que requirieron tratamiento sintomático urgente (ansiolítico, antipsicótico, etc.) antes de completar el diagnóstico o el proceso de evaluación también fueron excluidos. Los controles fueron reclutados en un 40% a partir de los compañeros de clase de los pacientes con TDAH, así

como también de pacientes que asisten a otros servicios hospitalarios (60%), es decir: servicio ambulatorio, de cirugía menor, etc. Los controles fueron evaluados para confirmar la ausencia de síntomas de TDAH y se usó en ellos los mismos criterios de exclusión que en los casos.

Procedimiento: El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital *Sant Joan de Dèu* (Barcelona, España). Se obtuvo por un lado el consentimiento por escrito de los padres o tutores de los niños y adolescentes y por otro lado el consentimiento verbal de todos los participantes del estudio. La investigación se llevó a cabo de conformidad con los parámetros establecidos en la Declaración de Helsinki.

3.2 Métodos y materiales.

3.2.1 Procedimientos diagnósticos del TDAH.

Cuestionario infantil para los trastornos afectivos y la esquizofrenia (K-SADS-PL; Kaufman *et al.*, 1997) es una entrevista de diagnóstico semiestructurada diseñada para evaluar episodios de psicopatología presentes y pasados en niños y adolescentes según los criterios del DSM-IV. El K-SADS-PL, se considera la herramienta "*gold standar*" en el diagnóstico de la patología mental en niños y adolescentes. Se entrevista al padre y al niño para finalmente lograr clasificaciones resumidas. Los principales diagnósticos evaluados con K-SADS-PL incluyen trastornos afectivos, trastornos psicóticos, trastornos del comportamiento y abuso de sustancias. La mayoría de los ítems se califican usando una escala de 0-3 puntos. Las puntuaciones = 0 indican que no hay información disponible; puntuaciones = 1 sugieren que el síntoma no está presente; puntuaciones = 2 indican niveles de sintomatología por debajo del umbral y puntuaciones = 3 representan los criterios del diagnóstico del trastorno. Los elementos restantes se califican en una escala de 0 - 2 puntos, donde 0 no implica información; 1 implica que el síntoma no está presente; y 2 implica que el síntoma está presente.

Escala de evaluación del Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad en español (ADHD Rating Scale IV; DuPaul *et al.*, 1998) Consiste en una escala de 18 ítems, basada en el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM), divididos en

2 escalas: hiperactividad / impulsividad (9 ítems) y falta de atención (9 ítems). Las respuestas a cada pregunta varían desde nunca o rara vez = 0 puntos, a veces = 1 punto, a menudo = 2 puntos, muy a menudo = 3 puntos. La puntuación total se calcula como la suma de cada uno de los 18 ítems. La subescala de inatención es la suma de los ítems impares y la subescala de hiperactividad/impulsividad es la suma de las puntuaciones en los elementos pares. Para el grupo de casos, fue un requisito obtener 1,5 desviaciones estándar superiores a la media poblacional según la edad y subtipo de TDAH.

Escala de calificación de padres de Conners (CPRS; Conners *et al.*, 1998) evalúa el comportamiento de los niños evaluados por sus padres. La escala incluye: falta de atención, dominios de hiperactividad, comportamiento oposicionista e índice de TDAH.

Escala de calificación de maestros de Conners (CTRS; Goyette *et al.*, 1978) califica el comportamiento de los niños en el aula según lo evalúa el docente. La escala incluye: falta de atención, hiperactividad, comportamiento oposicionista e índice de TDAH.

Lista de verificación de comportamiento infantil (CBCL; Mazefsky *et al.*, 2011) Escala de amplio espectro de 113 ítems para la evaluación de síntomas de comportamiento de problemas externalizantes e internalizantes según las calificaciones de los padres para niños de 4 a 18 años. Las puntuaciones $T \geq 65$ puntos sugieren síntomas preclínicos, las puntuaciones $T \geq 70$ sugieren síntomas clínicos y < 65 se consideran parámetros normales. La escala incluye ocho categorías diferentes: ansioso/deprimido, retraído/deprimido, quejas somáticas, problemas sociales, problemas de pensamiento, problemas de atención, comportamiento para romper reglas y comportamiento agresivo. Los elementos se puntuaron en una escala de 3 puntos de 0 = no verdadero 1 = a menudo cierto y 2 = muy verdadero.

Desregulación Emocional (DESR; Spencer *et al.*, 2011) La desregulación emocional, se evaluó mediante la suma de puntuaciones T de las escalas del CBCL de ansiedad / depresión, problemas de atención y comportamientos agresivos (AAA). Los coeficientes de fiabilidad (alfa de Cronbach) fueron de 0,82, 0,81 y 0,82, respectivamente. El CBCL-DESR se definió como positivo con un puntaje ≥ 180 pero < 210 T-score.

Escala de inteligencia de Wechsler para niños 4ª edición (WISC-IV; Wechsler, 2005) es una prueba que evalúa las capacidades intelectuales de los niños y adolescentes, entre 6 y 16 años. Consiste en 15 pruebas, 5 de ellas son opcionales, organizadas en cuatro índices, que son: a) índice de comprensión verbal; b) índice de razonamiento perceptivo, c) índice de memoria de trabajo y d) velocidad de procesamiento. Adicionalmente, genera un coeficiente intelectual total.

Todos los cuestionarios de medidas cognitivas y escala de inteligencia están validados para la población pediátrica española.

3.2.2 Evaluación de la ingesta dietética.

La estimación de la ingesta dietética se realizó a través de una entrevista clínica utilizando un cuestionario de frecuencia de alimentos (CFA; Anexo C2) validado para la estimación de nutrientes en población española (Rodríguez *et al.*, 2008).

El CFA contiene 45 ítems incluidos alimentos y bebidas divididos en 12 grupos de alimentos categorizados para su uso en el análisis de patrones dietéticos. Dichos grupos son: productos lácteos (leche, queso, yogurt, helado de leche, postres lácteos), cereales (pasta, arroz, patatas, cereales para el desayuno, galletas), panadería (muffins, donuts, croissant), vegetales (crudos y cocinados), frutas cítricas (naranja, kiwi, mandarina), otras frutas (manzana, plátano, pera y jugos naturales), carne (cerdo, pollo, cordero), pescado azul (atún, salmón, sardinas), pescado blanco (merluza, bacalao), jugos endulzados artificiales, bebidas de cola, azúcar y dulces.

Para cada producto alimenticio, se pidió a los participantes que registraran su consumo habitual para las nueve categorías de frecuencia del CFA, que van desde: nunca o menos de una vez al mes, a seis o más veces por día; además, se realizó una entrevista de recordatorio de 24 horas a cargo de personal entrenado. La ingesta total de energía, así como la composición de nutrientes fueron analizados utilizando el programa de evaluación nutricional PCN Pro v1.32 (Cantós *et al.*, 2004), sobre la base de tablas de composición de alimentos españolas (Farran *et al.*, 2004).

De acuerdo con Willett *et al.*, (1997) se hizo un ajuste de la energía total para variables independientes utilizando el modelo de nutrientes residuales (ajustado para la energía). Teniendo en cuenta que la mayoría de los nutrientes se correlacionan positivamente con la ingesta de energía y que esto podría introducir un factor de confusión. La metodología de Willett permite el cálculo del efecto de un nutriente específico más allá de cualquier efecto debido al consumo energético.

3.2.3 Determinación de mediciones antropométricas y bioquímicas.

La altura y el peso fueron medidos por personal médico entrenado mediante el uso de métodos estandarizados. Los niños y adolescentes no usaron calzado y llevaron el mínimo de ropa establecido según los parámetros indicados. El diagnóstico de estado nutricional en función de la relación del peso y la altura de los niños fue clasificado según la definición del *International Obesity Task Force (IOTF)*; Cole & Lobstein, 2012) para niñas y niños según los puntos de corte específicos de edad y sexo del Índice de Masa Corporal (IMC; kg/m²). El IMC se clasificó en 4 grupos: bajo peso (<18,5 kg / m²), peso normal (18.5-25 kg / m²), sobrepeso (25-30kg / m²) y obeso (> 30 kg / m²). El puntaje Z del IMC se obtuvo en base a las tablas de crecimiento del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (*Centers for Disease Control and Prevention*, CDC, 2009).

Para la determinación de parámetros bioquímicos, se obtuvieron muestras de sangre en ayunas mediante venopunción en el antebrazo de cada participante. Se determinaron los niveles de nutrientes en sangre y plasma en el Laboratorio de Bioquímica del Hospital *Sant Joan de Déu*- Barcelona, España.

3.2.4 Evaluación de la salud circadiana.

Los ritmos circadianos de la actividad motora, así como los parámetros de sueño fueron evaluados mediante un método objetivo: el uso de un actígrafo y subjetivamente mediante el uso de un diario de sueño y un cuestionario validado para población pediátrica: la “Escala de trastornos del sueño” de Bruni *et al.*, (1996), estos procedimientos se detallan a continuación:

3.2.4.1 Evaluación circadiana por actigrafía:

El **actígrafo ActiSleep** (ActiGraph, Pensacola, FL, EUA) permitió monitorizar la actividad a través de los cambios en la aceleración y la intensidad de la luz cada minuto en un período de 7 días con sus respectivas noches. Los sujetos del estudio llevaron continuamente el actígrafo en su muñeca no dominante durante 7 días (tanto durante el día como durante la noche) los cuales eran retirados solamente para la ducha o el baño. Posteriormente los datos se trataron mediante un análisis matemático y estadístico de las variables rítmicas, los cuales se detallan a continuación:

- a) **Análisis de la forma de onda:** Se utiliza especialmente en series uniformemente muestreadas con un número bastante elevado de ciclos completos: 10 o más. Es decir, se forma una onda con el promedio de un tiempo determinado. En nuestro caso, se determinó el perfil diario, de 24 horas para cada uno de los sujetos de estudio. La observación y el análisis de la onda promedio permiten determinar algunas de las características importantes del ritmo como la duración de la fase alfa (actividad) y rho (reposo).
- b) **Ajuste a una función sinusoidal o método del cosinor:** cuando analizamos un ritmo circadiano del que se desconoce su naturaleza la única suposición que se puede aceptar es que las fluctuaciones se repiten en una periodicidad de 24 horas pero no se puede decir nada sobre la forma de onda o perfil diario de dicha variable. Entonces se usa una función sinusoidal. El ajuste a una función cosinusoidal (método del cosinor) permite obtener la amplitud de la oscilación y la acrofase. Esta variable es interesante porque aunque no se modifique la amplitud si se puede modificar el momento del día donde la variable tiene su valor máximo.

En la **Tabla 3**; se muestran las variables circadianas calculadas, que han sido utilizadas para comparar entre los grupos experimental y control. Dichas variables se obtuvieron utilizando el paquete integrado para el análisis de series temporales "Temps" (Diez-Noguera 1999).

Tabla 3. Definiciones de las variables circadianas calculadas en la muestra de estudio.

Nombre	Definición
MESOR	Media del ritmo de la actividad motora ajustado a una función sinusoidal.
Mediana	Mediana de los datos
Amplitud	Diferencia entre el valor máximo (o mínimo) del coseno y el MESOR.
M10	10 horas de actividad máxima: promedio de las mediciones realizadas a intervalos de 1 minuto durante las 10 horas con la máxima actividad.
L5	5 horas de actividad motora mínima: promedio de las mediciones realizadas en intervalos de 1 minuto durante las 5 horas con mínima actividad
Amplitud Relativa (RA):	Diferencia entre L5 y M10 dividida por la suma de L5 y M10, como se ha descrito anteriormente (Van Someren, 1999)
Acrofase	Tiempo del valor máximo de la curva ajustada del coseno en relación con las 00:00 horas).
Acrofase, np	Acrofase no paramétrica.
Variabilidad Intradiaaria:	Cuantifica la fragmentación de los períodos de descanso y actividad; una alta variabilidad intra diaria indica transiciones múltiples entre períodos de descanso y actividad, sus valores oscilan entre valores de 0 (cuando la onda era perfectamente sinusoidal) y 2 (ruido gaussiano).
Rayleigh test	Prueba que proporciona un vector r con su origen en el centro de un círculo de radio 1. El vector r (entre 0 y 1) es proporcional al grado de homogeneidad de fase durante el período analizado y puede considerarse una medida de la estabilidad de fase del ritmo durante los días sucesivos.
PV	Porcentaje de varianza explicado por un ritmo de 24 horas, según una técnica de periodograma.

Adicionalmente, se usó también el actígrafo para medir la actividad física de los participantes al monitorizar los movimientos de la muñeca y registrando la actividad total en kilocalorías, promedio de kilocalorías por hora, pasos, tiempo sedentario, movimientos ligeros, para realizar una clasificación de la actividad física: moderada, vigorosa y muy vigorosa.

Se obtuvo información también de la **calidad y la cantidad de sueño** en base a los siguientes parámetros: latencia (cantidad de tiempo que un sujeto tarda en dormirse), eficiencia del sueño (tiempo que realmente duerme), tiempo total de sueño (diferencia entre el tiempo total en la cama y el dormido, los despertares y la duración media de los despertares), estas variables han presentado una alta correspondencia con las mediciones obtenidas por polisomnografía

3.2.4.2. Evaluación circadiana por cuestionarios.

Los padres también fueron entrenados para completar un *diario de sueño* durante dos semanas, registrando la hora en la que los niños se fueron a dormir, la hora en que despertaron, el tiempo que tarda en dormirse (la latencia del sueño), eficiencia, tiempo total en la cama, despertares, percepción del estado de ánimo cuando se despiertan, tiempo total de sueño, perturbaciones de despertares, consumo de cafeína, actividades previas al acostarse, consumo de alimentos antes de acostarse y los medicamentos que podrían afectar la calidad del sueño.

Se utilizó también la *escala de trastornos del sueño para niños de Bruni* (Bruni *et al.*, 1996; Anexo C3) que es una herramienta validada para evaluar las alteraciones del sueño de niños en edad escolar en poblaciones clínicas y no clínicas. Permite detectar los trastornos del sueño (síndrome de apnea-hipopnea, síndrome de las piernas inquietas, parasomnias, etc.) en los últimos 6 meses.

Este cuestionario fue contestado por los padres de los niños y adolescentes, quienes respondieron a 26 preguntas agrupadas en seis factores relacionados con el sueño:

- Trastorno de inicio y mantenimiento del sueño - *Disorder of Initiating and Maintaining Sleep (DIMS)*
- Trastorno de respiración del sueño - *Sleep Breathing Disorder (SBD)*
- Trastorno del despertar - *Disorder of Arousal (DA)*
- Trastorno de la transición del sueño y vigilancia- *Sleep Wake Transition Disorder (SWTD)*
- Trastorno de Somnolencia Excesiva - *Disorder of Excessive Somnolence (DOES)*,

- Hiperhidrosis del Sueño - *Sleep Hyperhidrosis (SHY)*
- Problemas totales de sueño, suma de todas las puntuaciones de las preguntas individuales - *Total Sleep Problems (TSP)*.

3.2.5 Genotipado del gen *SLC6A4*.

La instrumentación necesaria para realizar el genotipado del gen *SLC6A4* es la siguiente:

- Espectrofotometro específico para la detrmnación de concentración de ADN (DeNovix DS-11/DS-11).
- Termociclador de bloque para tubos de 200µL o 500 µL (Primus 25 advanced)
- Cubeta y fuente de alimentación para electroforesis en gel de agarosa (Midi300V/4 Power Suppl)
- Lector de señal fluorescente para gel de agorosa (Transiluminador UV TFX-20 M)
- Centrifugas y baños termostatzados.

La metodología empleada para el genotipado se detalla a continuación.

1. **Extracción de ADN.** Extracción de ADN de muestras de sangre venosa mediante el protocolo estandar de Qiagen-kit-Gentra Puregene Blood Kit. Las muestras se almacenaron a -80°C hasta su utilización.

2. **Preparación de muestras y reacción de PCR (Polymerase Chain Reaction).** A 6.8µL de agua mili-Q se adicionaron 0.6µL de cada cebador:

- a. P3d-directo(*CAAGCTTGTTGGGGATTCTCC*)
- b. P3r-reverso (*AGAGGGACTGAGCTGGACAAC*),

10µL de KOD (Hot Start Master Mix), 2µL de muestra normalizada de DNA a 20ng/µL, obteniéndose un volumen final de 20µL. Tras realizar un spin de

5 segundos a 1000 r.p.m., se agregó 10µL de aceite mineral para evitar evaporación de la muestra en la reacción de PCR.

Los fragmentos del 5-HTTLPR fueron amplificados utilizando PCR con una adaptación del protocolo de Wendland *et al.*, (2006). El programa aplicado fue el siguiente: Desnaturalización inicial a 95°C durante 2 minutos, seguida de 30 ciclos de: desnaturalización a 95°C durante 20 segundos, hibridación 64°C durante 10 segundos, elongación a 72°C durante 14 segundos, posteriormente una elongación final a 72°C durante 2 minutos y se mantuvo en frío a 4°C durante 5 minutos.

3. **Genotipado de polimorfismo del 5-HTTLPR-R trialélico.** Para ello se realizó una digestión con la enzima de restricción MspI. A cada tubo proveniente de la PCR, se adicionó 1,26 µL por muestra. Posteriormente, se incubó durante una hora a 37°C en baño maria. Al finalizar, se añadió 1.8µL de loading buffer.
4. **Preparación para el gel de agarosa.** Para una cubeta de 75ml, se utilizaron 1.5 gramos de agarosa Low D1 y 60 mL de TAE al 1% y se calentó hasta su perfecta disolución. Posteriormente, se añadieron 3µL de REALSAFE Nucleic Acid Staining Solution (20,000x) y se mezcló suavemente. La mezcla se vertió en la cubeta de electroforesis agitando y se dejó enfriar hasta la perfecta solidificación.
5. **Electroforesis.** Se colocó la cubeta del gel de agarosa en Midi300V/4 Power Supply para llevar acabo la electroforesis que debe contener TAE al 1%, se aseguró que el tampón cubra perfectamente el gel de agarosa y se cargó cada muestra (12µL) en un pocillo; en el primer y último pocillo se cargó el marcador (10 µL). Para preparar el marcador se utilizó: 5µL PCR Ladder, 5µL Agua mili-Q, 2µL Loading Buffer. Tanto el DNA como el RNA tienen carga negativa, por lo que van de negativo a positivo de esta manera en 80 – 85 minutos finaliza la progresión de los ácidos nucleicos hasta el polo positivo.

6. **Lectura de genotipos de polimorfismo de 5-HTTLPR** El gel de agarosa se visualizó en Trans iluminador UV TFX-20 M bajo iluminación ultra violeta por medio de fluorescencia. La **Figura 13** muestra un modelo donde se puedan diferenciar las distintas longitudes de bandas para identificar los polimorfismos.

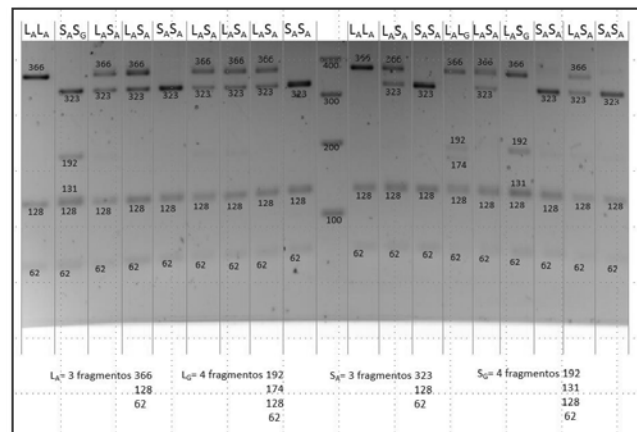


Figura 13. Modelos de longitud de bandas para identificación del polimorfismo de 5-HTTLPR (Cortesía del grupo de investigación de la Dra. Garaulet de la Universidad de Murcia).

La enzima MspI corta la secuencia de CCGG, se puede llegar a los siguientes alelos: S, L_G y L_A, y genotipos: SS, SL_G, SL_A, L_GL_G, L_GL_A y L_AL_A. Los genotipos se agruparon según su funcionalidad transcripcional en base a lo que indica Enoch *et al.*, (2012) de esta manera se obtuvo aquellos genotipos de baja y mediana actividad: SS, SL_G, SL_A, L_GL_A y L_GL_G "S + SL_A" y alta actividad: L_AL_A "LL"

3.3 Análisis estadístico

Todas las variables continuas se expresan como media \pm desviación estándar (SD) o rango de la mediana e intercuartil mientras que las variables categóricas se expresaron como número y porcentaje. Las diferencias en las variables continuas se compararon mediante la prueba T de Student (cuando se comprobó su distribución normal) y la prueba U de Mann-Whitney (cuando no se comprobó una distribución normal).

Las variables categóricas se compararon mediante la prueba χ^2 de Pearson y mediante Regresión Logística. Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) al utilizar variables con más de dos categorías y análisis de la varianza con co - variables (ANCOVA) cuando se deseaba ajustar las relaciones de las variables por parámetros confusores. Además, cuando fue necesario, se utilizó la prueba de rango múltiple post hoc de Tukey. Para probar si las acrofases eran diferentes entre los grupos, se utilizó la prueba de Watson-Williams, para estadísticas circulares. Por último se utilizó regresión multi variante para examinar posibles asociaciones entre los diferentes parámetros cuantitativos. Para todos los análisis, un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo, los análisis se llevaron a cabo con el programa STATA (Statistics Data Analysis) versión 14.1 (STATA Corp Lp, Texas, EE.UU.) o con el software estadístico SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois., EE. UU)

4. Resultados

Aspectos (troubleshooting) Errores y Mitigaciones para Trastorno de Atención e Hiperactividad



4. Resultados

4.1 Circadian pattern of motor activity in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder.

Carpio-Arias, TV^{1,2}; Alda JA^{3,4}; Ríos-Hernández A¹; Díez-Noguera, A⁵; Cambras T^{5*}; Izquierdo-Pulido, M. ^{1,2,6*}

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy. University of Barcelona, Spain; ²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentaria (INSA), University of Barcelona, Spain; ³ Children and Adolescent Mental Health Research Group. Institut de Recerca Sant Joan de Déu; ⁴Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Department. Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain; ⁵Department of Biochemistry and Physiology. Faculty of Pharmacy and Food Science. University of Barcelona, Spain. ⁶CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

* Dr. Cambras and Dra. Izquierdo-Pulido share senior authorship

Corresponding author: Dra. M Izquierdo-Pulido, Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain. Telephone number: +34 934034839. E-mail: maria_izquierdo@ub.edu

Introduction

Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) is a psychiatric condition that can affect both children and adults, with an estimated prevalence of 3.2% in children and adolescents (Polanczyk et al., 2015). It is characterized by the core psychopathologies of attention difficulties, impulsivity and hyperactivity (Coogan & McGowan, 2017). Furthermore, ADHD also presents high comorbidity with sleep disorders, both in children and adults (Yoon et al., 2012). ADHD is also associated with changes in diurnal preference towards greater eveningness (Rybak et al., 2007).

The circadian clock is responsible for the generation of rhythms of behavior and physiology on a near 24 period base, and has a key role in determining the rhythm of the sleep/wake cycle (Baird et al., 2012). Several studies have reported that ADHD is strongly associated to dysfunctions of their circadian rhythms (Kooij & Bijlenga 2014; Coogan & McGowan, 2017). These alterations include altered behavioral and endocrine levels (Baird et al., 2012; van Veen et al., 2010; Imeraj et al., 2012), desynchronization between melatonin secretion and sleep timing (Bijlenga et al., 2013), higher nocturnal motor activity (Tonetti et al., 2017), altered body temperature (Mcgowan et al., 2016) and altered circadian clock gene expression (Baird et al., 2012; McGowan et al., 2016; Mogavero et al., 2016). All of these factors have an impact on the biological and health status of patients with ADHD, which has already been shown to have an impact on the comorbidity of this disease, such as defiant opposition disorder (ODD) (Imeraj et al., 2012) or higher levels of aggression (Mogavero et al., 2016).

On the other hand, a number of studies have reported a significant association between obesity and ADHD (De Zwaan et al., 2011; Cortese et al., 2017), which seem paradoxical. It is known that biological rhythms are driven by a self-sustained internal network of molecules distributed in the brain with a master pacemaker located in the suprachiasmatic nucleus (Baron & Reid, 2014) and that must be synchronized with external environmental agents, for example: exposure to light, resting patterns or scheduled food intake (Johnston et al., 2016). When the interval order is altered, a phenomenon called chronodisruption occurs, which is an etiological factor of the several pathologies, among them metabolic syndrome and obesity (Garaulet et al., 2010).

However, and despite all described above, there are no previous studies that have explored the 24-hour activity rhythm in ADHD child and adolescent patients. Our objective has

been to study potential alterations of circadian rhythms in ADHD subjects and to establish potential relationship derived from these circadian alterations ADHD symptomatology or obesity. If circadian rhythm disruption is involved in the association between ADHD symptoms and obesity, this may provide clinical opportunities for the development of new chronobiological treatment strategies in ADHD patients, improving health in the long term.

Methods

Participants

ADHD patients group consists of sixty children and adolescents (ages 6-16 years) newly diagnosed with ADHD (naive, no pharmacological treatment) and sixty sex- and age-matched controls. Cases were recruited at the ADHD Unit of the Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology of the Hospital of Sant Joan de Déu in Barcelona (Spain) and they were diagnosed for the first time and had never evaluated for psychiatric disorders or treated with psychopharmacological medicine. The ADHD diagnosis was performed according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4th Edition (DSM-IV-TR) (American Psychiatric Association). The ADHD Rating-Scale-IV (ADHD RS-IV) for parents was used as screening for diagnosis of ADHD (DuPaul et al., 1998). The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime version (K-SADS-PL) was also used to confirm the ADHD diagnosis and other comorbidities (Ulloa et al., 2006). Exclusion criteria were: IQ < 70, autism spectrum disorder, psychosis, developmental disorders, any ADHD drug treatment or nutrient (mineral/vitamin) complement. Controls were recruited from the ADHD patients' classmates (40%) and from patients attending in other hospital services (60%) (i.e. minor surgery ambulatory, or similar ones). Controls were screened for the absence of ADHD symptoms and the same exclusion criteria were applied also to controls. The study was approved by the Ethical Committee of the Hospital of Sant Joan de Déu (Barcelona, Spain). Written informed consent was obtained from participant's parents, and verbal assent from the participants. Demographic and clinical data were obtained from both subjects and parents.

Anthropometric measures

Participants underwent a physical examination, including height and weight. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared and BMI was

standardized to BMI Z-score using age and gender and they were compared with the child growth parameters of the World Health Organization (WHO).

Actigraph

We used the actigraph (ActiSleep, ActiGraph, Pensacola, FL, USA) programmed to collect motor activity data each minute for 7 consecutive days and nights (Van Someren, 2007), children and adolescents were required to wear the actigraph on the non-dominant wrist and actigraph was only removed while bathing.

Actigraph- motor activity daily rhythm

Motor activity was analyzed using the integrated package “Temps” for time-series analysis (Díez Noguera, 1999). Definitions of the circadian parameters are shown in **Table 1**.

Statistical analyses

Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) whereas categorical variables were expressed as percentage. An analysis of the variance was made by linear models using age and gender as a covariates to compare anthropometrics and circadian rhythm variables between cases and controls. When necessary, Tukey’s post hoc multiple rang test was used. Multiple regression was used in order to evaluate the effects of age and gender, and circadian rhythm manifestations. To test if acrophases were different among the groups the Watson-Williams test, for circular statistics, was used. Analyses were performed using the SPSS 24.0 statistical software package (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) and a $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Table 2 compares the general characteristics among cases and controls. As expected, cases showed higher values of ADHD symptomatology (inattention and hyperactivity) than cases. The K-SADS-PL confirmed the diagnosis of all the cases. With regard to comorbid diagnoses, 33.3% of patients with ADHD met cutoff criteria for oppositional defiant disorder (ODD), 23.3% for anxiety, 3.3% for conduct disorder, and 1.7% for depression.

Higher values of motor activity circadian variables are related to ADHD subtype.

Analysis of motor activity circadian variables is shown in **Table 3**. ADHD-Combined patients reported significant higher values of motor activity, expressed as MESOR and median than ADHD-Inattentive and controls. Interestingly, those ADHD-C patients showed a higher motor activity compared to both ADHD-I and control subjects in the last segment of the day, from 18:00 to 22:00 hours. The amount of activity in the least active 5h, L5, was higher in the ADHD-C group also but not statistically significant while the amount of activity in the most active 10h period, M10, was statistically significant higher in the ADHD-C group compared to both ADHD-I and control subjects.

ADHD motor activity seems to show a shift to eveningness

Acrophase was also significantly different between ADHD groups (both Inattentive and Combined) and control showing a delayed of approx. 30 minutes in ADHD cases versus controls, which could indicate a shift to eveningness. Moreover (**Figure 1**), the ADHD subject motor activity curve showed a shift to the right (phase-delayed motor activity) respect to the controls, which is usually characteristic of late or nocturnal circadian rhythms.

Circadian activity parameters are associated to ADHD-hyperactivity symptoms but not to weight status in children and adolescents with ADHD.

Interestingly, ADHD-Inattentive showed a higher body weight (IMC and IMC-Z score) than ADHD-combined and controls (**Table 4**). However, not differences in dietary intake were observed among the groups. To find an explanation for this paradoxical fact, we evaluated the potential associations between circadian variables and weight status parameters, but not significant associations were found.

On the other hand, we examined correlations between the ADHD symptoms, measured with ADHD Rating-Scale-IV (ADHD RS-IV) (**Figure 2**). First of all, we found a positive correlation (p -value=0.004) between hyperactivity score and L5 in ADHD- patients. This correlation remained statistically significant after adjusting by cofounder variables (age, gender and ADHD-subtype). Interestingly, when the correlation was studied separately in both groups, ADHD-I and ADHD-C, we found only a positive correlation (p =0.020)

between hyperactivity score and L5 in ADHD-Combined patients but not in ADHD-Inattentive patients.

Discussion

To the author's knowledge, this is the first study that describes the 24-hour activity rhythm in children and adolescents with ADHD (medication-naïve) in comparison to healthy controls. More interesting, actigraphy measures allowed differentiated between subtypes of ADHD, inattentive and combined. Thus, our data showed significantly higher activity of the ADHD-C patients (MESOR and median) and significantly higher motor activity at between 18:00 and 22:00 than ADHD-I and controls. High activity was also found for ADHD-C patients for the most active 10h period (M10).

Few studies have been done in the field of circadian parameters and ADHD. Dane et al (2000) reported, in a study where the actigraph was wore only during a full-day by the children, greater afternoon, but not morning, activity in ADHD patients. However, Dane et al. (2000) could not differentiated ADHD subtypes by actigraphy. On the other hand, Tonetti et al. (2017) found, in a sample of adult patients (some of them under medication) with ADHD, that motor activity was significantly higher at 4:00 and at 6:00 compared with healthy patients. We observed a higher value of the value L5, which corresponds to the low activity period, presumably during sleep time, in ADHD-C patients in comparison to ADHD-I and controls but it was not significant. The greater activity during the night segment could be related to sleep disturbances, which are common in ADHD patients (Chamorro et al., 2017). Bijlenga et al. (2013) concluded that sleep-wake and delayed sleep patterns are associated with delays in melatonin secretion, motor activity and body temperature in ADHD adult patients.

The differences in the acrophase between cases and controls could indicate a shift to eveningness. However, Baird et al. (2012) did no find differences in the acrophase between controls and ADHD, but their study was done in adults and some of them were medicated. There is a strongest and most consistent finding in the literature for association of later chronotype/evening preference with ADHD and ADHD symptoms (Coogan et al., 2017; Durmus et al., 2017; Mcgowan et al., 2016). In this line, Vogel et al. (2015) report that ADHD was associated with later chronotype and with more prevalent delayed sleep phase disorder and unstable timing of meals in adults with ADHD. Also, it has been linked the evening preference to higher rates of inattention in adults with ADHD (Caci et

al., 2009). In our study, chronotype was not evaluated; however, the activity patterns observed, which were more delayed in cases with respect to controls along with the acrophase values could indicate a higher nocturnal activity, that could affect the general state of health as described above or in the exacerbation of symptoms of this disorder. Our results seem to confirm the profile of patients with ADHD who usually have problems falling asleep and who commonly show sleep disorders.

It is known that there may be genetic links between ADHD and the circadian system. Whole genome association studies have involved polymorphisms of the circadian clock genes with ADHD. Lasky-Su et al. (2008) identified PER1 associated with ADHD, while Brookes et al. (2006) reported a possible association of ADHD with polymorphisms in PER2. Likewise, the association of the rs1801260 SNP in the gen *CLOCK* with symptoms in adults with ADHD has been described by several studies (Kissling et al., 2008; Xu et al., 2010; Jeong et al., 2014). Recently, Mogavero et al. (2016) associated aggressive behavior (which is a frequent ADHD comorbidity) with an altered expression of clock genes. However, more studies should be done to better understand the molecular mechanisms underlying this disorder and its relationship with circadian health.

Number studies have found an association between ADHD and obesity (Vogel et al., 2015; Cortese et al., 2013). It is suggested that the impulsivity and inattention that characterize ADHD might lead to dysregulated eating patterns with consequent weight gain (Cortese et al., 2017). Interestingly, we observed that ADHD-Inattentive group showed that highest mean values of body weight parameters (BMI and its z-score), while there were not differences between ADHD-combined and controls. However, we did find differences in physical activity but not differences in energy and nutrient intake were observed. Several studies conclude that misalignment of circadian rhythms, as well as insufficient rest, are modifiable risk factors for the development of overweight and obesity in general population (Broussard & Van Cauter, 2016). In a recent study, Vogel et al. (2015) demonstrated that circadian rhythm disruption, linked to sleep disruption and unstable eating patterns, is a mechanism linking ADHD symptoms of obesity in adults. However, we did not find any significant relationship between circadian activity parameters and body weight parameters that could give us a plausible explanation for our results. Further research, which includes the study of other circadian variables such as melatonin, cortisol or temperature, might be necessary to draw precise conclusions.

Finally, in our data set, there was a positive correlation between hyperactivity symptom score and the amount of activity in the least active 5h, suggesting that higher activity, which is probably related to a higher degree of sleep-disturbances, increase the severity of the hyperactivity symptomatology. We have already mentioned that sleep-disturbances are common in ADHD patients (Chamorro et al., 2017). It is worth sounding a note of caution in the interpretation of any actigraphic data, in that it assesses the gross rhythm in motor output, and does not delineate between endogenous circadian processes and environmental factors, and the interaction between these, and thus provides limited mechanistic insight.

Strengths and Limitations

Some limitations of our design and methods should be acknowledged, since the design of our study limited our ability to assess cause-and-effect associations. In addition, other circadian parameters such as melatonin, cortisol and temperature should have followed. Nonetheless, this study has several important strengths, including the fact that all the cases included were naive, taking no medication. It has been suggested that certain drugs, especially the psychostimulants often used in the treatment of ADHD, can affect biological rhythms such as diurnal behaviors (Algahim et al., 2009; Antle et al., 2012), as well as they may also have an important role in the neurophysiology of suprachiasmatic nucleus (NSQ) (Antle et al., 2012) and diurnal patterns of gene expression of clock genes (Baird et al., 2013)

Conclusions

We have demonstrated that circadian activity patterns in ADHD children and adolescents are different than those of control subjects, especially the subtype ADHD-Combined, which confirm that the ADHD-Combined would be more active than those with ADHD-Inattentive. This observation would permit and examination of the potentially used of the study of circadian patterns as clinical tool to help in the diagnosis of ADHD. Unfortunately, we cannot find any relationship between circadian variables and the increased BMI observed in ADHD-Inattentive. Further research into modulation of circadian deficits in ADHD may prove beneficial in understanding the underlying causes of the symptomatology and may serve to aid in appropriate and efficacious treatment of the disorder.

Acknowledgements

The study was supported by a grant from the *Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación* (PI11/2009) from the *Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación*, Spain; TCA was supported by a scholarship from *Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación* (SENESCYT) of Ecuador and ARH was supported by a scholarship from *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) of México. We are grateful to Dr. Ramírez, Dr. Hernández and Dr. Serrano for their assistance with material collection and to the patients and families for their collaboration and implication. **Declaration of Conflicting Interests:** The authors declared they had no conflicts of interests with respect to their authorship or the publication of this article.

References:

- Algahim, M. F., Yang, P. B., Wilcox, V. T., Burau, K. D., Swann, A. C., & Dafny, N. (2009). Prolonged methylphenidate treatment alters the behavioral diurnal activity pattern of adult male Sprague–Dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 92(1): 93–99.
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV (4th ed.). Washington DC: *American Psychiatric Publishing*. 2000
- Antle, M. C., van Diepen, H. C., Deboer, T., Pedram, P., Pereira, R. R., & Meijer, J. H. (2012). Methylphenidate modifies the motion of the circadian clock. *Neuropsychopharmacology*, 37(11): 2446–2455.
- Baird, A. L., Coogan, A. N., Kaufling, J., Barrot, M., & Thome, J. (2013). Daily methylphenidate and atomoxetine treatment impacts on clock gene protein expression in the mouse brain. *Brain Research*, 1513(4): 61–71.
- Baird, A. L., Coogan, A. N., Siddiqui, A., Donev, R. M., & Thome, J., (2012). Adult attention-deficit hyperactivity disorder is associated with alterations in circadian rhythms at the behavioral, endocrine and molecular levels. *Molecular Psychiatry*, 17(10), 988–995.doi.org/10.1038/mp.2011.149.
- Baron, K. G., & Reid, K. J. (2014). Circadian misalignment and health. *International Review of Psychiatry* 26(2):139–154.
- Bijlenga, D., Van Someren, E. J., Gruber, R., Bron, T. I., Kruithof, I. F., Spanbroek, E. C., & Kooij, J. J. (2013). Circadian rhythms and ADHD Body temperature, activity and melatonin profiles in adults with attention-deficit / hyperactivity disorder and delayed sleep: a case – control study. *Journal of Sleep Research*, 22(6): 607–616.
- Broussard, J. L., & Van Cauter, E. (2016). Disturbances of sleep and circadian rhythms: novel risks factors for obesity. *Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity*, 23(5): 353-359.

Brookes, K., Xu, X., Chen, W., Zhou, K., Neale, B., Lowe, N., ... Asherson, P. (2006). The analysis of 51 genes in DSM-IV combined type attention deficit hyperactivity disorder: association signals in DRD4, DAT1 and 16 other genes. *Molecular Psychiatry*, *11*(10):934-953.

Caci, H., Bouchez, J., & Baylé, F. J. (2009). Inattentive Symptoms of ADHD Are Related to Evening Orientation. *Journal of Attention Disorders*, *13*(1): 36–41.

Chamorro, M., Lara, J. P., Insa, I., Espadas, M., Alda-Díez, J. A. (2017) Evaluation and treatment of sleep problems in children diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder: an update of the evidence *Revista de Neurología* *64*(9): 413-421.

Coogan, A. N., McGowan, N. M. (2017) A systematic review of circadian function, chronotype and chronotherapy in attention deficit hyperactivity disorder. *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, *9*(3): 129-147.

Cortese S., & Tessari L. (2017) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and Obesity: Update 2016. *Current Psychiatry Report*. *19*(1):4. doi: 10.1007/s11920-017-0754-1.

Cortese, S., Faraone, S. V., Bernardi, S., Wang, S., & Blanco C. (2013) Adult attention-deficit hyperactivity disorder and obesity: Epidemiological study. *British Journal of Psychiatry* *203*(1):24–34.

De Zwaan, M., Gruss, B., Müller, A., Philipsen, A., Graap, H., Martin, A., Glaesmer, H., Hilbert, A. (2011) Association between obesity and adult attention-deficit/hyperactivity disorder in a German community-based sample. *Obesity Facts*. *4*(3):204–11.

DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A. D., & Reid, R., (1998). *ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms and Clinical Interpretation*. New York, NY: The Guilford Press.

Durmuş, F. B., Arman, A. R., Ayaz, A. B. (2017). Chronotype and its relationship with sleep disorders in children with Attention deficit hyperactivity disorder. *Chronobiology International* *34* (7): 886–894.

Garaulet, M., Ordovas, J. M., Madrid, J. A. (2010).The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. *International Journal of Obesity*, *34*(12):1667–1683.

Imeraj, L., Antrop, I., Roeyers, H., Swanson, J., Deschepper, E., Bal, S., & Beboutte, D. (2012) Time-of-day effects in arousal: disrupted diurnal cortisol profiles in children with ADHD. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *53*(7): 782-798.

Jeong, S. H., Yu, J. C., Lee, C. H., Choi, K. S., Choi, J. E., Kim, S. H., & Joo, E. J. (2014). Human CLOCK gene-associated Attention Deficit Hyperactivity Disorder-related features in healthy adults: quantitative association study using Wender Utah Rating Scale. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *264*(1): 71–81.

Johnston, J. D., Ordovás, J. M., Scheer, F. A., Turek, F. W. (2016). Circadian Rhythms, metabolism, and chrononutrition in rodents and humans. *Advances of Nutrition*, *7*(2):399-406.

Kissling, C., Retz, W., Wiemann, S., Coogan, A. N., Clement, R. M., Hünnerkopf, R., ... Thome, J. (2008). A polymorphism at the 3'-untranslated region of the CLOCK gene is associated with adult attention-deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics. Part B Neuropsychiatr.* *147*(3): 333–338.

Kooij, S., & Bijlenga, D. (2014). The Circadian Rhythm in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Health. *ADHD Report* *22*(3): 399-406.

Lasky-Su, J., Neale, B. M., Franke, B., Anney, R. J., Zhou, K., Maller, J. B., ... Faraone, S. V. (2008). Genome-wide association scan of quantitative traits for attention deficit hyperactivity disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatr. Genetics* 147B (8): 1345–1354.

Mcgowan, N. M., Voinescu, B. I. & Coogan, A. N. (2016). Sleep quality, chronotype and social jetlag differentially associate with symptoms of Attention deficit hyperactivity disorder in adults. *Chronobiology International*, 33(10): 1433-1443.

Mogavero, F., Jager, A., & Glennon, J. C. (2016). Clock genes, ADHD and aggression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* S0149-7634(16)30448-1. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.11.002.

Polanczyk, G. V., Salum, G. A., Sugaya, L. S., Caye, A., Rohde, L. A. (2015). Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *Journal of Child Psychology Psychiatry*, 56(3): 345-365.

Rybak, Y. E., McNeely, H. E., Mackenzie, B. E., Jain, U. R., Levitan, R.D. (2007) Seasonality and circadian preference in adult attention-deficit/hyperactivity disorder: clinical and neuropsychological correlates. *Comprehensive Psychiatry*, 48(6): 562-571

Tonetti, L., Conca, A., Giupponi, G., & Natale, V. (2017). Circadian pattern of motor activity in adults with attention-deficit / hyperactivity disorder. *Chronobiology International*, 34(6):802–807.

Ulloa, R. E., Ortiz, S., Higuera, F., Nogales, I., Fresán, A., Apiquian, R.,... de la Peña, F. (2006) Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [in Spanish]. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 34(1): 36–40

Van Someren EJW. Improving actigraphic sleep estimates in insomnia and dementia: How many nights? (2007) *Journal of Sleep Research* 16(3):269–75.

Van Veen, M. M., Kooij, J. J., Boonstra, A. M., Gordijn, M. C., & Van Someren, E. J. (2010). Delayed circadian rhythm in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder and chronic sleep-onset insomnia. *Biological Psychiatry* 67(11):1091-1096.

Vogel, S. W., Bijlenga, D., Tanke, M., Bron, T. I., van der Heijden, K. B., Swaab, H., ... Sandra Kooij, J. J. (2015). Circadian rhythm disruption as a link between Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and obesity? *Journal of Psychosomatic Research*, 79(5), 443–450.

Vogel, S. W., Bijlenga, D., Tanke, M., Bron, T. I., van der Heijden, K. B., Swaab, H., ... Sandra Kooij, J. J. (2015). Circadian rhythm disruption as a link between Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and obesity? *Journal of Psychosomatic Research*, 79(5): 443–450.

World Health Organization. Child growth standards; Cited 2017. Available in: http://www.who.int/childgrowth/standards/imc_para_edad/es/.

Xu, X., Breen, G., Chen, C. K., Huang, Y.S., Wu, Y.Y., & Asherson, P. (2010). Association study between a polymorphism at the 3'-untranslated region of CLOCK gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Behavioral and Brain Function*. 12, 6:48. doi.org/10.1186/1744-9081-6-48.

Table 1. Definition of circadian variables calculated to characterize motor activity.

Variable name	Definition
MESOR	Mean value of the motor activity rhythm fitted to a cosine function.
Median	Median of the measurements of the motor activity
23:00-06:00 07:00-12:00 13:00- 17:00 18:00-22:00	Mean of the measurements of the motor activity carried out in 1-minute intervals during the following period of time: 23:00-06:00, 08:00 -12:00; 13:00 -17: 00 and 18:00 -22: 00 hours respectively.
Amplitude	Difference between the maximum (or minimum) value of the cosine function and MESOR. A greater amplitude indicates a strong marked rhythm.
Relative amplitude (RA)	Difference between L5 and M10 divided by the sum of L5 and M10
Acrophase	Timing of the maximum value of the cosine fitted relative to local 00:00 h.
Acrophase, np	Nonparametric acrophase.
Intradaily variability (IV)	Quantifies the fragmentation of periods of rest and activity. A high intra-daily variability indicates multiple transitions between periods of rest and activity.
Rayleigh test (R)	It provides an r vector with its origin at the center of a circumference of radius 1. The vector r (between 0 and 1) is proportional to the degree of phase homogeneity during the analyzed period. It can be considered to be a measure of the rhythm's stability during successive days.
% Variance Periodogram	Percentage of the variance explained by a 24-hour rhythm, according to a periodogram calculation.
M10	Mean of the measurements made at 1-minute intervals during the 10 consecutive hours with the maximum motor activity.
L5	Mean of the measurements made in 1-minute intervals during the 5 consecutive hours with lower activity.

Table 2. General characteristics in subjects with attention deficit hyperactivity disorders (ADHD) and in control subjects*

	Cases (ADHD) n = 60		Controls n = 60		p-value
<i>General characteristics</i>					
Gender, % male (n)	56.7	(34)	56.7	(34)	---
Age, years	9.3	(2.8)	9.3	(2.8)	---
<i>ADHD symptoms*</i>					
Inattention	18.2	(5.8)	2.52	(3.1)	<0.001
Hyperactivity	14.2	(7.6)	2.5	(3.0)	<0.001
Total	32.4	(11.3)	4.9	(5.1)	<0.001
<i>Comorbid diagnoses</i>					
Oppositional defiant disorder, % (n)	33.3	(20)	0	(0)	---
Anxiety, % (n)	23.3	(14)	3.3	(2)	---
Conduct disorder, % (n)	3.3	(2)	0	(0)	---
Depression, % (n)	1.7	(1)	1.7	(1)	---

*Data are shown mean (SD), unless otherwise indicated; Bold face representing statistical differences with $p < 0.05$; * ADHD-Rating scale (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, IVth edition)

Table 3. Motor activity parameters in subjects with ADHD (ADHD-Inattentive and ADHD-Combined) and control subjects*.

	ADHD-I (n=22)	ADHD-C (n=38)	Controls (n=60)	p-value
MESOR	2393.4(497.9) ^a	2698.2(603.8) ^b	2409.2(468.9) ^a	0.023
Median	2183.2(559.1) ^a	2522.3(675.6) ^b	2115.1(485.0) ^a	0.007
23:00-06:00	392.2(199.8)	343.8(353.4)	288.4(205.6)	0.287
07:00-12:00	4050.5(1306.8)	4181.1(1217.9)	4178.0(864.2)	0.971
13:00-17:00	3954.9(1076.4)	4549.9(1353.3)	4357.7(1213.6)	0.945
18:00-22:00	3689.4(923.9) ^a	4289.8(1099.5) ^b	3439.8(977.1) ^a	<0.001
Amplitude	2284.7(636.5)	2707.6(765.1)	2473.3(671.5)	0.724
Amplitude relative	0.94(0.02)	0.94(0.04)	0.95(0.02)	0.079
Acrophase	15:26(00:39) ^a	15:42(01:07) ^a	14:59(00:49) ^b	<0.001
Acrophase np	15:31(01:06) ^a	15:51(01:33) ^a	14:59(01:08) ^b	0.002
Intradaily variability	0.41(0.1)	0.38(0.1)	0.39(0.1)	0.633
Rayleigh	0.96 (0.04)	0.94(0.06)	0.94(0.06)	0.093
Variance Periodogram	41.6(5.5)	42.5(7.8)	41.1(6.7)	0.082
M10	4102.8(990.7) ^a	4771.7(1175.8) ^b	4283.9(975.5) ^a	0.048
L5	119.1(41.8)	141.6(74.5)	117.0(52.0)	0.083

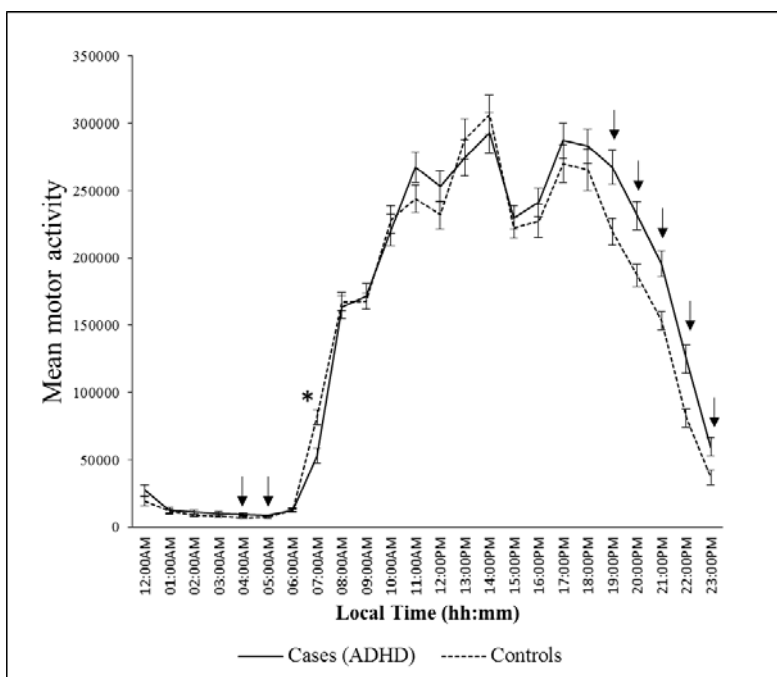
*Data are shown mean (SD); Values bearing the different letters differ significantly at $p < 0.05$. Data were adjusted by age and gender as covariates.

Table 4. Body weight parameters and dietary intake in subjects with ADHD (ADHD-Inattentive and ADHD-Combined) and control subjects*.

	ADHD-I (n=22)	ADHD-C (n=38)	Controls (n=60)	p-value
BMI	21.2 (4.4) ^a	18.4 (3.9) ^b	18.0 (3.3) ^b	0.030
BMI-Z score	0.91 (1.0) ^a	0.57 (1.1) ^b	0.25 (1.1) ^b	0.044
Physical activity, kcal/day	1341 (627) ^a	1227 (914) ^a	861 (483) ^b	0.001
Energy, kcal/day	1466 (226)	1693 (419)	1626 (382)	0.054
% Carbohydrate	49.3 (4.1)	46.8 (4.8)	47.8 (4.4)	0.261
% Fat	31.6 (3.6)	31.8 (3.3)	31.8 (3.6)	0.962
% Protein	18.8 (3.0)	19.1 (2.7)	20.1 (2.8)	0.878
Simple sugars, g/day	54.5 (10.5) ^a	63.3 (15.8) ^b	58.8 (17.1) ^a	0.031

*Data are shown mean (SD); Values bearing the different letters differ significantly at $p < 0.05$. Data were adjusted by age and gender as covariates.

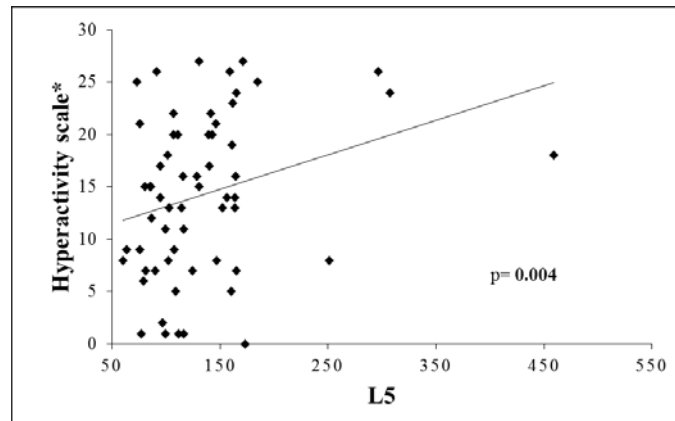
Figure 1. Daily variability in measurements of motor activity in subjects with ADHD versus controls.



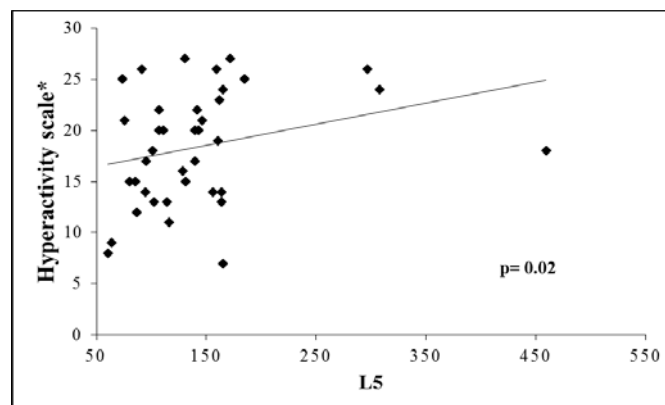
Means and standard deviations of the 24-hour activity rhythm (i.e., mean number of movements in 1-minute epoch in one recording hour) of patients with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and control subjects. The arrows indicate the times of day in which motor activity is significantly higher in ADHD patients compared to control subjects. And asterisk indicates the time of the day where the activity is significantly higher in controls. Average activity per hour in a day measured by actigraphy during a period of 7 days in subjects with ADHD versus control subjects.

Figure 2. Scatterplot depicting correlations between hyperactivity scale* and L5 in subjects with ADHD (Fig2a) and subjects with ADHD-combined (Fig 2b).

a)



b)



*ADHD-Rating scale IV (ADHD-RS-IV; DuPaul GJ, Power TJ, 1998); Data were adjusted by age and gender.

4.2 Seasonal light variability related with circadian alterations of motor activity in children and adolescents with ADHD versus control patients.

(Short communication)

Carpio-Arias, TV^{1,2}; Alda JA^{3,4}; Ríos-Hernández A¹; Díez-Noguera, A⁵; Cambras T^{5*};
Izquierdo-Pulido, M. ^{1,2,6*}

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy. University of Barcelona, Spain; ²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentaria (INSA), University of Barcelona, Spain; ³Children and Adolescent Mental Health Research Group. Institut de Recerca Sant Joan de Déu; ⁴Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Department. Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain; ⁵Department of Biochemistry and Physiology. Faculty of Pharmacy and Food Science. University of Barcelona, Spain. ⁶CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Dr. Cambras and Dr. Izquierdo-Pulido share senior authorship.

Address correspondence to: Dr María Izquierdo-Pulido, Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain. maria_izquierdo@ub.edu, +34 934034839.

Abstract:**Objective:**

Previous studies have shown that alterations of the circadian system in patients with ADHD are usually highly prevalent. It has also been suggested that sensitivity to light and its impact on alertness could show inter-individual differences. We aimed to evaluate the impact of light intensity on the motor activity of children and adolescents with ADHD respect to control subjects. To do so, we compared the activity of ADHD patients with healthy controls in summer and winter time. **Results:** A positive correlation was found between the amplitude of light intensity related to seasonal time variability and motor activity in subjects with ADHD compared with control subjects. This results suggesting a possible role of light sensitivity in ADHD the patients.

Keywords: Light intensity, motor activity, circadian variables, ADHD.

Introduction:

ADHD is a most common psychiatric disorder in childhood (Willcutt, 2012). Recent but solid findings show that subjects with ADHD could have a high susceptibility to alteration in their circadian rhythms, which is summarized in a recent systematic review by Coogan & McGowan (2017). Evidence was found that ADHD is associated with more eveningness/later chronotype and with phase delay of circadian phase markers such as dim light melatonin onset and delayed sleep onset (Coogan & McGowan 2017).

On the other hand, one of the main external synchronizers of the endogenous circadian clocks are the light / dark cycles. Light is necessary for image formation by the visual system, but is also essential for the regulation of numerous circadian non-image-forming (NIF) functions, which include the direct improvement of alert and performance. These NIF effects are distinct from classical visual system (which includes rods and cones), because this system recruits a novel class of photoreceptors, which consists of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC). These cells express the photopigment melanopsin that have a maximal sensitivity to blue light (Gaggioni et al., 2017). In addition, inter-individual differences in the sensitivity to light are also starting to be known (Chellappa et al., 2011).

Light is related to the circadian clock functioning, but also conveys a direct (exogenous) stimulating signal that impacts on alertness (Lockley et al., 2006). Therefore, the alert and activity state, that are key factors in the study of ADHD, could be linked to light intensity.

Our hypothesis is based on the fact that the subjects with ADHD could have a greater sensitivity to the exposure of the light showing higher levels of activity during the months of greater amount of light (summer time) with respect to their similar (subjects of the control group).

Study design:

60 children and adolescents with newly diagnosed ADHD (naive, no pharmacological treatment) and 60 controls were studied in a sex- and age-matched case-control study.

Subjects were recruited at the ADHD Unit of the Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology of the Hospital of Sant Joan de Déu in Barcelona (Spain). They were diagnosed for the first time and had never been evaluated for psychiatric disorders or treated with psychopharmacological medicine. The ADHD diagnosis was

performed according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4th Edition (DSM-IV-TR) (American Psychiatric Association). The ADHD Rating-Scale-IV (ADHD RS-IV) for parents was used as screening for diagnosis of ADHD (DuPaul et al., 1998). The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime version (K-SADS-PL) was also used to confirm the ADHD diagnosis and other comorbidities (Ulloa et al., 2006). **Exclusion criteria were:** IQ < 70, autism spectrum disorder, psychosis, developmental disorders, any ADHD drug treatment or nutrient (mineral/vitamin) complement. Controls were recruited from the ADHD patients' classmates (40%) and from patients attending in other hospital services (60%) (i.e. minor surgery ambulatory, or similar ones). Controls were screened for the absence of ADHD symptoms and the same exclusion criteria were applied also to controls. The study was approved by the Ethical Committee of the Hospital of Sant Joan de Déu (Barcelona, Spain). Written informed consent was obtained from participant's parents, and verbal assent from the participants. Demographic and clinical data were obtained from both subjects and parents.

Actigraph.

We used the actigraph (ActiSleep, ActiGraph, Pensacola, FL, USA) programmed to collect motor activity and light intensity data each minute for 7 consecutive days and nights, children and adolescents were required to wear the actigraph on the non-dominant wrist and actigraph was only removed while bathing.

Actigraph- motor activity daily rhythm.

Motor activity and light intensity data were analyzed using an integrated package for time-series analysis "Temps" (Díez Noguera, 1999).

Children and adolescents wore the actigraph in different months along the year, except in August. Thus, two experimental groups were considered: 1) children wearing the actigraph in summer time, and 2) children wearing the actigraph in winter time. In Spain, clocks are advanced 1 hour in summer (daylight saving time).

The following circadian variables were calculated for motor activity: MESOR value of the rhythm of motor activity adjusted to a cosine function; Median: median of the data; Amplitude: Difference between the maximum (or minimum) value of the cosine function and MESOR. A greater amplitude indicates a strong marked rhythm; Relative amplitude : difference between the maximum (or minimum) value of the cosine function related to

the MESOR; Acrophase: time of the maximum value of the adjusted curve of the cosine in relation to 00:00 hours); Acrophase, np: Nonparametric acrophase; Intradaily variability: quantifies the fragmentation of periods of rest and activity; Rayleigh test: Test that provides a vector r with its origin in the center of a circle of radius 1, indicates the grouping of the acrophases across the days and can be used as an indicator of the stability of the rhythm; PV: Percentage of variance explained by a 24-hour rhythm, according to a periodogram technique; M10: mean of the value of the 10h with highest activity; L5: mean of the measurements made in 1-minute intervals during the 5 consecutive hours with lower activity.

The average of motor activity measurements during the diurnal phase (which coincides with motor activity) was calculated at 1-minute intervals. For the analysis groups were made in the following time ranges: 08:00-12:00, 13:00-17:00 and 18:00-22:00.

Environmental light was detected by the same device than activity. The amplitude of the daily light intensity was studied for each group of subjects during the different months and it can be considered a good indicator of the light of the environment.

Results and discussion

General aspects:

Figure 1 shows the average of the light variability during the months of the year, there is a clear rise during the months of summer time and a decline in the months corresponding to winter time.

Figure 2 shows clear differences between light intensity in summer time and light intensity in winter time, however, it is curious that the amplitude of light is significantly higher in subjects with ADHD versus controls subjects, only in summer time.

Variation of seasonal light intensity with respect to subjects with ADHD and control subjects.

Table 1 shows the averages of different circadian variables of motor activity between the summer time and winter time in cases and controls. The acrophase was different according to the seasons and the groups, with a delayed acrophase in subjects with ADHD in both summer ($p=0.004$) and winter ($p=0.001$) time compared with controls. Additionally, the nonparametric acrophase (np) showed significant results only in the winter time, where again the subjects with ADHD showed a delayed acrophase.

Moreover, it was observed that the average of motor activity was higher, in subjects with ADHD, in time range of 18:00-22:00 nevertheless and interestingly, these values were significant only in summer time. It could therefore be suggested that subjects with ADHD usually present more problems to fall asleep or show more movements before to go to the bed than healthy patients.

Variability of motor activity of subjects with ADHD versus control subjects with respect to light intensity.

To verify our hypothesis that motor activity increases as light intensity increases we carried out linear Pearson correlations between amplitude of light intensity and several circadian motor activity variables calculated for this purpose.

In **winter** time, when all the subjects (ADHD + controls subjects) were considered, a positive correlation was found between the amplitude of the light and the average of motor activity between 18:00-22:00 ($r = 0.334$, $p = 0.004$; $n = 72$). However, when performing the differentiated analysis according to the study groups, that is, subjects with ADHD and control subjects separately, it was found that: subjects with ADHD showed a positive correlation between light intensity and the amplitude of the motor activity ($r = 0.344$; $p = 0.050$, $n = 33$), the maximum value at 10 hours ($r = 0.371$, $p = 0.033$, $n = 33$) and the mean value in the daytime period of 18:00-22:00 ($r = 0.397$; $p = 0.022$; $n = 33$), none of these correlations were found in the control subjects.

Similarly, when all the subjects (ADHD + controls subjects) were evaluated in **summer** time, a positive correlation could be observed between the amplitude of the light and the following calculated variables of motor activity: amplitude of motor activity ($r = 0.338$, $p = 0.019$, $n = 48$), M 10 ($r = 0.374$, $p = 0.009$, $n = 48$), average of motor activity from 08:00-12:00 ($r = 0.415$, $p = 0.003$, $n = 48$) and from 13:00 - 17:00 pm ($r = 0.298$, $p = 0.039$, $n = 48$). However, when performing the differentiated analysis according to the study groups, that is, subjects with ADHD and controls separately, it was found that: subjects with ADHD showed a positive correlation between light intensity and the amplitude of motor activity ($r = 0.431$, $p = 0.025$, $n = 27$), Rayleigh test ($r = 0.390$, $p = 0.044$, $n = 27$), M10 ($r = 0.455$, $p = 0.017$, $n = 27$), average value in the activity from 08:00-12:00 ($r = 0.515$, $p = 0.006$, $n = 27$) and from 13:00 - 17:00 ($r = 0.427$, $p = 0.026$, $n = 27$), none of these correlations were found in the control subjects.

We could conclude that motor activity is higher in summer in subjects with ADHD, possibly correlated with light intensity.

It is further shown in Figure 3 that the motor activity patterns in ADHD children show higher values than controls in summer time. Statistically significant differences have been found at 12:00, 20:00 and 22:00 between the subjects with ADHD and the control subjects.

It is also shown in Figure 3, that the patterns of motor activity in children with ADHD show higher values than controls especially in the summer time. In this sense, the averages of motor activity in cases were higher and statistically significant in the subjects with ADHD at 12:00, 20:00 and 22:00 hours compared to the control subjects. While in winter time, motor activity in subjects with ADHD was only higher at 22:00 hours compared to control subjects.

Finally, we observed that subjects with ADHD of male gender showed higher values of motor activity in summer time ($p = 0.008$), which agrees with the hypothesis that ADHD has a higher inattentive/hyperactive subtype in men than in women (Bauermeister et al., 2007) however there is still a debate on this topic.

We cannot know if ADHD children had spent more time outdoors in summer than controls. Moreover, we do not know if activity is correlated with ADHD subtypes, behavioral symptoms, psychopathology comorbidities or other clinical variables.

However, our results follow a hypothesis that motor activity patterns are higher during summer time, and indicate that the intensity of light may affect strongly the subjects with ADHD than healthy subjects. However, we did not correlate the motor activity values with morbidities in ADHD, thus we do not know if the increase in motor activity in summer time, could be an indication of improvement or worsening the symptomatology of the subjects.

More research is required regarding the physiological mechanisms that may be involved in the light-receptors in patients with ADHD.

References:

Bauermeister, J. J., Shrout, P. E., Chávez, L., Rubio-Stipec, M., Ramírez, R. Padilla, L.,...Canino, G.(2007). ADHD and gender: Are risks and sequela of ADHD the same for boys and girls? *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(8), 831–839.

Chellappa, S. L., Steiner, R., Blattner, P., Oelhafen,P., Gotz,T., & Cajochen, C. (2011).Non-visual effects of light on melatonin, alertness and cognitive performance: can blue-enriched light keep us alert? *PLoSOne* 6:e16429. doi:10.1371/journal.pone.0016429

Coogan, A. N, & McGowan, N. M. (2017). A systematic review of circadian function, chronotype and chronotherapy in attention deficit hyperactivity disorder. *ADHD attention Deficit Hyperactivity Disorder*, 9: 129-147.

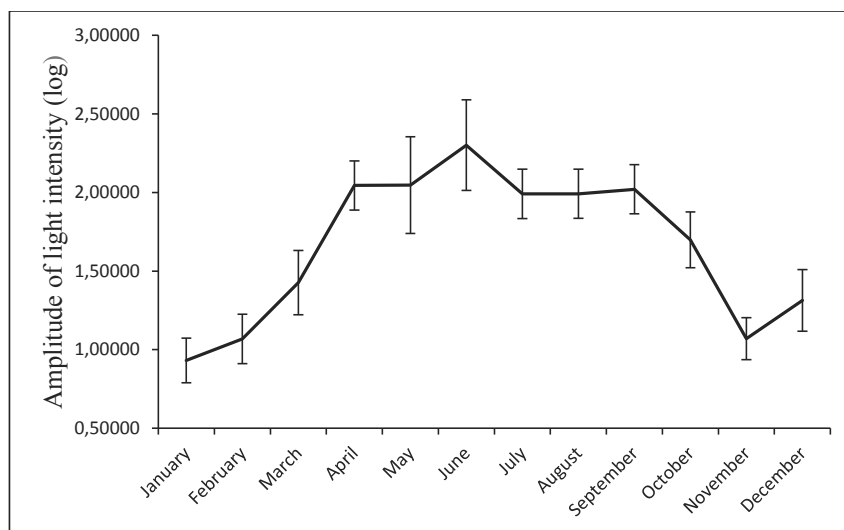
DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A.D., & Reid, R. (1998). *ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms and Clinical Interpretation*. New York, NY: The Guilford Press.

Gaggioni, G., Maquet, P., Schmidt, C., Dijk, D-J., Vanderwalle, G. (2014) Neuroimaging, cognition, light and circadin rhythms. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 126(8), 1-12.

Ulloa, R. E., Ortiz, S., Higuera, F., Nogales, I., Fresán, A., Apiquian, R., ... de la Peña, F. (2006) Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [in Spanish]. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 34, 36–40.

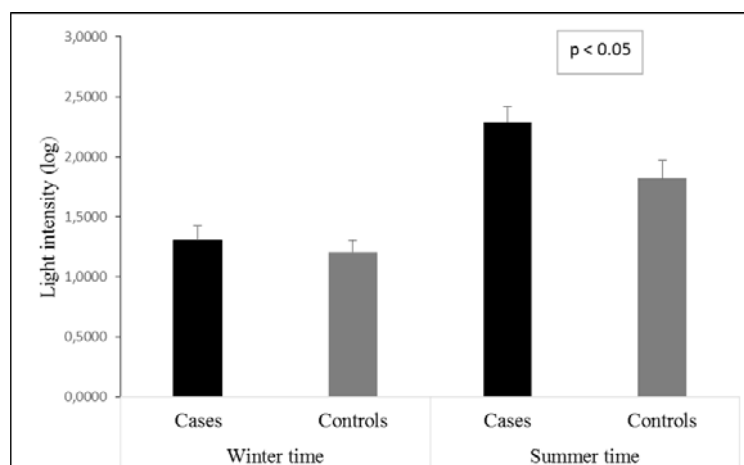
Willcutt, E. G., (2012). The prevalence of DSM-IV attention-deficit/hyperactivity disorder: a meta-analytic review. *Neurotherapeutics*, 9(3), 409-499

Figure 1. Light intensity variation in the subjects of the study sample throughout the year.



Monthly variability of light intensity in the subjects of the sample. Data measured by actigraphy for a period of 7 days.

Figure 2. Differences between light variation amplitude in summer and winter time in patients with ADHD and control subjects.



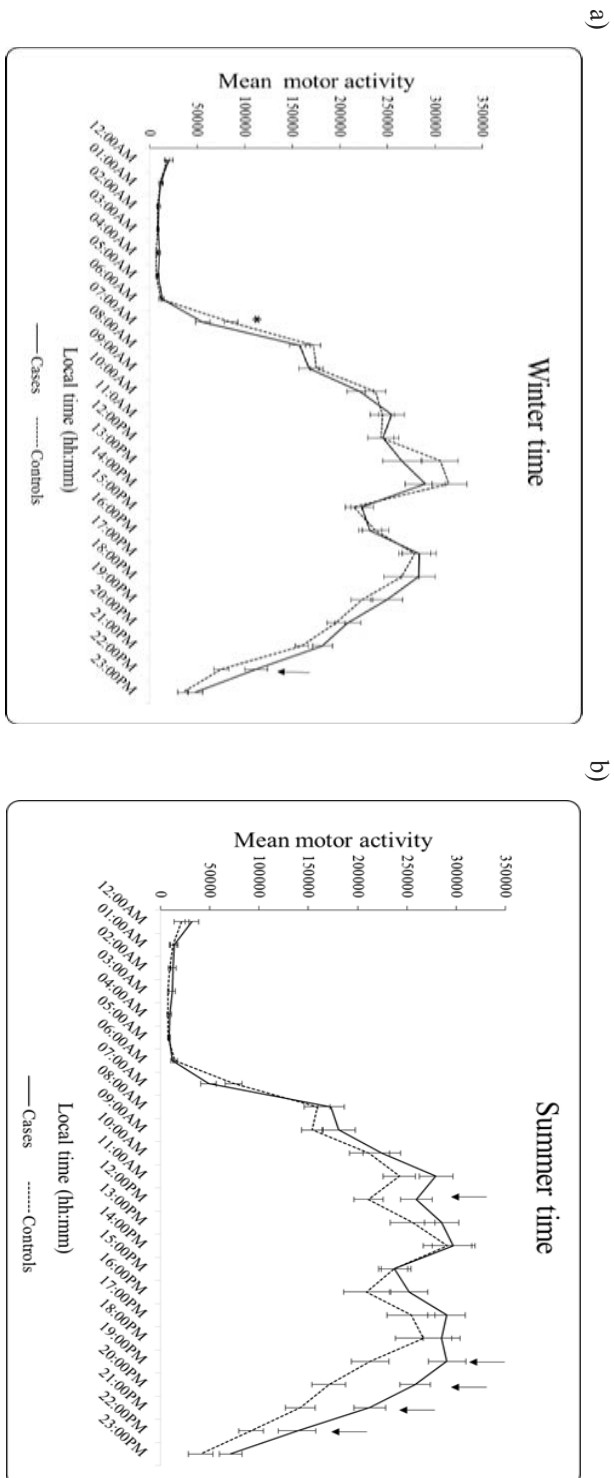
Differences between amplitude of seasonal light intensity in summer time and in winter time in subjects with ADHD and control subjects.

Table 1. Motor activity in winter and summer time in ADHD subjects and in control groups^a.

Circadian Variables	Winter Time		Summer Time		
	Cases n=33	Controls n=39	Cases n=27	Controls n=21	
MESOR	2487.1 (596.9)	2464.1 (423.8)	2707.8 (549.8)	2307.2 (539.1)	0.095
Median	2264.3 (585.0)	2195.9 (422.8)	2561.3 (701.4)	1964.9 (563.8)	0.019
Amplitude	2475.5 (750.1)	2526.9 (639.3)	2646.8 (739.6)	2373.8 (733.2)	0.989
Amplitude relative	0.94 (0.03)	0.95 (0.02)	0.94 (0.04)	0.94 (0.02)	0.179
Acrophase, time	932.2 (49.3)	897.2 (37.8)	948.5 (67.4)	902.3 (65.9)	0.004
Acrophase np	936.5 (79.2)	903.2 (59.5)	961.1 (88.5)	893.4 (84.3)	0.011
Intradaily variability	0.41 (0.06)	0.39 (0.05)	0.37 (0.07)	0.38 (0.08)	0.960
Rayleigh	0.96 (0.03)	0.94 (0.06)	0.94 (0.08)	0.92 (0.07)	0.846
PV	41.7 (5.9)	41.9 (6.2)	42.7 (8.4)	39.5 (7.3)	0.614
M10	4372.1 (1171.7)	4368.6 (933.9)	4715.1 (1114.8)	4126.8 (1053.8)	0.393
L5	124.3 (51.2)	114.6 (50.8)	144.4 (78.2)	121.4 (54.9)	0.116
08:00 – 12:00	3373.2 (971.3)	3489.1 (664.5)	3612.7 (1233.8)	3247.1 (882.9)	0.833
13:00 – 17:00	4220.3 (1283.2)	4473.2 (1116.4)	4467.9 (1292.3)	4143.4 (1379.1)	0.618
18:00 – 22:00	3837.7 (1087.9)	3517.1 (976.3)	4353.2 (997.2)	3296.5 (1177.1)	0.012

^aData show as mean (SD). Values adjusted by age and gender.

Figure 3. Comparison of motor activity in winter and summer time in subjects with ADHD versus control subjects.



Means and standard deviations of the 24-hour motor activity rhythm (i.e., mean number of movements in 1-minute epoch in one recording hour) of patients with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and control subjects. The arrows indicate the times of day in which motor activity is significantly higher in ADHD patients compared to control subjects. And asterisk indicates the time of the day where the activity is significantly higher in controls. Average activity per hour in a day measured by actigraphy during a period of 7 days in subjects with ADHD versus control subjects.

4.3 Sleep quality and sleep disturbances associate with diet in children and adolescents with ADHD: a control-case study.

Ríos-Hernández, A;^a, Carpio-Arias, T;^{a,b}, Farran-Codina, A^a; Ferreira-García, E;^{c,d}, Sans, O^e; Alda, J^{c#}; Izquierdo-Pulido, M^{a,b,f#}.

Affiliations: ^aDepartment of Nutrition, Food Science and Gastronomy. University of Barcelona, Spain; ^bInstitut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentaria (INSA), University of Barcelona, Spain; ^cADHD Unit. Child and Adolescent Psychiatry Department. Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain; ^dDepartment of Personality, Evaluation and Psychological Treatment, University of Barcelona, Spain; ^e Sleep Unit. Neurophysiology Department. Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain ^fCIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain.

Dr. Alda and Dra. Izquierdo-Pulido share senior authorship

Address correspondence to: Dr María Izquierdo-Pulido, Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain. maria_izquierdo@ub.edu, +34 934034839.

Abstract:

Complaints of sleep problems in patients with ADHD are not uncommon in clinical practice. Diet also influences ADHD symptomatology and sleep. The study aims to examine interrelationships between sleep (quality and disturbances) and diet in children and adolescent recently diagnosed with ADHD. Sleep parameters (measured by actigraphy) and sleep disturbances (measured with the Sleep Disturbance Scale for Children) along with dietary intake and biochemical nutritional parameters were measured in 120 children and adolescents (60 ADHD and 60 controls, sex- and age-matched control study). Relationships were investigated with multiple linear regression analysis. Children and adolescents with ADHD showed statistically significant higher score of sleep total problems (STP) than controls ($p < 0.001$). Children and adolescents with ADHD who had a lower intake of dietary fiber and of certain vitamins and minerals showed more total sleep problems and higher excessive daytime somnolence while ADHD subjects with a higher serum ratio of AA/DHA had more difficulty in initiating and maintaining sleep. Low levels of iron serum levels were also related with lower sleep efficiency in ADHD children and adolescents. All these associations were only found in ADHD subjects and not in controls. These findings support the interrelationship between diet, nutrients and sleep in children and adolescents with ADHD. Our data support the notion that the quality of the diet should be also considered in ADHD.

Keywords: ADHD: attention-deficit/hyperactivity disorder; Sleep quality; Diet; Nutrients.

Introduction

Sleep disturbances are particularly widespread in one of the most common neurodevelopmental disorders in childhood and adolescence— attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) [1-4]. In general, sleep disturbances have negative consequences in different areas of a child's life. For instance, sleep problems have a negative impact on attention and/or behavior and on daytime sleepiness of children [5-7], which can have repercussions on academic or cognitive performance, which may be already affected in children with ADHD. [8]

Another factor that has been shown to contribute to ADHD symptomatology is diet [9,10], with some studies reporting manifestation of ADHD like behavior after consumption of certain foods [11]. Therefore, both sleep disturbances and diet may be contributing factors to ADHD symptomatology. Furthermore, there is evidence to suggest that there is an additional and independent relationship between diet and sleep [12-15]. Several studies have shown that diets high in carbohydrates, particularly those with a high glycemic index and low in fats, promote increased sleep duration and reduce sleep-onset latency [15,16] while high-fat and simple sugar intakes can affect negatively sleep quality [15]. On the other hand, some foods, such as milk products, fish, fruit, and vegetables, might also have sleep-promoting effects [12, 15].

Given that both sleep disturbance and diet are contributing factors to ADHD symptomatology, and diet has been shown to affect sleep, we aimed to investigate relationships between sleep and dietary intake in children and adolescents newly diagnosed with ADHD (naïve) in comparison with subjects without ADHD. Knowledge about these potential relationships in ADHD subjects is really scarce and only a preliminary study has been previously published which found that total sleep disturbances were related to higher intake of sugars and fats in children with ADHD [17].

Methods

Subjects

From 120 referrals, 60 children and adolescents (ages 6-16 years) newly diagnosed with ADHD (naïve) and 60 sex- and age- matched controls participated. Cases were recruited at the ADHD Unit of the Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology of the Hospital of *Sant Joan de Deu* in Barcelona (Spain). The ADHD diagnosis was

performed according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) [18] The ADHD RS-IV-parents was used as screening for the diagnosis of ADHD [19]. The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [20] was also used to confirm the ADHD diagnosis and other comorbidities while the Wechsler Intelligence Scale for Children-IV (WISC-IV) [21] was applied to generate the intelligence quotient. ADHD diagnosis was conducted by experienced psychiatrists. Exclusion criteria were: IQ<70, autism spectrum disorder, psychosis, developmental disorders, any ADHD drug treatment or nutrient (mineral/vitamin) complement.

Controls were recruited from the ADHD patients' classmates (40%) and from patients attending other hospital services (60%) (i.e. minor surgery ambulatory, etc.). Controls were screened for the absence of ADHD symptoms and the same exclusion criteria were applied also to controls.

Procedure

The study was approved by the Ethical Committee of the Hospital of *Sant Joan de Déu* (Barcelona, Spain). Written informed consent was obtained from participant's parents, and verbal assent from the participants. Demographic and clinical data were obtained from both subjects and parents. Participants underwent a physical examination, including height and weight. BMI was calculated as weight (kilograms) divided by height (meters) squared and BMI was standardized to BMI Z-score using age and gender. The whole evaluation, from the first to the last visit spread at most 3 weeks.

Assessment of dietary intake

Food consumption and nutrient intake were measured by a validated food frequency questionnaire (FFQ) [22] administered by a trained interviewer. The FFQ comprised 45 items, including foods and beverages. For each food item participants were asked to record their usual consumption, ranging from never or less than once per month to six or more times per day. In addition, a 24-hr recall interview was conducted by telephone. Total energy and nutrient intake were analyzed using the nutritional evaluation software program PCN Pro v1.32 [23]. According to Willett et al. (1997) [24] an adjustment of total energy was made for independent variables using the nutrient residual model (adjusted for energy). Taking into consideration that most nutrients are positively correlated with energy intake and this could introduce a confounding factor. The Willett's

methodology allows the calculation of the effect of a specific nutrient beyond any effect due to the energy intake.

Assessment of actigraphy sleep parameters

Actigraphy was used to estimate sleep parameters objectively [25]. All the participants wore an actigraph around the non-dominant wrist (ActiSleep, ActiGraph, Pensacola, FL, USA) continuously for 7 consecutive days and nights; the actigraph was only removed while bathing. A validated algorithm was used to calculate: time in bed (hh:mm:ss), time out bed (hh:mm:ss), total sleep time (min), total time in bed (min), latency (min), efficiency (%), wake after sleep onset (WASO, min), number of awakenings and time average of awakenings (min). In addition, a division of working days and holidays was made.

The energy expenditure by physical activity of participants was obtained also throughout the actigraph (kcal/day).

Assessment of sleep disturbances

Sleep disturbances were measured with the Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC) [26] a well-validated, parental report instrument. Parents were asked to answer 26 questions which are grouped into six sleep factors: Behavioral Sleep problems of Initiating and Maintaining Sleep (BSP); Sleep Breathing Disorder (SBD); Parasomnias-Arousal Disorders (AD) such as nightmares and night terrors, and Sleep-Wake Transition Disorders (SWTD), such as sleep walking, sleep talking and bruxism; Excessive Daytime Somnolence (EDS); Sleep Hyperhidrosis – night sweating (HYH); and Total Sleep Problems (TSP) which results of the sum of all individual questions scores.

Biochemical parameters

Morning fasting blood samples were obtained by venipuncture in the forearm of each participant. Serum levels of iron, ferritin, transferrin, zinc, omega-6 and omega-3 polyunsaturated acids were determined in the Laboratory of Biochemistry of the Hospital *Sant Joan de Déu* (Barcelona).

Statistical analyses

Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or median and interquartile range, whereas categorical variables were expressed as percentage. Differences in normally and non-normally distributed continuous variables were

compared using the Student's T test and the Mann-Whitney U test, respectively. Categorical variables were compared using the χ^2 test. We assessed the associations between actigraphic sleep parameters or subjective sleep disturbances (SDSC scale) on dietary intake or biochemical parameters using Pearson correlations. Any significant relationships between variables were further investigated with multivariable linear regression. Analyses were performed using the SPSS 21.0 statistical software package (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) and a p value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Results

General characteristics, energy and nutrient intake and sleep parameters

The baseline characteristics of cases and controls are shown in **Table 1**. There were statistically significant differences associated with ADHD for physical activity. Regarding nutrient plasma levels, no statistically significant differences were found among cases and controls with the exception of araquidonic acid levels, which were higher in ADHD patients. Cases showed slightly lower plasma concentrations of iron and ferritin but the differences were not significant. The cases showed an average value of ADHD-RS (DMS-IV) of 34.2 (9.7) and the K-SADS confirmed the diagnosis of all the cases. In regard to comorbid diagnoses, 33.3% of ADHD patients met cut-off criteria for oppositional defiant disorder (ODD), 23.3% for anxiety, 3.3% for conduct disorder (CD) and 1.7% for depression.

Regarding dietary intakes, individuals with ADHD consumed statistically higher amounts of simple sugars and caffeine and lower amounts of total protein than controls (**Table 2**). Moreover, no significant differences were found for total daily energy intake or other nutrient intakes, besides vitamins A and B12, which were both higher in cases than in controls.

No statistically significant differences were observed with respect to sleep parameters of actigraphy between cases and controls in the total days. However, when carrying out the analysis based on working days and holidays, it was observed that cases tend to get up later than controls ($p < 0.01$). In addition, subjects with ADHD seem to lie down later and showed a slightly shorter total sleep time (except on work days) (**Table 3**).

Children and adolescents with ADHD showed statistically significant higher score of

sleep total problems (STP) than controls and the percentage of the ADHD patients who meet cut-off criteria for STP was larger when compare with controls (**Table 4**). In addition, when compare to controls, cases showed more behavioral sleep problems of initiating and maintaining sleep and more sleep-wake transition disorders and a higher excessive daytime somnolence. The percentage of ADHD subjects who met the cut-off criteria was also higher than in controls for those sleep disturbances.

Sleep disturbances associations with dietary intake in ADHD individuals

Associations between sleep disturbances and nutrient intake in children and adolescent with ADHD are presented in **Table 5**. It should be noted that no significant correlations between sleep disturbances and dietary intake were found in controls. Positive associations were identified between sleep breathing disorders (SBD) and protein intake and between excessive daytime somnolence (EDS) and fat intake. Dietary fiber intake was negatively associated with both sleep total problems (STP) and excessive daytime somnolence (EDS). Regarding micronutrient intakes (**Table 5**), negative associations were identified between excessive daytime somnolence (EDS) and the consumption of certain vitamins and minerals such as: thiamin, vitamin B6, acid folic, iron, and magnesium. Intake of folic acid and iron was also negatively associated with sleep total problems (STP). All of these associations were maintained after adjusting for gender, age, physical activity and BMI. Lastly, no associations were identified between sleep disturbances and serum nutrient levels, with the exception of a relationship between the ratio of AA/DHA and BSP (Behavioral Sleep Problems of Initiating and Maintaining Sleep) [$\beta=1.4$ 95%IC 0.1-2.8; $p=0.044$], after adjusting for gender, age, physical activity and BMI.

Sleep duration and efficiency associations with dietary intake and plasma levels of nutrients

No associations were found between actigraphy parameters and dietary intake, except for caffeine consumption which was associated with the “time in bed”, both in cases and controls: [β (95%CI) = 0.06(0.02-0.10), $p=0.006$] and [β (95%CI) = 0.12(0.004-0.229), $p=0.043$], respectively, after adjusting for gender, age, physical activity and BMI.

On the other hand, a positive association was evident between sleep efficiency and iron serum levels ($p=0.041$), after adjusting for gender, age, physical activity and BMI (**Figure 1**). The association was only found in subjects with ADHD and not in controls. No further

associations were found among sleep actigraphy parameters and the other nutrient serum values.

Discussion

To the authors' knowledge this is the first study investigating the relationships between dietary intake, serum nutrient levels, sleep parameters and sleep disturbances in children and adolescents with ADHD. We are aware of only one similar study by Blunden et al [17] but just the relationship between dietary intake and sleep disturbances in children with ADHD was investigated [17]. Our results show that children and adolescents with ADHD who had a lower intake of dietary fiber and of certain vitamins and minerals showed more total sleep problems and more excessive daytime somnolence. Moreover, ADHD subjects with a higher serum ratio of AA/DHA had more difficulty in initiating and maintaining sleep. Related to sleep quality parameters, our main finding was that iron serum levels were associated to sleep efficiency. It should be noted that none of the relationships found for cases were found in controls.

There is a growing body of evidence showing that diet quality, certain foods and nutrients can affect sleep in adult and young populations [12, 14, 15, 27]. More recently, Cheng et al. (27), in a large cohort, found that insomnia symptoms were associated with higher intakes of total energy, trans fat, and sodium and lower intake of vegetables. However, there is still lacking robust scientific evidence supporting the actual role of diet and nutrients on sleep quality in general population and especially in ADHD patients [12, 14, 17]. It has been reported that lower intakes of B vitamins and certain minerals (e.g. magnesium) may disrupt sleep, and their effect seems to be based on their influence on the secretion of melatonin [12,13,15]. In our study, lower intakes of vitamin B₆ and folic acid were associated with greater excessive daytime sleepiness. Huang et al [29] found significantly lower vegetable and vitamin B₆ consumption in poor sleepers compared to good sleepers in a population of elderly women, while folic acid intake was independent inverse associated with sleep disturbances in adults [30]. The mechanisms that explain these relationships are still unknown but folate and vitamin B₆ deficiencies have been linked with lower melatonin levels in rodents [13]. In addition, folate and B₆ vitamin are supposed to boost the formation of serotonin and tryptophan as coenzymes [13].

Magnesium low consumption was also related with a higher excessive daytime somnolence in our study. The clinical evidence in humans on magnesium effects and

sleep is scarce; however, a relationship between the concentration of magnesium in the blood and sleep has been suggested [12, 13]. In this line, it has been reported that oral magnesium supplementation improved sleep quality and total sleep time in subjects with low magnesium intake [12, 33]. Rondanelli et al [33] found that the administration of melatonin, magnesium, and zinc appears to improve the quality of sleep and the quality of life in long-term care facility residents with primary insomnia compare with a placebo capsule. It has been suggested that magnesium enhances melatonin secretion from the pineal gland by stimulating serotonin N-acetyltransferase activity, the key enzyme in melatonin synthesis [12].

The importance of long-chain polyunsaturated fatty acids for sleep initiation and maintenance has long been known. Evidence suggests that the balance of DHA and AA in the pineal gland regulates melatonin production, with higher levels of DHA relating to increased levels of melatonin [34]. DHA seems needed for one of the enzymes, which transforms serotonin into melatonin [13]. Epidemiological studies find that higher levels of omega-3 fatty acids are associated with fewer sleep problems in infants [35] and children with ADHD [36]. However, no improvement either in subjective or objective parameters of sleep or secretion of melatonin was noticed in adults with chronic insomnia after supplementation with polyunsaturated fatty acid capsules [37]. Consistent with the fact that DHA seems to be needed for the synthesis of melatonin, we did find a positive relationship between the ratio of AA/DHA and difficulties in initiating and maintaining sleep. Thus, an increase in DHA levels would decrease the ratio AA/DHA and the sleep difficulties would eventually decrease.

Regarding the role of energy and macronutrients intake on sleep, and in contrast to the findings of Blunden et al [17], we did not find any significant relationship among sleep disturbances and higher intakes of energy, fat, carbohydrates and sugar with the exception of saturated fat intake, which was correlated with excessive daytime somnolence only in ADHD subjects. Grandner et al [14] found, in a large sample of children and adults, that high intakes of palmitic acid, a saturated fatty acid, was related to sleep problems, such as difficulty in falling sleep. Also, it has been suggested that there is an increase in brain sensitivity toward a food-related reward (e.g., unhealthy food options as a reward) after sleep restriction [38-39]. However, note that most of supporting evidence has been derived from sleep-restriction studies, which may have different etiologies that poor sleep quality.

Future studies examining the role of diets rich in saturated fatty acids and the possible mechanisms are needed, which could explain these relationships. We can

Our results also showed that lower iron serum levels were associated to poor sleep efficiency. Although iron has been one of the most studied micronutrient involved in the pathophysiology of ADHD, only few works have explored the association between iron and sleep disturbances in ADHD patients. Studies have found associations between low serum of ferritin and restless legs syndrome in ADHD children [40] and sleep wake transition disorders, which includes items of abnormal movements and small awakenings during sleep [41]. Consistent with those previous studies, we found that lower iron serum levels were associated with lower sleep quality (measured as sleep efficiency). Cortese et al [41] published a study in which they evaluated motor activity during sleep in children with ADHD. They concluded that ferritin levels below 45 μ g/l might indicate a risk for disruption of normal sleep patterns (abnormal movements and small awakenings) in children with ADHD. However, in our study, no significant differences regarding ferritin levels and disruption of normal sleep patterns were found.

Finally, the fact that caffeine intake was related with the time to go to bed in both controls and cases can be more related to certain behaviors rather than a cause-consequence. The interesting fact was that caffeine intake did not correlate with other sleep quality parameters neither with total sleep time. Caffeine has both the stimulatory and inhibitory mechanisms affecting the levels of melatonin [13]. Which of these dominate in normal healthy subjects is not clear. Caffeine can decrease the synthesis of melatonin but caffeine and melatonin compete for the same metabolizing liver cytochrome P450 enzymes, resulting in higher serum levels of melatonin after large doses of caffeine [42].

Some limitations of our design and methods should be acknowledged, such as the case-control study design, which prevents our ability to assess cause-and-effect associations. Furthermore, all dietary instruments such as food frequency questionnaires measuring past food intake are vulnerable both to random and systematic measurement errors. Neither the timing of food consumption nor the food additive content were measured in this study and these reportedly affect sleep [43] and behaviour [44]. Nonetheless, this study has several important strengths, including the fact that all the cases included were naïve, taking no medication. The use of certain drugs might affect the food choices and provoke changes to the child and adolescent's diet and sleep. Also, well-

trained, experienced psychiatrists and psychologists performed the evaluation.

In summary, our findings suggest that the interrelationship between diet and sleep in children with ADHD may be of consequence and warrants further investigation. Given the importance of treating ADHD from a holistic and multidisciplinary perspective and the fact that both sleep and dietary intake are potentially modifiable behaviors, our findings suggest the need for future studies to further understand and enable a more holistic approach to the treatment of children and adolescent with ADHD symptoms.

Acknowledgements

The study was supported by a grant from the *Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación* (PI11/2009) from the *Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación*, Spain. ARH was supported by a scholarship from the *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) of México. TCA was supported by a scholarship from *Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación* (SENESCYT) of Ecuador. We are grateful to Dr Ramírez, Dr Hernández and Dr Serrano for their assistance with material collection, to the patients and families for their collaboration and implication.

Financial Disclosure: The authors have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to disclose.

References:

1. Cohen-Zion M, Ancoli-Israel S (2004) Sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): A review of naturalistic and stimulant intervention studies. *Sleep Med Rev* 8:379-402. doi: 10.1016/j.smrv.2004.06.002.
2. Golan N, Shahar E, Ravid S, Pillar G (2004) Sleep disorders and daytime sleepiness in children with Attention Deficit/Hyperactivity Disorder. *Sleep* 27:261-265. doi:10.1016/j.sleep.2010.03.017.
3. Vélez-Galarraga R, Guillén-Grima F, Crespo-Eguilaz N, Sánchez-Carpintero R (2016) Prevalence of sleep disorders and their relationship with core symptoms of inattention and hyperactivity in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur J Paediatric Neurol* 20: 925-937. doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.07.004.
4. Chamorro M, Lara JP, Insa I, Espadas M, Alda-Diez JA (2017) Evaluation and treatment of sleep problems in children diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder: an update of the evidence. *Rev Neurol*. 64:413-421.

5. Fallone G, Acebo C, Seifer R, Carskadon MA (2005) Experimental restriction of sleep opportunity in children: effects on teacher ratings. *Sleep* 28:1561-1567.
6. Grünwald J, Scharlab AA (2017) Relationship between subtypes and symptoms of ADHD, insomnia, and nightmares in connection with quality of life in children. *Neuropsychiatr Dis Treat* 5:2341-2350. doi:10.2147/NDT.S118076.
7. Craig SG, Weiss MD, Hudec KL, Gibbons C (2017). The functional impact of sleep disorders in children with ADHD. *J Atte Disord.* 1:1-10. doi:10.1177/1087054716685840.
8. Diaz-Román A, Hita-Yáñez E, Buela-Casal G (2016) Sleep characteristics in children with attention deficit hyperactivity disorder: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Sleep Med* 12:747-56. doi:10.5664/jcsm.5810.
9. Bellsile F (2004) Effects of diet on behavior and cognition in children. *Br J Nutr* 92:227-232.
10. Ríos-Hernández A, Alda A, Farran-Codina A. et al (2017) The Mediterranean Diet and ADHD in Children and Adolescents. *Pediatrics* 139 (2):e20162027.doi:10.1542/peds.2016-2027.
11. Pelssner L, Frankena K, Toorman J et al (2009) A randomized controlled trial into the effects of food on ADHD. *Eur Child Adolesc Psych* 18:12-29. doi: 10.1007/s00787-008-0695-7.
12. Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R (2012a) Diet promotes sleep duration and quality *Nutr Res* 32:309-319. doi:10.1016/j.nutres.2012.03.009.
13. Peuhkuri K, Sihvola N, Korpela R (2012b) Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food Nutr Res* 56: 17252. doi: 10.3402/fnr.v56i0.17252.
14. Grandner MA, Jackson N, Gerstner JR, Knutson KL (2014) Sleep symptoms associated with intake of specific dietary nutrients. *J Sleep Res* 23:22-34.doi:10.1111/jsr.12084.
15. St-Onge MP, Mikic A, Pietrolungo CE (2016) Effects of diet on sleep quality. *Adv Nutr* 7:938-949.doi: 10.3945/an.116.012336.
16. Afaghi A, O'Connor H, Chow CM (2007) High-glycemic-index carbohydrate meals shorten sleep onset. *Am J Clin Nutr* 85:426-430.
17. Blunden SL, Milte CM, Sinn N (2010) Diet and sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder: Preliminary data in Australian children. *J Child Health Care* 15:14-24. doi: 10.1177/1367493510385020.
18. American Psychiatric Association.(200) Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington, DC.
19. DuPaul GJ, Power TJ, Anastopoulos AD, Reid R (1998) ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms and Clinical Interpretation. New York: The Guilford Press.
20. Ulloa RE, Ortiz S, Higuera F (2006) Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL). *Actas Esp Psiquiatr* 34:36-40.
21. Wechsler D (2005) Escala de Inteligencia de Wechsler para Niños – IV (WISC-IV) TEA Edicions. Madrid, Spain.

22. Rodríguez IT, Ballart JF, Pastor GC, Jordà EB, Val VA (2008) Validation of a short questionnaire on frequency of dietary intake: reproducibility and validity. *Nutr Hosp* 23:242–252.
23. Cantós D, Farran A, Palma I (2004) PCN Pro. Barcelona: Universitat de Barcelona.
24. Willett WC, Howe GR, Kushi LH.(1997) Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 65:1220S–1228S; discussion 1229S–1231S.
25. Ancoli-Israel S, Cole R, Alessi C et al (2003). The role of actigraphy in the study of sleep and circadian rhythms. *Sleep* 26:342-392.
26. Bruni O, Ottaviano S, Guidetti V et al (1996) The Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC): construction and validations of an instrument to evaluate sleep disturbances in childhood and adolescence. *J Sleep Res* 5:251-261.
27. Cheng FW, Li Y, Winkelman JW et al (2016) Probable insomnia is associated with future total energy intake and diet quality in men. *Am J Clin Nutr* 104: 462- 469. doi: 10.3945/ajcn.116.131060.
28. Chaput JP (2014) Sleep patterns, diet quality and energy balance. *Physiol Behav* 134: 86-91. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.09.006.
29. Huang, YC, Wahlqvist ML, Lee MS (2013) Sleep Quality in the Survival of Elderly Taiwanese: Roles for Dietary Diversity and Pyridoxine in Men and Women. *J Am Coll Nut* 32:417–427. doi: 10.1080/07315724.2013.848158.
30. Beydoun MA, Gamaldo AA, Canas JA et al (2014) Serum Nutritional Biomarkers and Their Associations with Sleep among US Adults in Recent National Surveys. *PLoS ONE* 94:135-140 doi: 10.2466/pms.2002.94.1.135.
31. Zadeh SS, Begum K (2011) Comparison of nutrient intake by sleep status in selected adults in Mysore, India. *Nutr Res Pract* 5:230-235 doi: 10.4162/nrp.2011.5.3.230.
32. Chollet D, Franken P, Raffin Y et al (2001) Magnesium involvement in sleep: genetic and nutritional models. *Behav Genet* 31:413-425.
33. Rondanelli M, Opizzi A, Monteferrario F et al (2011). The effect of melatonin, magnesium, and zinc on primary insomnia in long-term residents in Italy: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Am Geriatr Soc* 59:82-90. doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.03232.x.
34. Montgomery P, Burton JR, Sewell RP et al (2014) Fatty acids and sleep in UK children: subjective and pilot objective sleep results from the DOLAB study – a randomized controlled trial. *J Sleep Res* 23:364-88. doi: 10.1111/jsr.12135.
35. Cheruku SR, Montgomery-Downs HE, Farkas SL et al (2002). Higher maternal plasma docosahexaenoic acid during pregnancy is associated with more mature neonatal sleep-sate patterning. *Am J Clin Nutr* 76:608-613
36. Burgess JR, Stevens L, Zhang W, Peck L (2000). Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *Am J Clin Nutr* 71:327-330.
37. Cornu C, Remontet L, Noel-Baron F et al (2010). A dietary supplement to improve the quality of sleep: a randomized placebo controlled trial. *BMC Complement Alternative Med* 10:29-32. doi:10.1186/1472-6882-10-29.

38. Benedict C, Brooks SJ, O'Daly OG, Almèn MS, Morell A, Åberg K, Gingnell M, Schultes B, Hallschmid M, Broman JE, Larsson EM, Schiöth HB (2012). Acute sleep deprivation enhances the brain's response to hedonic food stimuli: an fMRI study. *J Clin Endocrinol Metab.* 3:E443-447. doi: 10.1210/jc.2011-2759.
39. St-Onge MP, Wolfe S1, Sy M2, Shechter A1, Hirsch J (2014) Sleep restriction increases the neuronal response to unhealthy food in normal-weight individuals. *Int J Obes (Lond).* 3:411-416. doi: 10.1038/ijo.2013.114.
40. Oner P, Dirik EB, Taner Y et al (2007) Association between low serum ferritin and restless legs syndrome in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Tohoku J Ex Med* 213:269–276.
41. Cortese S, Konofal E, Bernardina BD, et al (2009) Sleep disturbances and serum ferritin levels in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Child & Adolesc Psychiatry* 18:393–399. doi:10.1007/s00787-009-0746-8.
42. Ursing C, Wikner J, Brismar K, Røjdmark S (2003) Caffeine raises the serum melatonin levels in healthy subjects: an indication of melatonin metabolism by cytochrome P450 (CYP) 1A2. *J endocrinol Invest* 26:403-406. doi: 10.1007/BF03345194.
43. Harada T, Hiortani M, Maeda M et al (2007) Correlation between breakfast tryptophan content and morning-evening in Japanese infants and students aged 0-15 years. *J Physiological Anthropol* 26:201-207. doi: 10.2114/jpa2.26.201.
44. Bateman B, Warner JO, Hutchinson E et al (2004) The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Arch Dis Childhood* 89:506-511.

Table 1. General characteristics in subjects with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and in control subjects.^a

	Cases (ADHD) n=60		Controls n=60		P-value
Gender, %male (n)	56.7	(34)	56.7	(34)	---
Age, years	9.3	(2.8)	9.3	(2.8)	---
Height, cm	136.5	(16.8)	138.6	(17.3)	0.496
Weight, kg	38.1	(16.2)	36.4	(14.5)	0.536
BMI ^b , kg/m ²	19.6	(4.3)	18	(3.3)	0.042
BMI Z-Score	0.69	(1.1)	0.25	(1.1)	0.027
Physical activity, kcal/day ^c	1248.3	(824.6)	861.4	(483.3)	0.013
<i>Nutrient blood and plasma levels</i>					
Iron, µg/dl	80.1	(32.5)	85.4	(32.1)	0.366
Transferrin, mg/dl	266.2	(29.9)	265.7	(27.9)	0.922
Ferritin, µg/L	36.2	(21.0)	42.2	(36.9)	0.273
Zinc, µg/L	988.6	(182.0)	975.5	(162.0)	0.680
AA acid, nmol/g Hb	3200.4	(610.7)	2909.9	(772.9)	0.031
DHA acid, nmol/g Hb	889.2	(232.2)	822.9	(348.8)	0.243
AA/DHA	3.7	(1.0)	3.8	(1.1)	0.790

^aData are shown mean (SD) except for gender that is expressed as % of male participants (number); ^bBody mass index; ^c Measured with the actigraphy accelerometer ActiSleep; Bold face representing statistical differences with p<0.05.

Table 2. Energy (per day), nutrient (per day and per 1000 kcal) and caffeine (per day) intake in subjects with attention-deficit hyperactivity disorder and in control subjects.^a

	Cases (ADHD) n=60	Controls n=60	p-value
Energy, kcal	1609.9 (375.3)	1626.9 (382.8)	0.806
Carbohydrates, g	122.7 (10.9)	119.6 (11.0)	0.114
Simple sugars, g	60.4 (16.7)	54.5 (10.5)	0.022
Protein, g	47.3 (7.3)	50.1 (7.0)	0.031
Animal protein, g	34.5 (7.1)	36.6 (7.8)	0.129
Vegetal protein, g	12.8 (2.2)	13.5 (2.6)	0.087
Fat, g	35.2 (3.9)	35.4 (4.1)	0.780
Saturated fat, g	14.0 (2.1)	14.2 (2.0)	0.448
Monounsaturated fat, g	11.5 (1.3)	11.5 (1.5)	0.793
Polyunsaturated fat, g	6.1 (1.7)	5.9 (1.6)	0.441
Dietary fiber, g	9.4 (2.1)	10.2 (2.5)	0.057
Iron, mg	6.1 (1.0)	6.4 (1.1)	0.129
Zinc, mg	5.1 (0.8)	5.4 (0.7)	0.066
Calcium, mg	527.8 (122.0)	542.3 (108.8)	0.474
Magnesium, mg	166.3 (22.9)	168.6 (24.9)	0.599
Vitamin C, mg	71.7 (36.8)	71.9 (31.3)	0.970
Riboflavin, mg	1.0 (0.2)	1.1 (0.2)	0.512
Thiamin, mg	0.8 (0.1)	0.8 (0.2)	0.387
Niacin, mg	10.4 (2.4)	11.1 (2.4)	0.133
Vitamin B ₆ , mg	1.1 (0.2)	1.11 (0.2)	0.288
Folic acid, mg	144.5 (35.4)	153.3 (42.5)	0.218
Vitamin B ₁₂ , µg	2.7 (0.7)	3.1 (0.7)	0.013
Vitamin A, µg	330.8 (105.9)	370.4 898.39	0.036
Vitamin D, µg	1.5 (0.8)	1.8 (0.9)	0.098
Vitamin E, mg	3.2 (0.8)	3.4 (0.9)	0.281
Caffeine, mg	3.8 (5.3)	1.6 (1.9)	0.003

^aData are given in mean and (SD; Standard deviation); Bold face representing statistical differences with p<0.05.

Table 3. Sleep characteristics of subjects with attention-deficit hyperactivity disorder and control subjects.^a

	Cases (ADHD) n=60	Controls n=60	p-value
<i>Actigraph sleep parameters; total days</i>			
Time in bed	22:36:36 (00:53)	22:21:00 (00:58)	0.137
Time out bed	07:40:12 (00:51)	07:28:48 (00:50)	0.226
Total sleep time, min	468.2 (50.9)	474.5 (60.9)	0.540
Latency, min	10.6 (9.8)	8.4 (6.9)	0.172
Efficiency, %	86.5 (3.7)	85.0 (11.9)	0.361
Wake after sleep onset, min	63.4 (20.0)	66.3 (22.7)	0.454
Awakenings	20.4 (5.4)	20.0 (5.5)	0.720
Average Awakenings, min	3.7 (0.9)	3.9 (1.1)	0.505
<i>Actigraph sleep parameters; work days</i>			
Time in bed	22:58:12 (00:51)	22:45:36 (00:57)	0.189
Time out bed	07:48:36 (00:39)	07:30:00 (00:31)	0.005
Total sleep time, min	451.2 (44.4)	449.95 (46.3)	0.878
Latency, min	10.9 (9.0)	9.6 (7.7)	0.164
Efficiency, %	84.3 (6.0)	84.2 (6.8)	0.935
Wake after sleep onset, min	79.1 (25.2)	76.6 (31.2)	0.633
Awakenings	23.6 (5.2)	23.1 (5.0)	0.629
Average Awakenings, min	3.5 (0.9)	3.3 (0.9)	0.236
<i>Actigraph sleep parameters; holydays</i>			
Time in bed	23:21:36 (00:39)	23:05:24 (00:31)	0.196
Time out bed	08:21:00 (01:28)	07:55:48 (00:45)	0.016
Total sleep time, min	453.83 (60.3)	466 (49.1)	0.225
Latency, min	11.8 (11.5)	9.8 (8.2)	0.870
Efficiency, %	83.7 (7.3)	85.0 (5.7)	0.302
Wake after sleep onset, min	81.0 (32.0)	77.7 (28.5)	0.590
Awakenings	23.7 (6.3)	23.1 (6.1)	0.601
Average Awakenings, min	3.7 (1.8)	2.4 (0.9)	0.203

^aData are given in mean and (SD; standard deviation). Bold face representing statistical differences with p<0.001.

Table 4. Sleep Disturbance of subjects with attention-deficit hyperactivity disorder and control subjects.^a

	Cases (ADHD) n=60	Controls n=60	p-value
<i>Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC)</i>			
STP	61.27 (15.55)	45.25 (5.72)	<0.001
BSP	56.65 (15.62)	44.78 (6.54)	<0.001
SBD	51.78 (13.08)	47.93 (8.98)	0.063
AD	50.12 (8.73)	49.0 (7.79)	0.461
SWTD	65.13 (17.46)	49.05 (9.50)	<0.001
EDS	57.95 (17.09)	46.45 (8.28)	<0.001
HYH	52.92 (14.66)	48.77 (10.34)	0.076
<i>Percentages of individuals who meet cut-off criteria for sleep disturbances (SDSC)</i>			
STP	55.0%	3.3%	<0.001
BSP	53.3%	11.7%	<0.001
SBD	21.7%	10.0%	0.080
AD	16.7%	10.0%	0.283
SWTD	76.7%	35.5%	<0.001
EDS	56.7%	20.0%	<0.001
HYH	26.7%	15.0%	0.116

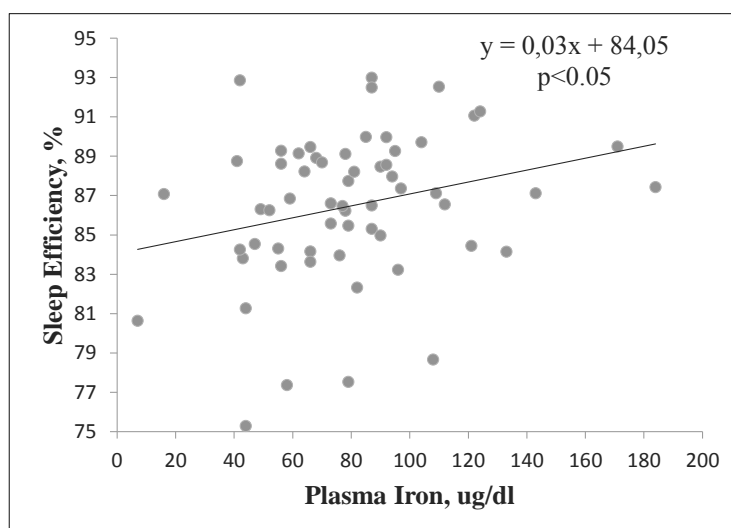
^aData are given in mean and (SD; standard deviation). **STP**: Sleep total problems; **BSP**: Behavioral Sleep Problems of Initiating and Maintaining Sleep; **SBD**: Sleep Breathing Disorders; **AD**: Arousal Disorders; **SWTD**: Sleep-Wake Transition Disorders; **EDS**: Excessive Daytime Somnolence; **HYH** Hyperhidrosis; Bold face representing statistical differences with p<0.001.

Table 5. Correlations between sleep disturbances measured with the Sleep Disturbance Scale for Children (SDSC) and daily energy and nutrient intake in children and adolescents (n=60) with ADHD.

	STP	BSP	SBD	AD	SWTD	EDS	HYH
Energy, Kcal	0.06	0.06	-0.15	-0.10	0.11	0.05	0.05
Carbohydrates, g	-0.24	-0.20	-0.11	-0.04	-0.20	-0.15	-0.80
Simple sugars, g	-0.13	-0.09	-0.14	-0.02	-0.13	-0.04	-0.08
Protein, g	0.16	0.19	0.28*	0.09	0.10	-0.05	0.07
Fat, g	0.18	0.09	-0.08	-0.04	0.18	0.14	0.06
Saturated, g	0.18	0.10	-0.10	-0.04	0.15	0.28*	-0.02
Monounsaturated, g	0.22	0.13	0.10	-0.04	0.18	0.22	0.07
Polyunsaturated, g	-0.01	-0.03	-0.05	0.04	0.06	0.01	0.01
Dietary fiber, g	-0.23*	-0.21	0.05	-0.04	-0.03	-0.34**	-0.02
Vitamin C	-0.22	-0.08	-0.08	-0.12	-0.12	0.25	-0.04
Riboflavin	-0.03	-0.03	0.09	-0.07	0.03	-0.10	0.01
Thiamin	-0.25	-0.08	0.13	-0.07	-0.17	-0.42**	-0.09
Niacin	0.01	0.07	0.09	-0.01	0.06	-0.19	0.08
Vitamin B6	-0.13	-0.06	0.06	-0.09	-0.02	-0.29*	0.02
Folic acid	-0.27*	-0.18	-0.05	-0.12	-0.08	-0.37*	-0.04
Vitamin B12	-0.01	0.01	0.07	-0.15	-0.08	0.05	0.02
Vitamin A	0.01	-0.01	0.09	-0.09	0.01	-0.01	0.08
Vitamin D	-0.24	-0.16	-0.01	-0.07	-0.25	-0.27	-0.08
Vitamin E	-0.19	-0.13	0.02	0.04	-0.12	-0.27	-0.07
Calcium	0.06	0.08	0.13	0.02	0.21	-0.01	-0.01
Iron	-0.21*	-0.16	0.05	-0.03	0.01	-0.36**	-0.04
Zinc	0.01	0.05	0.19	-0.01	0.08	-0.19	0.02
Magnesium	-0.20	-0.16	0.28	-0.05	-0.01	-0.34*	-0.02

*p<0.05; **p<0.01; **STP**: Sleep total problems; **BSP**: Behavioral Sleep Problems of Initiating and Maintaining Sleep; **SBD**: Sleep Breathing Disorders; **AD**: Arousal Disorders; **SWTD**: Sleep-Wake Transition Disorders; **EDS**: Excessive Daytime Somnolence; **HYH** Hyperhidrosis. Adjusted for age and gender.

Figure 1. Scatterplot depicting correlations between sleep efficiency (%) and serum iron levels ($\mu\text{g}/\text{dl}$) in subjects with ADHD.



4.4 Serotonin-transporter polymorphism in pediatric population with ADHD and implications in internalizing & externalizing symptoms and body weight: A preliminary study.

Carpio-Arias TV^{1,2}, Huguet A^{3,4}, Ríos-Hernández A¹, Farran-Codina A^{1,2}, Ferreira-García, E^{4,5}, Alda JA^{3,4*}, Izquierdo-Pulido M^{1,2,6*}

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy. University of Barcelona, Spain; ²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentaria (INSA), University of Barcelona, Spain; ³ Children and Adolescent Mental Health Research Group. Institut de Recerca Sant Joan de Déu. . ⁴Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Department. Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain; ⁵Department of Personality, Evaluation and Psychological Treatment, University of Barcelona, Spain; ⁶CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain.

* Dr. Alda and Dra. Izquierdo-Pulido share senior authorship

Corresponding author: Dra. M Izquierdo-Pulido, Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain. Telephone number: +34 934034839. E-mail: maria_izquierdo@ub.edu

Introduction

Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) is the most common psychiatric disorder in children and adolescents (Polanczyk et al., 2015). The risk for comorbidity is high, and the presence of comorbid disorders warrants special consideration in the treatment of patients with ADHD (Michielsen et al. 2013). ADHD is a complex and heterogeneous condition, environmental influences have been identified, however it is known that ADHD is a highly polygenic disorder and its heritability is as high as 76% (Lee & Song, 2015).

Some genetic factors may be common for both ADHD and comorbid disorders that underlie the association between these two phenotypes (Eun et al., 2016). Most of the genetic studies in psychiatric pathologies (including ADHD) have focused on the genes of dopaminergic, noradrenergic and serotonergic neurotransmission systems that are associated in the classical theories of behavior regulation (Gatt et al, 2014). Serotonergic mechanisms are known to be involved in several behavioral traits such as aggressiveness, depression, anxiety and impulsiveness in humans (Kiive & Harro, 2013), which are frequently associated with ADHD. Moreover, serotonergic mechanisms have been related also to food intake and weight gain (Bonnet et al., 2017). Overweight and obesity has also been associated to ADHD in adults (Cortese et al., 2013), which seems paradoxical, but the mechanisms underlying this association are still unknown.

The role of the serotonin transporter (5-HTT), a solute carrier protein responsible for the reuptake of serotonin from the synaptic cleft back to the presynaptic neuron, has been examined as a candidate gene for ADHD susceptibility (Kiive & Harro, 2013). The serotonin transporter gene (*SLC6A4*), which encodes the human 5-HTT, is expressed in brain regions often implicated in emotion regulation, attention, and motor control (Collier et al., 1996; Lesch & Mössner, 1998). The 5-HTT linked polymorphic region (5-HTTLPR) is a functional polymorphism present in the promoter region of the *SLC6A4*, where a 44-bp insertion/deletion causes long (L) or short (S) alleles. S allele (SS or SL genotypes) has been associated with a lower *SLC6A4* expression resulting in a reduced serotonin reuptake and release capability; conversely, L variant is associated with an increase of gene transcription (almost three times more) (Bonnet et al., 2017). Moreover, a single nucleotide polymorphism (SNP, rs25531) in the promoter region of the *SLC6A4* transformed the 5-HTTLPR into a triallelic locus (Hu et al., 2006). However, there are conflicting opinions about the role of 5-HTT and ADHD. Lee and Song (2015) in a recent

meta-analysis suggested that 5-HTTLPR L/S polymorphism is not associated with susceptibility to ADHD in European or Asian populations, arguing that larger studies in homogeneous populations of different ethnicity are necessary to investigate the roles of the 5-HTTLPR L/S polymorphism in the pathogenesis of ADHD.

However, it has been reported that the S allele may be related to internalizing symptoms such as depression and anxiety, whereas the L allele may be related to externalizing symptoms such as impulsivity and aggression (Cadoret et al. 2003; Kent et al. 2002). Recently, it has been suggested that the S allele at 5-HTTLPR polymorphism modulates an individual's response to environmental stress, with the S allele representing a higher sensitivity to stress, indicating that the S allele can be considered a susceptibility gene in ADHD in response to a high-stress environment (Caspi et al. 2010). On the other hand, previous studies suggest that factors such as cognitive-emotional predisposition to the emotional instability, anxiety, stress and other behavioral symptoms or psychological traits can modulate the relationship between appetite, food intake and subsequent mechanisms for weight control (Borkowska et al., 2015; Bonnet et al., 2017). That observation could be linked to observed relative high prevalence of overweight and obesity in ADHD population compared to healthy subjects (Cortese & Castellanos, 2014).

Considering these questions, and since ADHD patients show a high susceptibility to behavioral symptoms and comorbidities that could have implications for food intake, the aims were to determine whether: (a) one allelic promoter variant of the serotonin transporter gene (SLC6A4) relates to externalizing and internalizing symptoms in a ADHD pediatric population naïve and (b) one allelic promoter variant of the serotonin transporter gene (SLC6A4) relates to food intake and body weight parameters in the same population.

Methods:

Subjects.

A total of 60 children and adolescents were selected in the ADHD Unit of the Department of Psychiatry and Child and Adolescent Psychology of the Hospital de Sant Joan de Déu in Barcelona (Spain). 6 subjects were excluded (1 for not meeting the inclusion criteria, 2 for dropping out of the study and 3 for moving from the data collection population), 54 patients with ages included between 6 and 16 years old with newly diagnosed with ADHD (naïve, no pharmacological treatment) were recruited.

Exclusion criteria: IQ < 70, autism spectrum disorder, psychosis, developmental disorders, any ADHD treatment drug or any nutrient (mineral/vitamin) complement the last 60 consecutive days.

Material and Instruments

Assessments included

ADHD diagnosis was performed according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, revised criteria (DSM-IV-TR) (American Psychiatric Association (APA), 2000). **ADHD Rating-Scale-IV (ADHD RS-IV)** (DuPaul GJ, Power TJ) for parents was used as screening for the diagnosis of ADHD. The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia–Present and Lifetime version (**K-SADS-PL**) (Ulloa, Ortiz & Higuera F, 2006) was administrated to confirm the ADHD diagnosis and to know the absence or presence of comorbidity. . ADHD diagnosis was made by experienced child and adolescent psychiatrists.

Internalizing and Externalizing symptoms.

Conners Parent Rating Scale-Revised (short version) (CPRS-R: S) (Conners et al., 1998) evaluates behavioral of children assessed by their parents. The scale includes inattentiveness, hyperactivity domains, oppositional behavior and ADHD index.

Conners Teacher Rating Scale (CTRS) (Goyette et al., 1978) rates classroom behavior of children as assessed by teacher. It includes three subscales of inattentiveness, hyperactivity and oppositional behavior.

Child Behavior Checklist of Achenbach for parents (CBCL-Scales) (Achenbach, 1999) is a 113-item broad-spectrum scale for the assessment of externalizing and internalizing problems by parent's ratings for ages 4 to 18 years. Standard scores ≥ 65 & ≥ 70 suggest preclinical and clinical symptoms respectively. The scale includes eight different categories: anxious/depressed, withdrawn/depressed, somatic complaints, social problems, thought problems, attention problems, rule-breaking behavior, and aggressive behavior. To analyze the relationship between internalizing and externalizing symptoms (I&E S) and food intake measures by CBCL-Scales, sample was divided into two groups: subjects with BS and subjects without BS, considering the cut-off point of the CBCL scales as follows: <65 (normally score) points and > of 65(subclinical and clinical score) points respectively.

Emotional dysregulation was assessed using the sum of t-scores of anxious/depression, attention problems and aggressive behaviors (AAA) scales. The reliability coefficients (Cronbach's alpha) were 0.82, 0.81 and 0.82, respectively. The CBCL-DESR was defined as positive by a score of ≥ 180 (1SD) on the sum of AAA scales (Spencer et al., 2011).

Assessment of dietary intake.

Food and nutrient consumption was measured by a validated food frequency questionnaire (FFQ) (Rodríguez et al, 2008), administered by a qualified person, and consisting of 45 items including food and beverage. For each food item, participants were asked to record their usual consumption for the nine frequency categories of the FFQ, ranging from never or less than once per month to six or more times per day. In addition, a 24-h recall interview was conducted by a trained interviewer. Total energy intake as well as macro and micro nutrient composition were analyzed using the nutritional evaluation software program PCN Pro version 1.32 (Cantós, Farran & Palma, 2004; Farran, Zamora & Cervera, 2004).

Physical Activity

Participants used the actigraph ActiSleep (ActiGraph, Pensacola, FL) on their non-dominant wrist continuously for 7 days to measure rates of physical activity.

Procedure

This study was carried out in accordance with the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and with the guidelines of the Bioethics Committee of the Sant Joan de Dèu Hospital in Barcelona. Written informed consent was obtained from the parents of participants and the verbal consent of the children and adolescents.

Genotyping.

Blood samples were used for DNA isolation using a standard extraction method (Qiagen-kit- Genra Puregene Blood Kit). Samples were stored at -80° C until prior to use. Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) with an adaptation of the protocol of Wendland et al, (2006) followed by 2.5% agarose gel electrophoresis with bromophenol blue. The 5-HTTLPR polymorphism in SLC6A4 gene was studied using the primers CAAGCTTGTTGGGGATTCTCC (forward) and AGAGGGACTGAGCTGGACAAC (reverse); standardized DNA at 20 ng/ μ l was used to obtain 40 ng of genomic DNA as recommended by the house protocol (KOD Hot Start

DNA Polymerase). The thermocycler Primus 25 Advanced, was used for a final volume of 30 μ L of sample: (Including 10 μ L of mineral oil to avoid evaporation of the samples). Initial denaturation at 95°C per 2 minutes; 30 cycles for **1**) denaturation at 95°C per 20 s **2**) hybridization at 64°C per 10 s **3**) polymerization at 72 ° C for 14 s; and a final elongation at 72 °C for 2 minutes. All samples were analyzed twice and no conflicting results were found (100% concordance). Subjects were also genotyped with the triallelic classification (S, LG and LA alleles; Wendland et al., 2006). The triallelic SLC6A4 polymorphism-genotyping was performed after a restriction digestion with MspI enzyme following PCR amplification during one hour. The MspI enzyme cuts the CCGG sequence, leading to the following alleles: S, LG and LA, resulting in six genotypes: SS, SL_G, SL_A, L_GL_G, L_GL_A and L_AL_A.

Genotypes were grouped according to their functionality (Enoch et al., 2012) as low and medium activity “S+SL_A”: SS, SL_G, SL_A, L_GL_A and L_GL_G, and as a high activity: L_AL_A “LL”. Triallelic genotyping showed the following frequencies of SLC6A4 alleles: low and medium activity (S+SL_A carriers) = 70.4% and high activity (LL carriers) = 29.6%.

Statistical analysis:

Continuous variables were expressed as means \pm standard deviation (SD), whereas categorical variables were expressed as percentages. ANCOVA test, adjusted for age and gender, was used to compare the relationship between 5-HTTLPR (S+SL_A and LL) and: behavioral symptoms and food intake in subjects with and without ADHD; $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. Kolmogorov-Smirnov test was used to measure the normal distribution of genotyping variable ($p > 0.05$). Analyzes were performed using the statistical software STATA in its 14th version. In the current population, genotype frequency was consistent with Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$).

Results

General characteristics of the population studied are summarized in **Table 1**. Cases showed an average of ADHD-RS (DSM-IV) of 32.1 (8.7) and the K-SADS confirmed the diagnosis. 31.5% of ADHD subjects met cut-off criteria for oppositional defiant disorder (ODD), 3,7 % for conduct disorder (CD), 63 % for anxiety and 1.9 % for depression.

Serotonin transporter promoter polymorphism associates with internalizing and externalizing symptoms and emotional dysregulation but no with ADHD symptomatology.

We first explored whether the S/L variant of the SLC6A4 was associated with ADHD symptoms. We observed that S-liked carriers showed more internalizing ($p=0.002$) and externalizing ($p=0.032$) problems, assessed by the CBCL-syndrome scale scores, than the L_AL_A carriers (**Fig. 1**). In addition, we identified that higher score for emotional dysregulation was found in S-liked carriers than in L_AL_A carriers (**Fig. 2**). All these associations were statistically significant even after adjusting for confounding variables (gender and age).

No significant associations were found between the SLC6A4 promoter and behavioral symptoms assessed by the CPRS-R: S (inattention, hyperactivity and opposition) ($p>0.05$). Neither, significant associations were found between the SLC6A4 promoter and diagnosis confirmed by K-SADS (ODD, CD, anxiety problems and depression) ($p>0.05$).

Serotonin transporter promoter polymorphism does not associate with weight and food intake in ADHD patients.

No significant associations were found between the SLC6A4 promoter and weight parameters (weight, BMI and its z-score) in the population studied ($p>0.05$). A slightly higher energy, carbohydrate and fat intakes in the S-like carriers in comparison with L_AL_A were observed, even though they were not statistically significant (**Fig. 3**).

Discussion

The results of the present study support the hypothesis that the variability of the 5-HTT gene is associated with ADHD psychopathology comorbidities, such as internalizing problems (anxious/depressed or somatic complaints) and externalizing problems (attention problems or aggressive behaviors). More interesting, we found that the S-like carriers showed a higher emotional dysregulation than homozygote carriers of the major allele (LaLa). It is known that emotional dysregulation is highly prevalent in patients with ADHD (Spencer et al., 2011; Shaw et al., 2014). Emotional dysregulation is a theoretical concept characterized by poor modulation of emotional responses through lability, low frustration tolerance, impatience, impulsivity and aggressive outbursts. It underlies a difficulty to flexibly respond to and manage emotions in a modulated manner (Shaw et

al., 2014; Spencer et al., 2011). Emotional dysregulation is generated through the interoccurrence of both neurobiological and psychological factors (Guendelman, Medeiros, & Rampes, 2017). A patient with emotional dysregulation is characterized by a deficit of self-regulation to physiological excitement caused by strong emotions. To the author's knowledge, this is the first time that a relationship between the serotonin receptor polymorphism and emotional dysregulation has been found in subjects with ADHD.

Previous studies have associated the serotonergic system as an important component of behavioral disorders (Hu et al., 2006), like bipolar, and depressive disorders (Goldman et al., 2011). In addition, and in the same line, some studies (Masi, et al., 2015) suggest that deficits in emotion regulation are associated with increased risk of bipolar disorder. These results suggest some relationship between serotonergic system and emotional dysregulation

In contrast, few studies have established the association between behavioral symptoms and comorbidities and 5-HTTLPR polymorphism in ADHD patients (Kiive & Harro, 2013; Eun et al., 2016; Baptista et al., 2017). Kiive & Harro (2013) found results that support the hypothesis that the variability of the 5-HTT gene is associated with ADHD symptomatology. The authors concluded that the L/L genotype of 5-HTTLPR is associated with inattentive symptoms in general adolescent population and increased likelihood of inferior educational level in young adulthood. However, we did not find any relationship between the polymorphism and ADHD symptomatology.

In a recent study done in institutionalized preschoolers, evaluated using the Child Behavior Checklist, they found an interesting interaction between 5-HTTLPR S-like and caregiver intrusiveness (Baptista et al. (2017). The authors observed that the 5-HTTLPR S-like displayed the most attention problems and hyperactivity when exposed to high levels of intrusive care, but the least ADHD symptoms, with a mean score similar to the general population, when exposed to low levels of such care. There was no detectable effect of caregiving intrusiveness in the case of L-allele carriers. It is well recognized the importance of environment interaction in genetic studies and it has been reported that indicating that the S-allele carriers were more sensitive to adverse life events in childhood (Kiive & Harro, 2013).

However, there are studies which have evaluated ADHD symptoms in adult samples, with conflicting results. Thus, Cadoret et al. (2003) observed, in a sample of adults,

that male individuals with the short variant were more likely to have higher symptom counts for conduct disorder and aggressive behavior. In contrast, among females, the short variant (SS, SL) was associated with lower levels of such behaviors. The size of our sample did not allow us to study possible interactions between genetic variants and behaviors. On the other hand, Retz et al. (2002) reported significantly higher ADHD symptoms scores in males with the L genotype. Wodarz et al. (2004) and Johann et al. (2003) did not detect association between the 5-HTTLPR and comorbid ADHD among patients with alcohol dependence.

Grevet et al (2007) did not find any association between the 5-HTTLPR polymorphism and ADHD. However, they found that carriers of the S allele presented slightly higher inattention and novelty seeking scores, and a higher frequency of drug dependence. This is in line with the results of the meta-analysis of Lee & Song (2015), which did not support an important role of the 5-HTTLPR L/S polymorphism in susceptibility to ADHD. However, the same authors pointed out that there is a need to evaluate associations between the 5-HTTLPR polymorphism and 5-HTT activity or clinical features of ADHD. The disagreements between epidemiological and functional studies of ADHD are not entirely unexpected, given that it is a complex disease that involves multiple genes, genetic backgrounds, and environmental factors. Grevet et al. (2007) postulates that the genetic association of this polymorphism with ADHD could be better understood as a result of the influence of the gene on different and varied behavioral traits of the subjects. Our results are in agreement of this observation as we found associations with internalizing and externalizing problems and emotional dysregulation in the ADHD subjects.

The findings of our investigation did not show any association between body weight and 5-HTTLPR polymorphism. A possible cause could be the low prevalence of overweight and the youngness of our population. Borkowska et al. (2015) found in a sample of 390 obese patients (no ADHD), an association between S allele and depressive temperament; however, in this same study, subject carriers with L allele were associated with higher BMI. On the contrary, Bonnet et al. (2017) found, in a study done in obese women, that S carriers (low-expressing) of the SLC6A4-promoter variant had a lower inhibition capacity and showed more failure (1.6 times) to control the amount of food eaten. We found that S-like carriers seemed to have a tendency to have a higher energy intake (related to a higher consumption of carbohydrates and fats) but the differences were not

significant. It is worthy to point out that several studies have demonstrated that obesity is more prevalent in ADHD adults compared with healthy subjects (Cortese & Castellanos, 2014; Weissenberger et al., 2017), suggesting that these patients may have a special risk in the control of their food intake. So the identification of susceptibility genes in the first years of life could provide a basis for lifestyle interventions.

Some important limitation should be kept in mind while interpreting the results from this preliminary study. The relatively small sample size made it impossible to obtain robust statistical significances. In complex neuropsychiatric disorders, including ADHD, sample sizes in at least the thousands or tens of thousands are necessary to expect a robust finding from a candidate gene study in ADHD, and, therefore, our findings need to be replicated in larger samples. Nonetheless, this study has several important strengths, including the fact that all of the cases included were naive, taking no medication. The use of certain drugs affect the behavior and symptomatology and can also provoke changes in the child and adolescent's diet. In addition, well-trained, experienced psychiatrists and psychologists performed the evaluation.

Conclusion

To summarize, we found that the short allele of 5-HTTLPR may be related with a higher emotional dysregulation that is connected with higher levels of anxiety, attention problems and aggressiveness. The regulation of emotion is considered a central component of mental health, and its imbalance could underlie psychopathological conditions. Moreover 5-HTTLPR may be related with internalizing and externalizing symptoms. This may help in our understanding of the genetic contribution and genetic susceptibility of this particular allele in ADHD patients. However, larger studies in homogeneous populations are necessary to investigate the roles of the 5-HTTLPR L/S polymorphism in the pathogenesis and clinical features of ADHD.

Clinical significance

To our best knowledge, our result is the first one to show the relationship between the serotonin transporter gene and emotional dysregulation in ADHD children and adolescent naïve.

Acknowledgements:

The study was supported by a grant from the *Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación* (PI11/2009) from the *Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación*, Spain; TCA was supported by a scholarship from *Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación* (SENESCYT) of Ecuador. ARH was supported by a scholarship from *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) of México. We are grateful to Dr. Ramírez, Dr. Hernández and Dr. Serrano for their assistance with material collection and to the patients and families for their collaboration and implication. **Declaration of Conflicting Interests:** The authors declared they had no conflicts of interests with respect to their authorship or the publication of this article.

References

- Achenbach, M. T. (1999). *The Child Behavior Checklist and Related Instruments*. Lawrence Erlbaum Associates Publishers, 1999.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. DSM-5 (5th ed.)*. Washington DC: Author.
- Baptista, J., Belsky, J., Mesquita, A., & Soares, I. (2017). Serotonin transporter polymorphism moderates the effects of caregiver intrusiveness on ADHD symptoms among institutionalized preschoolers. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 26(3), 303–313.
- Bonnet, G., Gómez-Abellán, P., Vera, B., Sanchez-Romera, J., Hernández-Martínez, A., Sookoian, S., Pirola, C., Garaulet, M. (2017). Serotonin-transporter promoter polymorphism modulates the ability to control food intake : Effect on total weight loss. *Molecular and Nutrition Food Research*, 6(11) 1–10.
- Borkowska, A., Bieli, M., Szcz, W., Szwed, K., Tomaszewska, M., Ka, A.,... Akiskal, H. (2015). Effect of the 5-HTTLPR polymorphism on affective temperament, depression and body mass index in obesity. *Journal of Affective Disorders*, 184, 193–197.
- Cadoret, R. J., Langbehn, D., Caspers, K., Troughton, E. P., Yucuis, R., Sandhu, H. K., Philibert, R. (2003). Associations of the serotonin transporter promoter polymorphism with aggressivity, attention deficit, and conduct disorder in an adoptee population. *Comprehensive Psychiatry* 44(2), 88-101.
- Cantós, D., Farran, A., & Palma, I. (2004). PCN Pro. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Caspi, A., Hariri, A. R., Holmes, A., Uher, R., Moffitt, T. E. (2010). Genetic sensitivity to the environment: the case of the serotonin transporter gene and its implications for studying complex diseases and traits. *American Journal of Psychiatry*. 167, (509), 527, 2010.
- Conners, C. K., Sitarenios, G., Parker, J. D. & Epstein, J. N. (1998). The Revised Conners' Parent Rating Scale (CPRS-R): Factor Structure, Reliability, and Criterion Validity. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 26–4(11), 257–268.

Cortese, S., & Castellanos, F. X. (2014). The relationship between ADHD and obesity: Implications for therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *14*(5), 473–9.

DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A. D., & Reid, R., (1998). ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms and Clinical Interpretation. *New York: The Guilford Press*.

Enoch, M., Gorodetsky, E., Hodgkinson, C., Goldman, D. (2012). Functional Genetic Variants that Increase Synaptic Serotonin and 5-HT₃ Receptor Sensitivity Predict Alcohol and Drug Dependence. *Molecular Psychiatry*, *16*(11), 1139–1146.

Eun, T. K., Jeong, S. H., Lee, K. Y., Kim, S. H., Ahn, Y. M., Bang, Y. W., Joo, E. J. (2016). Association between the 5-HTTLPR genotype and childhood characteristics in mood disorders. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, *14*(1), 88–95.

Farran, A., Zamora, R., & Cervera, P. (2004). Tablas de composición de alimentos del CESNID. *McGraw-Hill/Interamericana de España - Edicions UB*. Barcelona.

Gatt, J. M., Burton, K. L., Williams, L. M., & Schofield, P. R. (2014) Specific and common genes implicated across major mental disorders: A review of meta-analysis studies. *Research in Developmental Disabilities*, *60*, 1-13. doi: 10.1016/j.jpsychores.2014.09.014

Goldman, N., Gleit, D. A., Lin, Y.-H., & Weinstein, M. (2011). The Serotonin Transporter Polymorphism (5-HTTLPR): Allelic Variation and Links with Depressive Symptoms. *Depression and Anxiety*, *27*(3), 260–269.

Goyette, C. H., Conners, C. K., Ulrich, R. F. (1978). Normative data on revised Conners Parent and Teacher Rating Scales. *Journal of Abnormal Child and Psychology*, *6*(2), 221–236.

Guendelman, S., Medeiros, S., & Rampes, H. (2017). Mindfulness and emotion regulation: Insights from neurobiological, psychological, and clinical studies. *Frontiers in Psychology*, *8*(3). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00220>.

Grevet, E. H., Marques, F. Z. C., Salgado, C. A., Fischer, A. G., Kalil, K. L., Victor, M. M., ... Bau, C. H. (2007). Serotonin transporter gene polymorphism and the phenotypic heterogeneity of adult ADHD. *Journal of Neural Transmission*, *114*(12), 1631–1636.

Hu, X., Lipsky, R., Zhu, G., Akhtar, L.A., Taubman, J., Greenberg, B. D., ... Goldman, D. (2006). Serotonin Transporter Promoter Gain-of-Function Genotypes Are Linked to Obsessive-Compulsive Disorder, *American Journal of Human Genetics*, *78*(5), 815–826.

Johann M, Bobbe G, Putzhammer A, Wodarz N (2003) Comorbidity of alcohol dependence with attention-deficit hyperactivity disorder: differences in phenotype with increased severity of the substance disorder, but not in genotype (serotonin transporter and 5-hydroxytryptamine-2receptor). *Alcoholism Clinical and Experimental Research* *27*: 1527–1534

Kent, L., Doerry, U., Hardy, E., Parmar, R., Gingell, K., Hawi, Z., Kirley, A., Lowe, N., Fitzgerald, M., Gill, M., Craddock, N.(2002) Evidence that variation at the serotonin transporter gene influences susceptibility to attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): Analysis and pooled analysis. *Molecular Psychiatry* *7*(908), 912-917

Kiive, E., & Harro, J. (2013). The effect of serotonin transporter gene promoter polymorphism on adolescent and adult ADHD symptoms and educational attainment: A longitudinal study. *European Psychiatry*, *28*(6), 372–378.

Lee, Y. H., & Song, G. G. (2015). Meta-Analysis of Case-Control and Family- Based Associations Between the 5-HTTLPR L / S Polymorphism and Susceptibility to ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 1–8. <http://doi.org/10.1177/1087054715587940>

Lesch, K. P. & Mössner, R. (1998). Genetically driven variation in serotonin uptake: Is there a link to affective spectrum, neurodevelopmental, and neurodegenerative disorders? *Biological Psychiatry*, 44(3), 179–192.

Masi, G., Pisano, S., Milone, A., & Muratori, P. (2015). Child behavior checklist dysregulation profile in children with disruptive behavior disorders: A longitudinal study. *Journal of Affective Disorders*, 186, 249–253.

Michielsen, M., Comijs, H. C., Smeijjn, E. J, et al. (2013). The comorbidity of anxiety and depressive symptoms in older adults with attention-deficit/hyperactivity disorder: A longitudinal study. *Journal of Affective Disorder*. 148(2-3):220-227.

Polanczyk, G. V., Salum, G. A., Sugaya, L. S., Caye, A., Rohde, L. A. (2015). Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*. 56(3), 345–65.

Retz, W., Thome, J., Blocher, D., Baader, M., Rosler, M. (2002). Association of attention deficit hyperactivity disorder-related psychopathology and personality traits with the serotonin transporter promoter region polymorphism. *Neuroscience Letter* 319: 133–136

Rodríguez, I. T., Ballart, J. F., Pastor, G. C., Jordà, E. B., & Arija, V. (2008). Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez, *Nutrición Hospitalaria*, 23(3), 242–252.

Shaw, P., Stringaris, A., Nigg, J., & Leibenluft, E. (2014). Emotional dysregulation and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 171(3), 276–293.

Spencer, T. J., Faraone, S. V., Surman, C. H., Petty, C., Clarke, A., Batchelder, H., & Wozniak, J. (2011). Towards Defining Deficient Emotional Self Regulation in Youth with Attention Deficit Hyperactivity Disorder Using the Child Behavior Check List : A Controlled Study. *Postgraduate Medical Journal*, 123(5), 50–59.

Ulloa, R. E., Ortiz, S., Higuera, F., Nogales, I., Fresán, A., Apiquian, R.,...de la Peña, F. (2006). Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School- Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [in Spanish]. *Actas Españolas de Psiquiatria*, 34(1), 36–40.

Weissenberger, S., Ptacek, R., Klicperova-Baker, M., Erman, A., Schonova, K., Raboch, J., & Goetz, M. (2017). ADHD, lifestyles and comorbidities: A call for an holistic perspective - From medical to societal intervening factors. *Frontiers in Psychology*, 8(3), 1–13. doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00454

Wendland, J. R., Martin, B. J., Kruse, M. R., Lesch, K. P., & Murphy, D. L. (2006). Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Molecular Psychiatry*, 11(3), 224–226.

Wodarz, N., Lange, K., Laufkotter, R., Johann, M. (2004). ADHD and alcohol dependence: a common genetic predisposition? *Psychiatry Praxis* 31:S111–S113.

Table 1. General characteristics of the total population studied.

ADHD Children and adolescents (n=54)	
Age, years	9.3± 2.8
Gender, % male (n)	57.4 (31)
Height, m/ Weight, kg	1.4 ± 0.1/ 38.1± 16.1
BMI, kg/m ² (BMI Z-Score)	19.6 ± 4.4 / 07 ± 1.0
Body weight status, % (n) ^a	
Normal weight, % (n)	53.7 (29)
Overweight, % (n)	27.8 (15)
Obesity, % (n)	18.5 (14)
Physical activity level, kcal/day	1250.2 ± 799.5
<i>Dietary intake</i>	
Total energy, kcal/day	1633.1± 380.3
Carbohydrates, g/day	201.8 ± 48.5
Protein, g/day	76.1± 16.6
Fat, g/day	57.9 ± 17.5
<i>Genotypes (n, (%))</i>	
LL (L _A L _A ; L _G L _A ; L _G L _G)	23 (42.6)
LS (S _L A)	23 (42.6)
SS (S _S , S _L G)	8 (14.8)
Child Behavior Checklist- Syndrome scales score	
Anxious Depressed	61.6 ± 7.1
Withdrawn/Depression	59.3 ± 7.9
Somatic Complaints	61.6 ± 7.6
Social problems	62.4 ± 6.6
Thought Problems	59.8 ± 7.7
Attention Problems	72.1 ± 9.4
Rule-Breaking Behavior	60.1 ± 7.1
Aggressive Behavior	65.6 ± 9.1
Internalizing Problems	61.9 ± 10.2
Externalizing Problems	63.4 ± 8.6
Emotional Dysregulation^b.	199.3± 18.7

^aData are shown mean (SD), unless otherwise indicated; ^aClassified according to the guidelines of the IOTF.

^bCalculated based on CBCL (Syndrome scales scores) parameters: anxiety, attention and aggressiveness.

Figure 1. SLC6A4 genotypes associate with internalizing and externalizing symptoms in ADHD patients. A dominant model to the concluding analyses for SLC6A4 was performed. We adjusted analyses for potential confounders including sex and age.

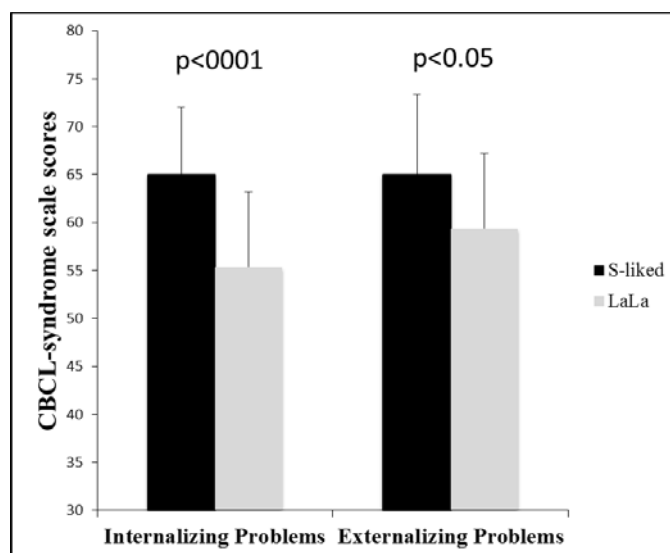


Figure 2. Figure 2. SLC6A4 genotypes associate with psychopathology comorbidities measured by emotional dysregulation, assessed using the sum of t-scores of anxious/depression, attention problems and aggressive behaviors (AAA) scales in ADHD children and adolescents. A dominant model to the concluding analyses for SLC6A4 was performed. The S-like carriers showed more emotional dysregulation than homozygote carriers of the major allele (L_AL_A). We adjusted analysis for potential confounders including sex and age.

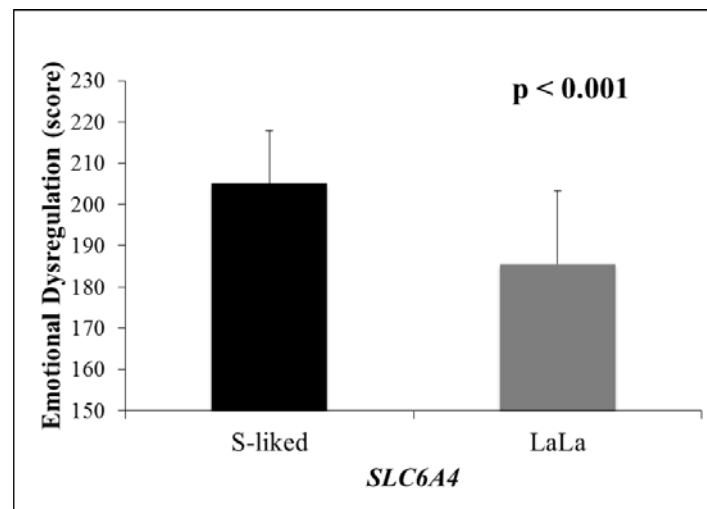
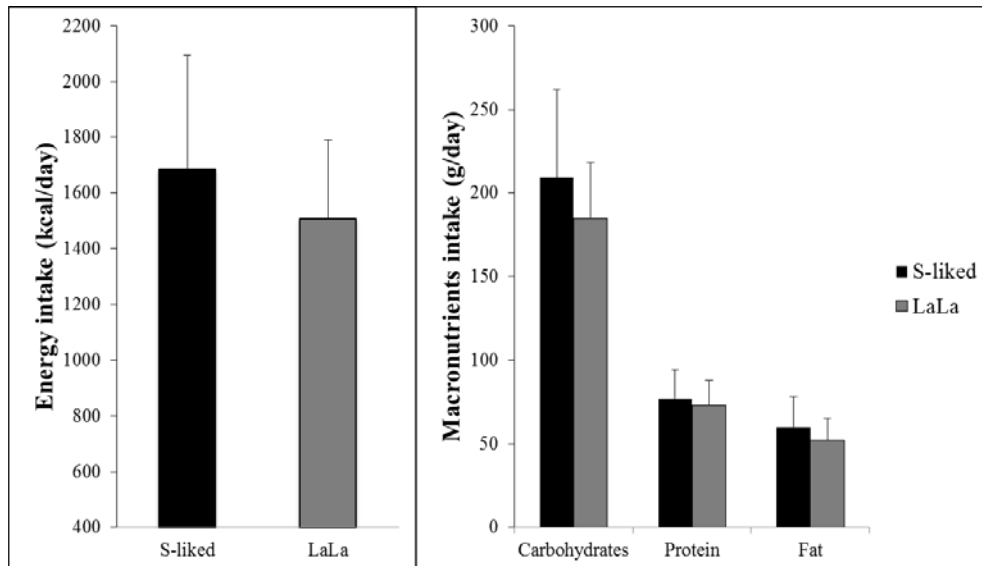


Figure 3. SLC6A4 genotypes and energy and dietary intakes in ADHD patients. We adjusted analysis for potential confounders including sex and age.



4.5 Iron and ferritin serum levels associates with behavioral symptoms and cognitive abilities in children and adolescents with ADHD.

Ríos-Hernández A^{1*}; Carpio-Arias, TV^{1,2*}; Farran-Codina, A^{1,2}; Ferreira-García, E^{3,4};
Alda JA^{3#}; Izquierdo-Pulido, M^{1,2,5#}

¹ Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy. University of Barcelona, Spain; ² Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentaria (INSA), University of Barcelona, Spain; ³ADHD Unit, Child and Adolescent Psychiatry Department, Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain; ⁴ Department of Personality, Evaluation and Psychological Treatment, University of Barcelona, Spain; ⁵CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Dr. Alda and Dra. Izquierdo-Pulido are share senior authorship.

* Both authors contributed equally.

Corresponding author: Dra. M Izquierdo-Pulido, Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain. Telephone number: +34 934034839. E-mail: maria_izquierdo@ub.edu

Abstract:

Objective: To examine associations between different iron deficiency parameters and behavioral symptoms and cognitive abilities in children and adolescents newly diagnosed with ADHD (naive). **Method:** 120 children and adolescents (60 ADHD and 60 controls, sex- and age-matched control study) completed: ADHD-RS-IV, K-SADS-PL, CPRS-R:S, CTRS, CBLC, and WISC-IV questionnaires and their iron status was determined. Relationships were investigated with multiple linear regression analysis. **Results:** Lower iron serum levels were associated with higher scores of hyperactivity while both lower iron serum and ferritin levels were related with higher scores of inattention ($p < 0.05$). Moreover, lower IQ ($p = 0.02$), working memory ($p < 0.001$) and processing speed ($p = 0.013$) were also associated with lower iron stores. None of these associations were observed in controls. **Conclusion:** Results suggest that iron stores might be important in hyperactivity and inattention symptoms and in cognitive functions in ADHD subjects. ADHD children may benefit from iron supplementation but further investigations are needed.

Keywords: ADHD, iron and ferritin, behavioral symptoms, cognitive abilities

Introduction

Attention deficit hyperactive disorder (ADHD) is characterized by continuous inattention, impulsivity and/or hyperactivity-impulsivity behaviors. Moreover, the comorbidity with other disruptive behaviors, antisocial activities, and cognitive impairments is quite common (Singh, 2012; Wang, Huang, Zhang, Qu, & Mu, 2017). The etiology of ADHD remains unknown, although several contributing factors have been acknowledged, including diet (Stevenson, Buitelaar & Buitelar, 2014). It has been found that ADHD patients show a tendency to have a poor quality diet, which could cause certain fatty acid, mineral or vitamin deficiencies (Lange, 2017; Pelsser, Frankena, Toormans, & Rodríguez, 2017; Ríos-Hernández, Alda, Farrán-Codina, Ferreira-García, & Izquierdo-Pulido, 2017). Of these nutritional factors, iron has attracted more attention as iron deficiency might lead to ADHD symptoms via its impact on the metabolism of dopamine, since this mineral is a coenzyme of tyrosine hydroxylase, a critical step in dopamine and other catecholamine synthesis (Konofal, Lecendreux, Arnulf, & Mouren, 2004).

To date, several studies have demonstrated that children with ADHD have low iron levels, usually reported as low ferritin levels, this circumstance could affect cognitive development and behavioral problems in children (Konofal, Lecendreux, Arnulf, & Mouren, 2004; Oner et al., 2010; Wang, Huan, Zhang, Qu, & Mu, 2017). However, these relationships between iron status and pathophysiology of ADHD are not fully confirmed (Millichap, Yee, & Davidson, 2006; Menegassi et al., 2010).

Due to the controversial evidence on the relation of iron status and ADHD comorbidities, the aim of the present case-control study was to examine the association between different iron deficiency parameters and behavioral symptoms and cognitive indicators measured with a battery of ADHD specific diagnostic instruments in children and adolescents newly diagnosed with ADHD (naive). Besides the traditional parameters of iron deficiency, we selected other variables such as mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin concentration or red cell distribution, which also inform about the iron status of individuals. We hypothesized that a low iron status levels would be associated with an increased in the severity of ADHD associated behaviors and with cognitive problems.

Methods

Participants

Sixty children and adolescents (ages 6-16 years) newly diagnosed with ADHD (naive, no pharmacological treatment) and 60 sex- and age- matched controls participated. Cases were recruited at the ADHD Unit of the Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology of the Hospital of *Sant Joan de Deu* in Barcelona (Spain) and they were diagnosed for the first time and had never evaluated for psychiatric disorders or treated with psychopharmacological medicine. The ADHD diagnosis was performed according to the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th ed.; DSM-V American Psychiatric Association, 2013)*. The ADHD Rating-Scale-IV (ADHD RS-IV) for parents was used as screening for the diagnosis of ADHD (DuPaul, Power, Anastopoulos, & Reid, 1998). The Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-Present and Lifetime version (K-SADS-PL) was also used to confirm the ADHD diagnosis and other comorbidities (Ulloa et al., 2006). Exclusion criteria were: IQ<70, autism spectrum disorder, psychosis, developmental disorders, any ADHD drug treatment or nutrient (mineral/vitamin) complement. Controls were recruited from the ADHD patients' classmates (40%) and from patients attending in other hospital services (60%) (i.e. minor surgery ambulatory, etc.). Controls were screened for the absence of ADHD symptoms and the same exclusion criteria were applied also to controls. The study was approved by the Ethical Committee of the Hospital of *Sant Joan de Déu* (Barcelona, Spain). Written informed consent was obtained from participant's parents, and verbal assent from the participants. Participants also underwent a physical examination, including height and weight.

Behavioral measures

Conners Parents Rating Scale-Revised (Short Version) (CPRS-R:S) (Conners, Sitarenios, Parker, & Epstein, 1998) evaluates behavior of children assessed by their parents. The scale includes: inattentiveness, hyperactivity domains, oppositional behavior and ADHD index.

Conners Teacher Rating Scale (CTRS) (Goyette, Conners, & Ulrich, 1978) rates classroom behavior of children as assessed by teacher. It includes three subscales of: inattentiveness, hyperactivity and oppositional behavior.

Child Behavior Checklist of parents (CBCL) (Achenbach, 1999) is a 113-item broad-spectrum scale for the assessment of externalizing and internalizing problems by parent's

ratings for ages from 4 to 18 years. Standard scores ≥ 70 suggest clinical symptoms. The scale includes eight different categories: anxious/depressed, withdrawn/depressed, somatic complaints, social problems, thought problems, attention problems, rule-breaking behavior, and aggressive behavior.

Cognitive measures

Wechsler Intelligence Scale for Children-IV (WISC-IV) (Wechsler, 2005) is an intelligence test for children between 6 and 16 years old. It consists of 15 tests grouped in four index scores: a) Verbal comprehension index; b) Perceptual reasoning index; c) Working memory index, and d). Processing speed index. A total Intelligence Quotient (IQ) is also given.

All questionnaires are validated for Spanish population.

Assessment iron status

Morning fasting blood samples were obtained by venipuncture in the forearm of each participant. Values of the different iron status parameters: iron, ferritin, transferrin, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MHC), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and red cell distribution (RDW) were determined in the Laboratory of Biochemistry of the Hospital *Sant Joan de Déu* (Barcelona).

Statistical analyses

Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) whereas categorical variables were expressed as percentage. Differences in continuous variables were compared using the Student's T test. Categorical variables were compared using the χ^2 test. Multiple regression was used in order to evaluate the effects of age, gender, BMI, iron blood parameters and comorbid conditions, behavioral symptoms and cognitive measures. Model fit in the regression analysis was evaluated using Durbin-Watson test. Analyses were performed using the SPSS 21.0 statistical software package (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA) and a $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

Results

ADHD patients showed an average value of ADHD-RS (DMS-IV) of 32.4 (11.3) and the K-SADS-PL confirmed the diagnosis of all the cases. In regard to comorbid diagnoses, 33.3% of ADHD patients met cut-off criteria for oppositional defiant disorder (ODD), 23.3% for anxiety, 3.3% for conduct disorder (CD) and 1.7% for depression. The baseline characteristics of cases and controls are shown in Table 1.

Behavioral and cognitive measures. Consistent with the diagnosis-based expectations, statistically differences between cases and controls in ADHD symptoms were found on both clinical scores and questionnaires (Table 1). Moreover, children and adolescents with ADHD showed more behavior problems than controls, which often co-occurring with ADHD, such as social problems, aggressive behavior or rule-breaking behavior in basis of the results of the Child Behavior Checklist (CBLIS), as it is shown in Table 1. There were also statistically significant group differences in terms of verbal comprehension, perceptual reasoning, working memory, speed processing and IQ (WISC total score) as is summarized in Table 1.

Iron serum status. Data on the different parameters to assess the iron status are shown in Table 2. When compared with controls, children and adolescents with ADHD had significantly lower levels of MHC, MCHC and RDW. No other differences were found, although cases showed slightly lower plasma concentrations of iron and ferritin but were not statistically significant.

Ferritin and iron serum levels are associated with behavioral symptoms in children and adolescents with ADHD. In patients with ADHD, hyperactivity measured with ADHD-RS and CPRS tests were significantly related with iron serum levels and remained significant after adjusting for potential confounding variables: age, sex and BMI (Figure 1, A & B). Moreover, inattention CTRS scores were correlated negatively with iron and ferritin serum levels (Figure 1, C & D). Those associations remained significant after adjusting for potential confounding variables. Therefore, ADHD subjects with lower iron serum levels showed higher scores of hyperactivity, indicating more severe problems of hyperactivity and ADHD patients with lower levels of iron or ferritin showed higher scores of inattention. None of these associations were found in the controls. Values of MVC were negatively associated with ADHD-RS hyperactivity ($\beta=-0.75$ 95%IC= -1.28;-0.21, $p=0.007$), but the association did not remain significant after adjusting for confounding variables.

Serum iron levels are associated with global intelligence quotient and working memory in children and adolescents with ADHD. Lower intellectual quotient and working memory scores in children and adolescents with ADHD were associated with lower levels of serum iron (Figure 2). Moreover, values of MCHC were positively associated with processing speed ($\beta=3.7$ 95%IC=0.80; 6.60, $p=0.013$), remaining significant after adjusting for confounding variables. None of these associations were found in controls.

On the other hand, none of the other parameters related to iron status (ferritin, hemoglobin, hematocrit, MCV, MHC, and RDW) was significantly related with WISC scores.

Discussion

Our case-control study demonstrated, for the first time and to our knowledge, that children and adolescents with ADHD with lower levels of iron stores (serum iron and MCHC) had significantly lower scores of intellectual quotient, working memory and processing speed. Those associations were not observed in the controls. Moreover, the study is further enhanced by the findings that ADHD children and adolescents with lower iron levels (both serum iron and ferritin levels) have more severe symptoms of hyperactivity and inattention on three different scales: ADHD-RS, CPRS and CTRS. These results suggest that low iron stores, even if not associated with strictly iron deficiency or anemia, may contribute not only to the ADHD symptoms but also to the cognitive performance.

With regard of cognitive performance, and although there is no typical cognitive profile of ADHD patients, it has been observed in these subjects to have a low working memory and processing speed even if they have a normal total IQ (Claesdotter, Cervin, Akerlund, Rastam, Lindvall, 2017; Krieger & Amador-Campos, 2017). Konofal, Lecendreux, Arnulf & Mouren, (2004) found a significant correlation between cognitive subscores on the CPRS and low ferritin levels in children with ADHD, while Oner et al. (2008) did not find any significant relationship among ferritin and other iron deficiency parameters with cognitive variables using different test battery, among them the WISC-Revised.

Many nutrients have been related to brain function, although, iron has been one of the most studied because of its critical role in the dopaminergic neurotransmission, brain energy metabolism, and myelination (Wigglesworht & Baum, 1998; Beard, 2003). Iron deficiency, even without anemia, has been clearly associated to cognitive impairment, both in children and adults (Grantham-McGregor & Ani 2001; Halterman, Kaczorowski, Aligne, Auinger, & Szilagyi, 2001; Scott & Murray-Kolb, 2016). Moreover, lower score on mental and motor test has also been reported in children in relation with iron status (Grantham-McGregor & Ani 2001; Halterman, Kaczorowski, Aligne, Auinger, & Szilagyi, 2001). Surprisingly, no studies have investigated the relationship between iron levels and cognition in children with ADHD given the importance of this micronutrient in this pathology. It has been observed that ADHD patients have poorer cognition and

school achievement and more difficulties in tasks, which require planning, organization and problem solving (Jakobson & Kikas 2007; Klenberg, Hokkanen, Lahti-Nuuttila, & Narhi, 2016). However, to date and to our knowledge, there are not studies evaluating the effect of iron supplementation on processing speed or working memory in patients with ADHD.

On the other hand, the relationship between ferritin levels and CPRS and CTRS ratings has been investigated by several authors (Oner, Oner, Azik, Cop, & Munir, 2012; Percinel, Yazici, & Ustundag, 2016). They agreed that children with lower ferritin levels showed higher hyperactivity scores. Consistent with those previous studies, we have also found a significant correlation between low levels of serum iron, no with serum ferritin levels, and hyperactivity using two scales (ADHD-RS and CPRS). We have extended their findings because we have also found significant associations between lower serum iron and ferritin levels and higher inattention scores on the CTRS. Konofal, Lecendreux, Arnulf, & Mouren, (2004) concluded that children with the most severe iron deficiency were the most inattentive, impulsive, and hyperactive. However, it should be note that some studies have not shown significant relationship between serum ferritin and the severity of ADHD symptoms (Millichap, Yee, & Davidson, 2006; Donfrancesco et al., 2013).

The implication of iron on the ADHD pathophysiology has been widely discussed (Beard, 2003). Iron is a coenzyme of tyrosine hydroxylase, which is involved in dopamine synthesis, and it is also related with monoamine oxidase, which is critical for the degradation of dopamine (Beard, 2003). Also, iron deficiency is associated with decreased dopamine transporter expression and this deficiency may lead to dysfunction in the basal ganglia (Wigglesworth & Baum, 1998; Donfrancesco et al., 2013). Low plasma levels of ferritin have been reported in children with ADHD (Konofal, Lecendreux, Arnulf, & Mouren, 2004; Cortese, Angriman, Lecendreux, & Konofal, 2012; Bener, Kamal, Bener, & Bhugra, 2014; Wang, Huang, Zhang, Qu, & Mu, 2017), although those lower serum ferritin levels not have been observed always, since several studies have reported no differences between ADHD patients and healthy control cases in terms of serum ferritin levels (Menegassi et al., 2010; Kwon et al., 2011; Donfrancesco et al., 2013; Percinel, Yazici, & Ustundag, 2016). Our results are consistent with these latter studies since no significant differences were observed in the majority of iron store parameters between cases and controls. Donfrancesco et al., (2013) stated that normal

ferritin levels should not suggest that iron deficiency is not involved in the pathophysiology of ADHD. Indeed, serum ferritin is a marker of peripheral but not of the brain iron status, where iron is necessary as a cofactor. The extent to which serum ferritin correlates with iron levels in the brain remains unclear. On the other hand, the iron supplementation received by ADHD children seems to improve significantly on ADHD symptomatology but the results are still not conclusive (Hariri & Azadbakht 2015). Our results support the assumption that iron status may play a role in the pathophysiology of ADHD. Therefore, iron status should be included in the overall evaluation of children with ADHD.

Strengths and Limitations

Some limitations of our design and methods should be acknowledged, since the design of our study prevents our ability to assess cause-and-effect associations. Nonetheless, this study has several important strengths, including the fact that all the cases included were naïve, taking no medication. It has been suggested that the use of certain drugs, especially the psychostimulants used in the treatment of ADHD, may reduce dietary intake through the loss of appetite or affecting the children food choices (Pozzi et al., 2013), and therefore the blood iron status may be affected.

Conclusion

The present study implies that iron stores might be important in hyperactivity and inattention symptoms and in cognitive functions in children and adolescents with ADHD. The elucidation of these findings is considered to be important for both the etiology and treatment of ADHD. Our study adds to the findings that serum iron and ferritin levels seems to be related with ADHD symptoms and cognitive measures even after adjusting for confounding variables. Iron supplementation could be considered as a part of the treatment for ADHD children even though further controlled studies with large sample sizes on this issue are necessary.

Acknowledgements: The study was supported by a grant from the *Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación* (PI11/2009) from the *Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación*, Spain; Alejandra Ríos Hernández was supported by a scholarship from *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) of México and Tannia Valeria Carpio was supported by a scholarship from *Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación* (SENESCYT) of

Ecuador. We are grateful to Dr. Ramírez, Dr. Hernández and Dr. Serrano for their assistance with material collection and to the patients and families for their collaboration and implication.

Declaration of Conflicting Interests: The authors declared they had no conflicts of interests with respect to their authorship or the publication of this article.

References

- Achenbach, T. M. (1999). *The Child Behavior Checklist and related instruments*. Mahwa New Jersey. Lawrence Erlbaum Associates Publishers.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5 (5th ed.)*. American Psychiatric Association. Washington DC.
- Beard, J. (2003). Iron deficiency alters brain development and functioning. *The Journal of nutrition*, *133*(Suppl 1),1468S–1472S.
- Bener, A., Kamal, M., Bener, H., & Bhugra, D. (2014). Higher prevalence of iron deficiency as strong predictor of attention deficit hyperactivity disorder in children. *Annals of Medical Health Sciences Research*, *4*(Suppl 3), S291–S297.
- Claesdotter, E., Cervin, M., Akerlund, S., Rastam, M., & Lindvall, M. (2017). The effects of ADHD on cognitive performance. *Nordic Journal of Psychiatry*, *21*, 1-6.
- Conners, C. K., Sitarenios, G., Parker, J. D., & Epstein, J. N. (1998). The revised Conners' Parent Rating Scale (CPRS-R): factor structure, reliability, and criterion validity. *Journal of Abnormal Child Psychology*, *26*, 257–68.
- Cortese, S., Angriman, M., Lecendreux, M., & Konofal, E. (2012). Iron and attention deficit/hyperactivity disorder: What is the empirical evidence so far? A systematic review of the literature. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *12*, 1227–40.
- Donfrancesco, R., Parisi, P., Vanacore, N., Martines, F., Sargentini, V., & Cortese, S. (2013). Iron and ADHD: time to move beyond serum ferritin levels. *Journal of Attention Disorders*, *17*, 347–57.
- DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A.D., & Reid, R. (1998). *ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms and Clinical Interpretation*. New York, NY: The Guilford Press.
- Goyette, C. H., Conners, C. K. & Ulrich, R. F. (1978). Normative data on revised Conners Parent and Teacher Rating Scales. *Journal of abnormal child psychology*, *6*, 221–36.
- Grantham-McGregor, S., & Ani, C. (2001) A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *Journal of Nutrition*, *131*, 49–68.
- Halterman, J. S., Kaczorowski, J. M., Aligne, C. A., Auinger, P., & Szilagyi, P.G. (2001). Iron deficiency and cognitive achievement among school-aged children and adolescents in the United States. *Pediatrics*, *107*, 1381–6.
- Hariri, M., & Azadbakht, L. (2015). Magnesium, Iron, and Zinc Supplementation for the Treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Systematic Review on the Recent Literature. *International Journal of Preventive Medicine*, *6*, 83-100.

Jakobson, A., & Kikas, E. (2007) Cognitive functioning in children with and without Attention-deficit/Hyperactivity Disorder with and without comorbid learning disabilities. *Journal of Learning Disabilities*, 40, 194–202.

Juneja, M., Jain, R., Singh, V., & Mallika, V. (2010). Iron deficiency in Indian children with attention deficit hyperactivity disorder. *Indian pediatrics*, 47, 955–8.

Klenberg, L., Hokkanen, L., Lahti-Nuutila, P., & Narhi, V. (2016). Teacher Ratings of Executive Function Difficulties in Finnish Children with Combined and Predominantly Inattentive Symptoms of ADHD. *Applied Neuropsychology: Child*, 6, 305-314.

Krieger, V., & Amador-Campos, J.A. (2017) Assessment of executive function in ADHD adolescents: contribution of performance tests and rating scales. *Child Neuropsychology*, 18, 1-25.

Konofal, E., Lecendreux, M., Arnulf, I., & Mouren, M. (2004). Iron deficiency in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 158, 1113–1115.

Kwon, H. J., Lim, M. H., Ha, M., Kim, E. J., Yoo, S. J., Kim, J. W & Paik, K. C. (2011). Transferrin in Korean Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Psychiatry Investigation*, 8, 366-371.

Lange, K. W. (2017). Dietary factors in the etiology and therapy of attention deficit / hyperactivity disorder. *Plos One*, 20, 464–469.

Menegassi, M., De Mello, E. D., Guimaraes, L. R., Matte, B. C., Driemeier, F., Pedrosa, G. L.,..., Schmitz, M. (2010). Food intake and serum levels of iron in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32, 32–138.

Millichap, J. G., Yee, M. M. & Davidson, S.I. (2006). Serum Ferritin in Children With Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Pediatric Neurology*, 34, 200–203.

Oner, O., Alkar, O. Y., & Oner, P. (2008). Relation of ferritin levels with symptoms ratings and cognitive performance in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatrics International*, 50, 40-44.

Oner, P., Oner, O., Azik, F. M., Cop, E., & Munir, K. M. (2012). Ferritin and hyperactivity ratings in attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*, 54, 688–92.

Oner, O., Oner, P., Bozhurt, O., Odabas, E., Keser, N., Karadag, H., & Kizilgun, M. (2010). Effects of zinc and ferritin levels on parent and teacher reported symptom scores in attention deficit hyperactivity disorder. *Child psychiatry and human development*, 41, 441–447.

Pelsser, L. M., Frankena, K., Toormans, J., & Rodriguez P. (2017). Diet and ADHD, Reviewing the Evidence: A Systematic Review of Meta-Analyses of Double-Blind Placebo-Controlled Trials Evaluating the Efficacy of Diet Interventions on the Behavior of Children with ADHD. *Plos One*, 12(1): e0169277. doi:10.1371/journal.pone.0169277.

Percinel, I., Yazici, K. U. & Ustundag, B. (2016). Iron Deficiency Parameters in Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Child Psychiatry & Human Development*, 47, 259–269.

Pozzi, M., Bertella, S., Cattaneo, D., Molteni, N., Perrone, V., Carnovale, C.,..., Radice, S. (2013). Are Non-Serious Adverse Reactions to Psychiatric Drugs Really Non-Serious? *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 23, 394–400.

Ríos-Hernández, A., Alda, J. A., Farran-Codina, A., Ferreira-García, E., & Izquierdo-Pulido M. (2017). The Mediterranean Diet and ADHD in Children and Adolescents. *Pediatrics*.139, 2:e20162027. doi: 10.1542/peds.2016-2027.

Scott, S. P. & Murray-Kolb, L. E. (2016). Iron Status Is Associated with Performance on Executive Functioning Tasks in Nonanemic Young Women. *Journal of Nutrition*, 146, 30–37.

Singh, A. P. (2012) Cognitive Functions among Children with Attention Deficit Hyperactive Disorder (ADHD) & Emotional Disorders. *Delhi Psychiatry Journal*, 15, 148-159.

Stevenson, J., Buitelaar, J., & Cortese, S. (2014) Research review: the role of diet in the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder--an appraisal of the evidence on efficacy and recommendations on the design of future studies. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 55, 416–427.

Ulloa, R. E., Ortiz, S., Higuera, F., Nogales, I., Fresán, A., Apiquian, R., ... de la Peña, F. (2006) Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [in Spanish]. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 34, 36–40.

Wang, Y., Huang, L., Zhang, L., Qu, Y., & Mu, D. (2017) Iron Status in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos One* ,2(1): e0169145. doi:10.1371/journal.pone.0169145.

Wechsler, D. (2005) *Escala de Inteligencia de Wechsler para Niños – IV (WISC-IV) TEA Edición*, Madrid, Spain.

Wigglesworth, J. M. & Baum, H. B. (1998). Iron dependent enzymes in the brain. In: Youdim MB (ed) Brain iron: neurochemical and behavioral aspects. *Taylor and Francis*; New York, 25–66.

Table 1. General, anthropometric, behavioral and cognitive characteristics in subjects with attention deficit hyperactivity disorders (ADHD) and in control subjects ^a.

	Cases (ADHD) n=60	Controls n=60	p-value
General and anthropometrics characteristics			
Gender, %male (n)	56.7 (34)	56.7 (34)	---
Age, years	9.3 (2.8)	9.3 (2.8)	---
Height, cm	136.5 (16.8)	138.6 (17.3)	0.496
Weight, kg	38.1 (16.2)	36.4 (14.5)	0.536
Behavioral measures			
ADHD index (ADHD RS-IV)			
Inattention	18.1 (5.9)	2.5 (3.1)	<0.001
Hyperactivity	14.2 (7.6)	2.5 (3.0)	<0.001
Total	32.4 (11.3)	5.0 (5.2)	<0.001
Conners Parent Rating Scale-Revised (CPRS-R:S)			
Inattention	71.7 (11.7)	46.3 (6.5)	<0.001
Hyperactivity	69.5 (15.0)	47.4 (4.9)	<0.001
Oppositional	60.5 (13.9)	44.5 (6.1)	<0.001
Total	71.5 (9.9)	45.4 (4.9)	<0.001
Conners Teacher Rating Scale (CTRS)			
Inattention	58.6 (10.7)	46.3 (5.7)	<0.001
Hyperactivity	60.7 (14.0)	48.0 (7.5)	<0.001
Oppositional	56.6 (13.9)	48.7 (6.0)	<0.001
Total	64.2 (14.3)	47.6 (7.8)	<0.001
Child Behavior Checklist (CBCL Scales)			
Anxious - Depressed	62.2 (7.3)	54.7 (5.9)	<0.001
Withdraw - Depressed	59.4 (7.8)	54.1 (7.3)	<0.001
Somatic Complaints	62.2 (7.7)	56.0 (6.8)	<0.001
Social Problems	62.3 (6.5)	52.7 (3.7)	<0.001
Thought Problems	60.6 (7.7)	52.9 (4.5)	<0.001
Attention Problems	69.2 (7.1)	51.7 (3.5)	<0.001
Rule-breaking Behavior	60.5 (6.9)	52.1 (3.6)	<0.001
Aggressive Behavior	65.4 (8.8)	52.7 (4.1)	<0.001
Total	66.6 (6.1)	46.0 (10.9)	<0.001
Cognitive measures			
Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC)			
Verbal comprehension	103.0 (16.9)	117.6 (15.5)	<0.001
Perceptual reasoning	98.4 (12.9)	113.1 (14.5)	<0.001
Work memory	92.7 (14.9)	108.7 (14.5)	<0.001
Processing speed	98.1 (12.4)	110.1 (13.8)	<0.001
WISC total score	97.3 (13.4)	114.6 (17.6)	<0.001

^aData are shown mean (SD) except for gender that is expressed as % of male participants (number).

Table 2. Iron serum analytical parameters in subjects with attention-deficit hyperactivity disorder and in control subjects^a.

	Cases (ADHD) n=60	Controls n=60	p-value
Iron, µg/dl	80.1 (32.5)	85.4 (32.1)	0.366
Ferritin, µg/l	36.9 (21.7)	43.5 (38.2)	0.265
Transferrin, mg/l	266.2 (29.8)	265.7 (27.9)	0.922
Hemoglobin, g/dl	13.4 (0.8)	13.5(0.8)	0.690
Hematocrit, %	40.6 (2.3)	40.1 (2.4)	0.230
MCV ^b , fL	84.7(3.5)	84.9 (4.2)	0.742
MHC ^c , pg	27.9 (1.2)	28.5 (1.4)	0.018
MCHC ^d , g/dl	33.0 (1.1)	33.6 (0.9)	0.003
RDW ^e , %	13.3 (0.6)	13.0 (0.6)	0.011

^a Data are given in mean and standard deviation.; ^bMean corpuscular volume; ^cMean corpuscular hemoglobin; ^dMean corpuscular hemoglobin concentration; ^eRed cell distribution. Bold face representing statistical differences with p<0.05

Figure 1. Scatterplot depicting correlations between iron and ferritin serum levels and behavioral measures in subjects with ADHD.

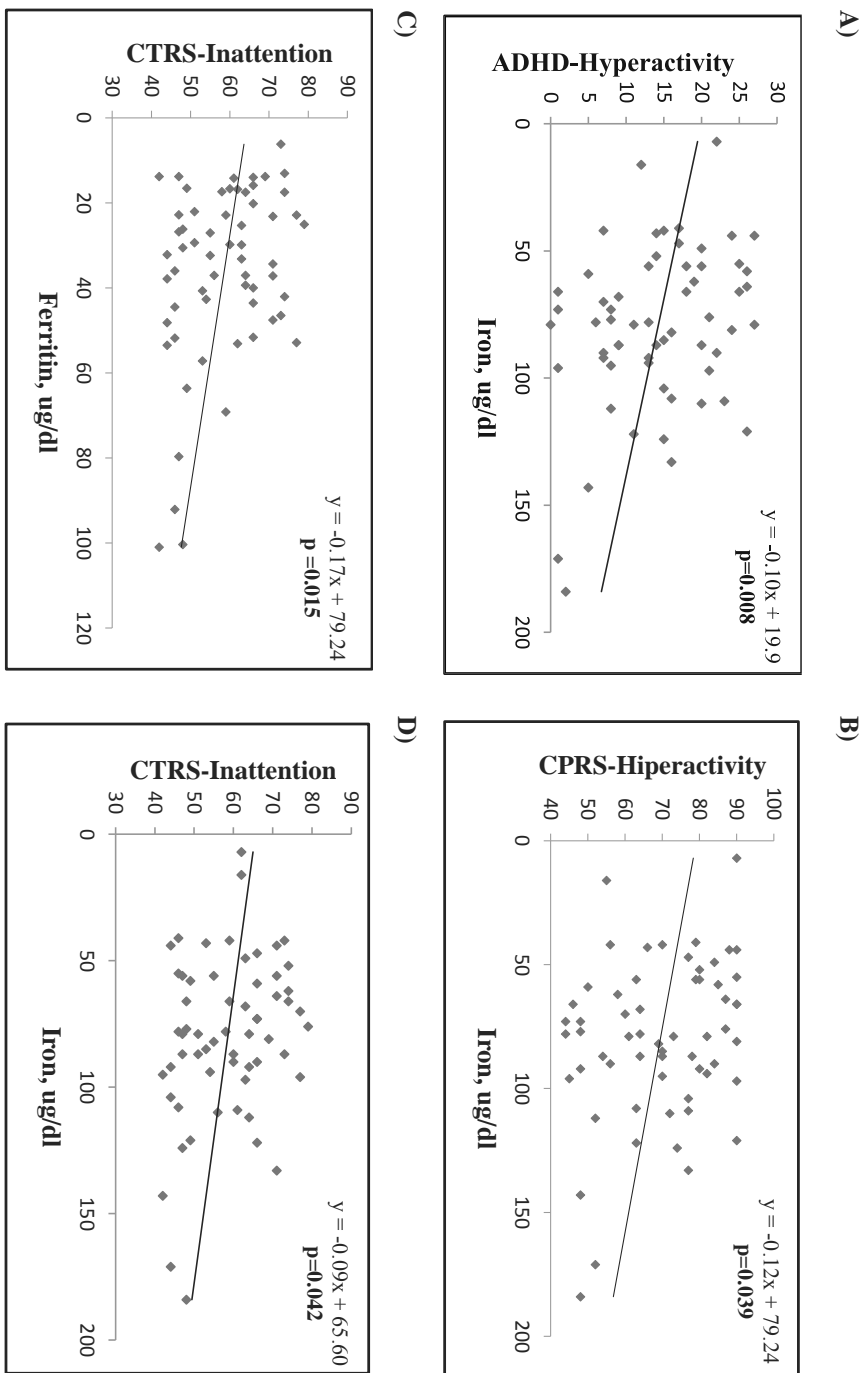
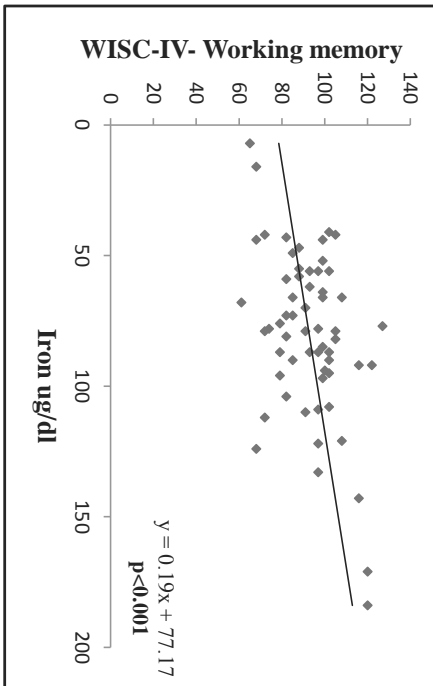
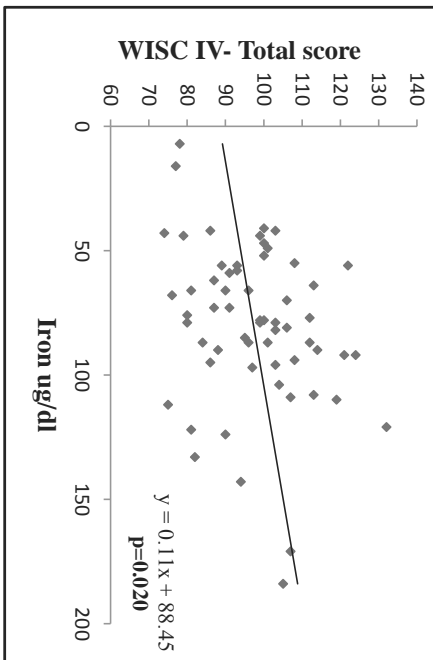


Figure 2. Scatterplot depicting correlations between iron serum levels and cognitive measures (Wechsler Intelligence Scale for Children) in subjects with ADHD.

A)



B)



5. Discusión

Aspectos (troubleshooting) Errores y Mitigaciones para Trastorno de Atención e Hiperactividad



5. **Discusión**

Esta tesis doctoral presenta los resultados obtenidos en un estudio de casos y controles realizado en el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona entre niños y adolescentes con TDAH y controles sanos. Los resultados obtenidos reflejan la importancia del abordaje multidisciplinario y contribuyen a la comprensión del impacto que pueden tener factores, que se pueden considerar novedosos, como son los ritmos circadianos, la alimentación y la variabilidad genética en la sintomatología y comorbilidades del TDAH. En esta sección, se resumirán los resultados de los manuscritos incluidos en esta tesis y se realizará una discusión conjunta de los resultados obtenidos.

En **primer lugar**, se abordará el impacto de las alteraciones de los ritmos biológicos en pacientes con TDAH, los cuales han sido considerados mediante tres análisis específicos: 1) Estudio de las alteraciones de los ritmos circadianos de la actividad motora y sus implicaciones en la sintomatología y en el peso corporal de los pacientes de nuestro estudio; 2) Análisis de la influencia de la intensidad de la luz en los ritmos circadianos de actividad motora en nuestros pacientes, y 3) Estudio de la influencia de la dieta en la calidad y alteraciones del sueño, el cual también se considera como un parámetro de la salud circadiana. En **segundo lugar**, se revisará la asociación entre el polimorfismo del receptor de la serotonina (5-HTTLPR) y los síntomas internalizantes y externalizantes en pacientes con TDAH. Las posibles implicaciones de este polimorfismo sobre el peso y la ingesta de alimentos también serán discutidas. En **tercer lugar**, y por último, se abordarán las relaciones potenciales entre los nutrientes de la dieta, específicamente el hierro y la sintomatología y habilidades cognitivas en niños y adolescentes con TDAH.

5.1 Estudio cronobiológico de la actividad motora en niños y adolescentes con TDAH.

5.1.1 Patrones circadianos de la actividad motora en población pediátrica con TDAH.

En un reciente meta análisis, se ha concluido que el TDAH está asociado con diversas alteraciones en los ritmos circadianos entre las que se puede destacar: tendencia a un cronotipo nocturno, retrasos y problemas en el inicio del sueño y alteraciones en la secreción de melatonina (Coogan & McGowan, 2017). Se ha señalado que estas alteraciones de la salud circadiana podrían estar relacionadas con la gravedad de la sintomatología del TDAH y con varias de sus características clínicas (MacGowan *et al.*, 2016). Así, Voinescu *et al.* (2012) demostró que el cronotipo nocturno se asociaba con mayores índices de inatención en pacientes con TDAH, mientras que Hastings *et al.* (2009) encontró que las alteraciones circadianas de secreción de cortisol se asociaban con un comportamiento menos adaptativo y mayores niveles de ansiedad en pacientes con este trastorno. Además, varios estudios han examinado asociaciones con polimorfismos de los genes, denominados genes reloj, que controlan el sistema circadiano en pacientes con TDAH (Xu *et al.*, 2010; Cao *et al.*, 2012; Mogavero *et al.*, 2016).

Por último, el estudio del peso corporal y el sistema circadiano han sido analizados en las últimas décadas con sorprendentes hallazgos. Estas investigaciones muestran una estrecha relación entre las alteraciones de los ritmos circadianos definidas como “cronodisrupción” y mayores índices de sobrepeso y obesidad. (Bandín *et al.*, 2015; Ruíz-Lozano *et al.*, 2016). No obstante, las asociaciones entre el peso corporal y los ritmos circadianos en pacientes con TDAH han sido escasamente abordadas.

Acorde a estos hallazgos, nos planteamos en nuestro *primer trabajo*, evaluar las alteraciones de los ritmos circadianos de la actividad motora en pacientes con TDAH versus pacientes sanos. Seguidamente, se estudiaron las alteraciones de estos ritmos con la sintomatología y el estado de peso corporal de los niños y adolescentes de nuestra muestra de estudio.

Nuestros resultados mostraron en primer lugar, *que los sujetos con TDAH, en global, presentan una actividad motora significativamente más alta respecto a los sujetos control.*

Se evidenció que la actividad circadiana de los sujetos con este trastorno, comparada con los sujetos control, mostraba un desplazamiento hacia la derecha, o en otras palabras, una tendencia a valores más altos de actividad durante la tarde-noche. Estos resultados concuerdan con un estudio realizado en pacientes adultos con TDAH y mediciones de actimetría durante 6 días. En concreto, los autores demostraron que los pacientes con este trastorno mostraban patrones de actividad con un mayor desplazamiento hacia la noche (Fasmer *et al.*, 2015). La preferencia a los horarios nocturnos ha sido definida como cronotipo nocturno y se ha podido determinar que los pacientes con TDAH suelen presentar una mayor proporción de este cronotipo (Rybak *et al.*, 2007; Baird *et al.*, 2012; Voinescu *et al.*, 2012; Durmus *et al.*, 2017).

En segundo lugar, se pudo demostrar que *los niños y adolescentes con TDAH pero clasificados en el subtipo TDAH-Combinado (que incluía también a 5 casos de hiperactivos-impulsivos) presentaron valores más altos de actividad motora respecto a los TDAH-Inatentos y a los controles*. Además, se observó una actividad motora estadísticamente significativa mayor en los TDAH-Combinados en el periodo de máxima actividad (M10) respecto a los TDAH-Inatentos y controles. Los TDAH-Combinados también mostraban una mayor actividad en el periodo presumiblemente de sueño o de menor actividad (L5) que el resto de sujetos, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En la misma línea, los TDAH-Combinados mostraron nuevamente diferencias significativas durante el último segmento de la noche (de 18:00h a 22:00h) y con una acrofase (tiempo del máximo valor de actividad) 30 minutos (aprox.) más alta respecto a los TDAH-Inatentos y los sujetos control. La mayor actividad durante el segmento vespertino-nocturno podría estar relacionada con trastornos del sueño, que son comunes en pacientes con TDAH (Chamorro *et al.*, 2017).

Un estudio realizado en población pediátrica con este trastorno mostró también una mayor actividad durante la tarde en los TDAH que en los sujetos control. No obstante, en este mismo estudio no se pudo determinar diferencias entre subtipos de TDAH y actividad motora (Dane, 2000). Cabe destacar que en este estudio los pacientes sólo llevaron puesto el actímetro un día (sin la noche) mientras que en nuestra investigación, los sujetos de estudio

llevaron el actímetro 7 días consecutivos, durante los cuales solamente se lo quitaban para bañarse o ducharse.

En base a nuestros resultados, y siendo conscientes de la necesidad de estudios más amplios, que incluyan otras variables circadianas como la determinación de la temperatura periférica, el cortisol o la melatonina, se podría plantear el uso de la actigrafía en sujetos con TDAH como herramientas para el diagnóstico de este trastorno. No obstante, su interpretación debe ser tomada con cautela, dado que el ritmo motriz no delinea procesos circadianos endógenos ni factores ambientales ni tampoco la interacción entre estos.

En tercer lugar, se observó que los ***TDAH-Inatentos presentaron un peso corporal más alto (medido tanto por IMC como por IMC-zscore) respecto a los sujetos con TDAH-Combinado y a los controles***. En base a la literatura revisada, es la primera vez que se informa de diferencias en el peso de los individuos en función del subtipo de TDAH. Cabe destacar que en todos los casos, los niños y adolescentes fueron naives, es decir sin tratamiento farmacológico, con lo que se descarta la posible influencia de la medicación en su peso. Se desconocen cuáles son los mecanismos que pueden explicar por qué los sujetos con este trastorno presentan valores de IMC mayor que los sujetos sanos. Se ha indicado que la impulsividad y la falta de atención que caracterizan al TDAH puede conducir a patrones de alimentación desregulados con el consiguiente aumento de peso (Cortese & Tessari, 2017). Un estudio previo, realizado por nuestro grupo de investigación, demostró una relación entre una baja adherencia a la dieta mediterránea y un aumento en el diagnóstico de TDAH, pero no se pudo encontrar relación entre peso de los individuos y calidad de la dieta (Ríos-Hernández *et al.*, 2017).

Finalmente, en nuestro conjunto de datos, ***los pacientes con TDAH (en general) y TDAH-Combinado mostraron una correlación positiva entre el puntaje de síntomas de hiperactividad y la cantidad de actividad en las 5 h menos activas (L5)***, lo que sugiere que una mayor actividad, que probablemente esté relacionada con un mayor grado de alteraciones del sueño, aumenta la gravedad de la sintomatología de la hiperactividad en pacientes con TDAH. Al respecto es bien conocido que las alteraciones del sueño son comunes en pacientes con este trastorno (Chamorro *et al.*, 2017).

Varios estudios destacan que la desalineación de los ritmos circadianos, así como el descanso insuficiente, son factores de riesgo modificables para el desarrollo de sobrepeso y obesidad en la población general (Broussard y Van Cauter, 2016). En base a estas evidencias, se planteó la hipótesis que una posible causa de un mayor IMC en los sujetos TDAH inatentos podría ser resultado de alteraciones en sus ritmos circadianos. No obstante, esta hipótesis no pudo ser confirmada. Creemos que para poder obtener resultados significativos, sería necesario estudiar otras variables circadianas que caracterizan mejor el funcionamiento de ritmos circadianos internos, como son los niveles de melatonina y cortisol o la temperatura.

La hipótesis de salud circadiana y obesidad en pacientes con TDAH ha sido abordada solamente en un estudio previo (Vogel *et al.*, 2015). Los autores demostraron que las alteraciones del ritmo circadiano, relacionada con la interrupción del sueño y los patrones de alimentación inestables, podrían ser mecanismos que explicaran la prevalencia de obesidad y el TDAH en pacientes adultos. No obstante, en el trabajo de Vogel *et al.* (2015) no se realizaron cálculos clásicos de parámetros circadianos, como los realizados en nuestro trabajo, que permitan establecer conclusiones precisas sobre el impacto real de la cronodisrupción biológica sobre el estado del peso corporal y la sintomatología en estos pacientes.

El estudio de la cronobiología en pacientes con TDAH es una prometedora área de investigación. Nuestros resultados muestran que los patrones de actividad motora difieren entre los pacientes con TDAH y los sujetos controles y que esta mayor actividad se traslada especialmente hacia las horas de la tarde y de la noche, pudiendo relacionarse con un cronotipo más nocturno. Es interesante destacar que el subtipo de TDAH-Combinado muestra la actividad motora más alta tanto en los periodos de mayor actividad como en los periodos de menor actividad. Consideramos que nuestros resultados pueden ser el inicio de estudios de cronobiología más amplios y profundos en pacientes con TDAH y que, en un futuro esta ciencia pueda utilizarse como herramienta tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de este trastorno.

5.1.2 Intensidad de la luz y su influencia en los patrones de actividad motora en niños y adolescentes con TDAH.

Uno de los principales sincronizadores externos de los relojes circadianos endógenos son los ciclos de luz/oscuridad (Gaggioni *et al.*, 2014). Además, datos recientes han mostrado que la intensidad de la luz podría modular los estados de alerta, que también afectan directamente el sueño y los ritmos circadianos (Lockley *et al.*, 2006). No obstante, recientemente se conoce que existe una diferenciación interindividual en la sensibilidad a la exposición a la luz (Chellappa *et al.*, 2012). En este sentido, y pese a que los pacientes con TDAH suelen presentar más alteraciones de los ritmos circadianos que la población sana (Coogan & McGowan, 2017), hasta la fecha no se conoce si los pacientes con este trastorno muestran diferentes grados de sensibilidad a la exposición de la luz.

En nuestro trabajo, se han obtenido resultados preliminares que asocian la variabilidad de la luz estacional y los patrones de actividad motora tanto en pacientes con TDAH como en población sana. Estos resultados se presentan en forma de una *comunicación corta* en nuestra sección de resultados. Nuestros hallazgos sugieren que ***los pacientes con TDAH muestran patrones de actividad motora más altos en la época de verano respecto a la población sana en la misma época del año, lo que podría sugerir una mayor sensibilidad a la intensidad de la luz respecto a los pacientes controles.***

Las evidencias científicas actuales sobre el impacto de la sensibilidad a la intensidad de la luz en población en general se han centrado en modulaciones de la actividad cognitiva cerebral y en problemas relacionados con el sueño (Chellappa *et al.*, 2011; Chellappa *et al.*, 2013). Sin embargo, existe una limitada evidencia del impacto de la variabilidad de la luz estacional en los síntomas del TDAH. Acorde a este tema, se puede mencionar un estudio reciente en población adulta con este trastorno, donde se encontró puntuaciones más altas de inatención en primavera y en verano respecto al otoño y escalas significativamente más altas de hiperactividad en primavera (Vogel *et al.*, 2016). En nuestro estudio no se ha podido valorar todavía si la mayor actividad durante el verano tiene un impacto positivo o negativo sobre los síntomas de comportamiento u otras comorbilidades psicopatológicas en los pacientes con TDAH. Por tanto, no podemos concluir si el aumento de la actividad motora en el horario de verano podría ser una indicación de mejoría o empeoramiento de la

sintomatología de estos pacientes. En este sentido, se debe mencionar que la práctica de actividad física, sea tanto a corto como a largo plazo, ha reportado una mejora considerable en los síntomas cognitivos, conductuales y físicos del TDAH (Ng et al., 2017). Sin embargo, estos estudios, han analizado el efecto de la práctica de actividad física programada y controlada y no la actividad motora cotidiana, como es el caso de nuestro estudio.

Existe una asociación positiva entre la amplitud de la intensidad de la luz y la actividad motora en sujetos con TDAH, lo que podría sugerir un posible papel de la sensibilidad a niveles más altos de luz en estos pacientes. Se requiere más investigación sobre los mecanismos fisiológicos que pueden estar involucrados en los receptores de luz en pacientes con TDAH.

5.2 Calidad y alteraciones del sueño asociados con dieta en niños y adolescentes con TDAH.

Las alteraciones del sueño tienen consecuencias negativas en diferentes áreas de la vida de los niños y adolescentes (Díaz-Román *et al.*, 2016). Estas alteraciones del sueño son más comunes y se agravan en trastornos psiquiátricos como en el TDAH, provocando impacto negativo en la atención, el comportamiento y los niveles de somnolencia diurna de la población pediátrica con este trastorno (Fallone *et al.*, 2005; Miano *et al.*, 2016; Vélez-Galarraga *et al.*, 2016; Craig *et al.*, 2017). Por otro lado, existe evidencia que sugiere una relación adicional e independiente entre la dieta y el sueño, por lo que la dieta podría influir indirectamente en la sintomatología del TDAH a través de su influencia en el sueño (Peuhkuri *et al.*, 2012a; Peuhkuri *et al.*, 2012b; Grandner *et al.*, 2014; St-Onge *et al.*, 2016)

En base a estos antecedentes, nuestro *segundo trabajo* aborda el estudio de las relaciones entre la ingesta dietética, los niveles de nutrientes séricos y los parámetros del sueño en niños y adolescentes con TDAH en comparación con los sujetos controles. Hasta la fecha, solo se ha publicado un estudio parecido, desarrollado por Blunden *et al.* (2011), si bien estos autores solo analizaron la relación entre la ingesta dietética, en su conjunto y las alteraciones del sueño en niños con TDAH. En nuestro caso, el estudio se ha ampliado a parámetros de sueño estudiados por actimetría y también a ingesta de micronutrientes y el análisis de parámetros bioquímicos nutricionales.

En **primer lugar**, se pudo comprobar, que los niños y adolescentes con TDAH mostraban mayores alteraciones en su patrón de sueño que los controles sanos, como era de esperar. En **segundo lugar**, se ha demostrado que los niños y adolescentes que ingieren *menos fibra (lo cual indica una menor ingesta de frutas y verduras) y ciertas vitaminas y minerales (tiamina, vitamina B6, ácido fólico, hierro y magnesio)* presentan mayores *problemas de sueño y una mayor somnolencia diurna*. Estas correlaciones positivas no se hallaron en el grupo control.

En este sentido, se ha indicado que una ingesta menor de vitaminas del grupo B y ciertos minerales (por ejemplo, magnesio) puede modificar la calidad del sueño, y su efecto parece estar basado en su influencia sobre la secreción de melatonina (Peuhkuri *et al.*, 2012a; Peuhkuri *et al.*, 2012b; St-Onge *et al.*, 2016), si bien existe un consenso general que serían necesarios más estudios para conocer el impacto real de estos nutrientes en el sueño. En un reciente estudio longitudinal, en la que se analizó una cohorte de 15.273 adultos, se pudo demostrar que los síntomas de insomnio se asociaron con una mayor ingesta de energía total, grasas trans y sodio y una menor ingesta de verduras en población en general, lo cual podría concordar, en parte, con lo observado en nuestro estudio, respecto a la ingesta baja de fibra, reflejo de una menor ingesta de frutas y verduras (Cheng *et al.*, 2016). No obstante, son necesarios más estudios sobre el impacto de la dieta en los problemas de sueño en población general y, en concreto, en pacientes con TDAH.

En **tercer lugar**, nuestro estudio ha señalado que *los sujetos con TDAH que mostraban una relación en suero más alta de AA / DHA tenían más dificultad para iniciar y mantener el sueño*. Esta observación está en línea con los trabajos realizados en lactantes y en niños con TDAH que muestran que niveles más altos de ácidos grasos omega-3 se asocian con menores problemas de sueño (Burgess *et al.*, 2000; Cheruku *et al.*, 2002). El mecanismo por el cual los ácidos grasos omega-3 pueden influir en el sueño, es por su implicación en la producción de melatonina (Montgomery *et al.*, 2014). Un consumo apropiado de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en los niños y adolescentes con TDAH podría resultar clave para ayudar a mejorar la calidad de sueño de estos pacientes.

Por último, y en relación con los parámetros de calidad del sueño medidos mediante actimetría, cabe destacar que *niveles séricos de hierro bajos se asociaron con una peor*

calidad de sueño (medida como eficiencia del sueño). Nuestros resultados coinciden con estudios previos en los que se asocian los niveles bajos de hierro con patrones de sueño alterados y con el síndrome de piernas inquietas (Oner *et al.*, 2007; Cortese *et al.*, 2009). Recordemos que el estatus férrico de los pacientes con TDAH ha sido ampliamente estudiado, por su posible papel como factor etiológico de este trastorno. No obstante, existen pocos trabajos dedicados a estudiar este mineral y su relación con problemas de sueño en pacientes con TDAH.

Nuestros resultados sugieren que la dieta puede influir en los patrones de sueño de los niños y adolescentes con TDAH. Cabe destacar, las reservas séricas de hierro y los niveles de DHA y su potencial influencia en la calidad del sueño de sujetos con TDAH. Dado que tanto el sueño como la dieta son aspectos modificables del estilo de vida de un sujeto, aquellos estudios que aborden esta temática ayudaran a establecer recomendaciones dietéticas más fundamentadas que permitan mejorar la calidad de sueño de estos niños y adolescentes, que repercutirá en su calidad de vida y la de sus familias.

5.3 Estudio del polimorfismo del receptor de la serotonina (5-HTTLPR) en pacientes con TDAH

Las teorías clásicas de asociación genética en distintas patologías psiquiátricas, incluido el TDAH, se han centrado en los sistemas dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos (Gatt *et al.*, 2014). Sin embargo, este último sistema presenta una especial atención, debido a que su funcionamiento podría estar relacionado con varios rasgos conductuales, incluidos el comportamiento y sus manifestaciones (Kiive y Harro, 2013). La actividad de la serotonina está regulada por el transportador 5-HT (5-HTT), que en humanos está codificada por el gen transportador de la serotonina *SLC6A4*. Este gen presenta una variante funcional (5-HTTLPR) que consta de dos alelos comunes, uno corto (S) de baja expresión y uno largo (L) de alta expresión (Bonnet *et al.*, 2017). Una baja expresión derivada del polimorfismo de riesgo (S) puede derivarse en un menor efecto de neurotransmisión serotoninérgica. Este polimorfismo del receptor de la serotonina se ha asociado a manifestaciones muy diversas, que incluyen componentes relacionados con el apetito y la

ingesta dietética, así como sintomatología del ámbito psicopatológico como la depresión o la ansiedad (Goldman *et al.*, 2011). Nuestro *tercer manuscrito* ha analizado el papel de este polimorfismo del transportador de la serotonina en dos aspectos que hasta ahora no habían sido abordados: la sintomatología (desde manifestaciones internalizantes y externalizantes) y en su implicación en la ingesta dietética y apetito en población pediátrica con TDAH.

En primer lugar, nuestro estudio ha indicado que ***los sujetos portadores de los alelos de expresión media y baja (S + SL_A) presentaron más síntomas internalizantes y externalizantes con respecto a los portadores del alelo de alta expresión (L_AL_A).*** Recordemos que la denominación de sintomatología internalizante engloba la ansiedad o la depresión, mientras que la sintomatología externalizante engloba problemas de agresividad o de atención, entre otros. En segundo lugar, e incluso más interesante fue el hecho de que ***los portadores del alelo corto (S) del polimorfismo de 5-HTTLPR mostraban también una mayor disregulación emocional que los portadores homocigotos del alelo L.***

La disregulación emocional es altamente prevalente en pacientes con TDAH (Shaw *et al.*, 2014). Se trata de un concepto teórico caracterizado por una pobre modulación de las respuestas emocionales a través de labilidad, una baja tolerancia a la frustración, impaciencia, impulsividad y arrebatos agresivos. La disregulación emocional se genera por la interconexión de factores neurobiológicos y psicológicos (Guendelman *et al.*, 2017). Según nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se ha encontrado una relación entre el polimorfismo del receptor de serotonina y la disregulación emocional en sujetos con TDAH.

Por último, nuestro estudio indicó que los pacientes portadores del alelo de riesgo (S) podría mostrar una tendencia a un mayor consumo de energía (en concreto carbohidratos y grasas) que los no portadores, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Además, no se pudo establecer ninguna relación entre el polimorfismo y parámetros antropométricos de peso, si bien, existen trabajos previos realizados en población general donde se asocia este polimorfismo con obesidad y sobrepeso a través de conductas alimentarias relacionadas con la desinhibición y la emocionalidad. Cabe destacar, que una limitación importante de nuestro estudio, es el tamaño de muestra analizada que es relativamente pequeño, lo cual contribuyó a la dificultad de resultados más concluyentes. No obstante, creemos que es un buen punto de partida para realizar otros estudios que permitan

obtener resultados más concluyentes y que permitan conocer el impacto de esta variante genética sobre la sintomatología del TDAH.

Si bien se debe tener en cuenta la principal limitación nuestro estudio, que es el tamaño de la muestra analizada, los resultados obtenidos indicarían que la presencia del alelo de riesgo (S) del polimorfismo de 5-HTTLPR se relaciona con una mayor gravedad en los pacientes con TDAH, dado que los portadores presentan más síntomas internalizantes y externalizantes y más desregulación emocional. Estos resultados contribuyen a la comprensión del papel de este polimorfismo, implicado en la actividad de la serotonina, en los pacientes con TDAH, si bien son necesarios más estudios para conocer el papel real del polimorfismo 5-HTTLPR L / S en la patogénesis y las características clínicas del TDAH

5.4 La deficiencia de hierro se asocia con síntomas de comportamiento y habilidades cognitivas en niños y adolescentes con TDAH.

La deficiencia de hierro es un factor de riesgo en la fisiopatología de TDAH. Sin embargo, hasta la fecha, los resultados con respecto a estas asociaciones han mostrado ciertas inconsistencias. Se ha señalado que los niveles bajos de hierro están relacionados con problemas del desarrollo cognitivo, motor y conductual en niños con TDAH (Oner *et al.*, 2010) mientras que otros autores no han confirmado tales asociaciones (Menegassi *et al.*, 2010). En el último *manuscrito* de esta tesis se recogen los resultados obtenidos que evidencian que *niveles de hierro sérico bajos se asocian con síntomas más graves de hiperactividad y falta de atención.*

Pese a que los mecanismos por los cuales el hierro puede desempeñar un papel en la fisiopatología del TDAH son todavía desconocidos, se ha postulado que la deficiencia de hierro podría tener un impacto sobre el metabolismo de la dopamina y de otras catecolaminas (Cortese *et al.*, 2008). Además se ha asociado la deficiencia de hierro con la disminución de la expresión del transportador de la dopamina y que esta deficiencia puede conducir a la disfunción de ganglios basales (Wigglesworth *et al.*, 1998; Donfrancesco *et al.*, 2013).

En este sentido el rendimiento cognitivo y los niveles de hierro, también merecen discusión. Konofal *et al.* (2004) encontraron una correlación significativa entre puntuaciones cognitivas bajas en la escala CPRS y niveles de ferritina bajos en niños con TDAH, mientras que Oner *et al.*, 2008 no encontraron ninguna relación significativa entre la ferritina y otros parámetros de deficiencia de hierro con variables cognitivas, usando varios tipos de test psicológicos. Un aspecto relevante de nuestro estudio, es que se pudo asociar de forma positiva y estadísticamente significativa el cociente intelectual, la memoria de trabajo y la velocidad de procesamiento con el estado de hierro en niños con TDAH. Estas asociaciones no fueron encontradas en los controles. Acorde a estos resultados, nuestros hallazgos nos llevan a suponer que el estado del hierro juega un papel importante en la fisiopatología del TDAH.

Las reservas del hierro en pacientes con TDAH podrían ser un factor clave en los síntomas de hiperactividad, falta de atención y funciones cognitivas en estos pacientes. Reservas bajas de hierro, incluso sin un diagnóstico rotundo de anemia ferropénica, pueden contribuir no sólo en los síntomas sino también en las funciones cognitivas. Se recomienda que la evaluación del estado de hierro se considere dentro de la anamnesis de un paciente con TDAH y que la dieta terapia de estos pacientes consideren la ingesta suficiente y apropiada de este mineral.

6. Conclusiones

Aspectos (troubleshooting) Errores y Mitigaciones para Trastorno de Atención e Hiperactividad



6. Conclusiones

Los resultados obtenidos del presente estudio nos han permitido obtener las siguientes conclusiones:

En referencia al OBJETIVO 1:

- Los pacientes con TDAH tienen una actividad motora global superior a la de pacientes sanos. Esta actividad presenta un desplazamiento hacia la derecha, es decir, hacia períodos vespertinos-nocturnos.
- Cuando se consideran los diferentes subtipos de TDAH, se observa que los pacientes con TDAH-Combinado presentan valores más altos de actividad motora respecto a los pacientes con TDAH-Inatento y a los sujetos control.
- La hiperactividad se correlaciona positiva y significativamente con la actividad motora durante el periodo menos activo (L5), que coincide con las horas de sueño, en sujetos con TDAH, manteniéndose en el subtipo de TDAH-Combinado, pero no en los sujetos sanos.
- Los sujetos con TDAH-Inatento mostraron un peso corporal más alto respecto a los sujetos con TDAH-Combinado o los sujetos control. El análisis de las diferentes variables no brindó explicación para esta observación.
- Los estudios de la cronobiología pueden ayudar a comprender mejor la etiología y la sintomatología del TDAH y, en un futuro, pueden ser herramientas tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de este trastorno.

En referencia al OBJETIVO 2:

- Los sujetos con TDAH presentaron una *acrofase* más elevada de actividad motora tanto en verano como en invierno, respecto a los pacientes control.
- Los ritmos circadianos de la actividad motora se correlacionan positivamente con la intensidad de la luz durante el verano en sujetos con TDAH. Ninguna de estas asociaciones fueron encontradas en los sujetos control.

- Los sujetos con TDAH podrían presentar mayor sensibilidad a la luz con respecto a pacientes sanos, sin embargo se desconoce aún si este fenómeno tiene algún impacto sobre la sintomatología o las comorbilidades.

En referencia al OBJETIVO 3:

- Un bajo consumo de ciertos micronutrientes (tiamina, vitamina B6, ácido fólico, hierro y magnesio) se asoció a somnolencia excesiva durante el día y a mayores problemas de sueño en niños y adolescentes con TDAH. Estas asociaciones no se observaron en los controles sanos.
- Existe una relación positiva entre el ratio AA/DHA y mayores problemas para iniciar y mantener el sueño en los niños y adolescentes con TDAH. Se ha postulado que el DHA pueda tener un papel importante en la síntesis de melatonina, que podría justificar el resultado obtenido.
- Concentraciones de hierro sérico más bajas se correlacionaron significativamente con una menor eficiencia de sueño (medida mediante actimetría) en sujetos con TDAH. Esta asociación no fue observada en sujetos sanos.
- Los trastornos del sueño pueden disminuir la calidad de vida de los pacientes con TDAH a la vez que pueden agravar los síntomas de este trastorno. El asesoramiento dietético en estos pacientes podría garantizar una ingesta correcta y suficiente de nutrientes que contribuyan a patrones de sueño más saludables.

En referencia al OBJETIVO 4

- La presencia del alelo de riesgo (S) del polimorfismo de 5-HTTLPR se relaciona con una mayor gravedad en los pacientes con TDAH, dado que los portadores presentan más síntomas internalizantes y externalizantes y más disregulación emocional.
- Los pacientes portadores del alelo de riesgo (S) mostrarían una tendencia a un mayor consumo de energía (en concreto carbohidratos y grasas) que los no portadores, si bien esta diferencia no fue estadísticamente significativa. No se pudo

establecer ninguna relación entre el polimorfismo y parámetros antropométricos de peso.

En referencia al OBJETIVO 5

- Los sujetos con TDAH que tenían niveles más bajos de reservas séricas de hierro mostraron síntomas más graves de hiperactividad y falta de atención representados en tres diferentes escalas: ADHD-RS, CPRS y CTRS.
- Puntuaciones más bajas de cociente intelectual total , memoria de trabajo y velocidad de procesamiento se encontraron en los niños y adolescentes con TDAH con concentraciones séricas de hierro más bajas. Esas asociaciones no se observaron en los controles.
- El estado sérico del hierro puede desempeñar un papel clave en los síntomas de hiperactividad, falta de atención y funciones cognitivas en niños y adolescentes con TDAH.

7. Bibliografía

Aspectos Evolutivos, Emocionales y Motriciles en Niños con Trastorno de Atención e Hiperactividad



Achenbach, M. T. (1999). *The Child Behavior Checklist and Related Instruments*. Lawrence Erlbaum Associates Publishers, 1999.

Albrecht, U., & Eichele, G. (2003). The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development*, 13(3), 271–277.

Algahim, M. F., Yang, P. B., Wilcox, V. T., Burau, K. D., Swann, A. C., & Dafny, N. (2009). Prolonged methylphenidate treatment alters the behavioral diurnal activity pattern of adult male Sprague–Dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 92(1), 93–99.

American Psychiatric Association. (2013). *DSM-5: Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. DSM-5 (5th ed.), Washington: Author.

Antle, M. C., van Diepen, H. C., Deboer, T., Pedram, P., Pereira, R. R., & Meijer, J. H. (2012). Methylphenidate modifies the motion of the circadian clock. *Neuropsychopharmacology*, 37(11), 2446–2455.

Arnold, L. E., Amato, A., Bozzolo, H., Hollway, J., Cook, A., Ramadan, Y...Manos, M. (2007). Acetyl-L-carnitine in attention-deficit/hyperactivity disorder: a multi-site, placebo-controlled pilot trial. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, 17(6), 791–802.

Baird, A. L., Coogan, A. N., Kaufling, J., Barrot, M., & Thome, J. (2013). Daily methylphenidate and atomoxetine treatment impacts on clock gene protein expression in the mouse brain. *Brain Research*, 1513, 61–71.

Baird, A. L., Coogan, A. N., Siddiqui, A., Donev, R. M., & Thome, J. (2012). Adult attention-deficit hyperactivity disorder is associated with alterations in circadian rhythms at the behavioral, endocrine and molecular levels. *Molecular Psychiatry*, 17(10), 988–995.

Bandín, C., Martínez-Nicolás, A., Ordovas, J. M., Madrid, J. A., & Garaulet, M. (2014). Circadian rhythmicity as a predictor of weight-loss effectiveness. *International Journal of Obesity*, 38(8), 1083-1088.

Baptista, J., Belsky, J., Mesquita, A., & Soares, I. (2017). Serotonin transporter polymorphism moderates the effects of caregiver intrusiveness on ADHD symptoms among institutionalized preschoolers. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 26(3), 303–313.

Barkley, R. A. (1997). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: Constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological Bulletin*, 121(1), 65–94.

Bateman, B., Warner, J. O., Hutchinson, E., Dean, T., Rowlandson, P., Gant, C.,...Stevenson, J. (2004). The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives of Disease in Childhood*, 89(6), 506–511.

Bauermeister, J. J., Shrout, P. E., Chávez, L., Rubio-Stipec, M., Ramírez, R. Padilla, L.,...Canino, G. (2007). ADHD and gender: Are risks and sequela of ADHD the same for boys and girls? *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(8), 831–839.

Beebe, D. W., Simon, S., Summer, S., Hemmer, S., Strotman, D., & Dolan, L. M. (2013). Dietary intake following experimentally restricted sleep in adolescents. *Sleep*, 36(6), 827–834.

Bendz, L. M., & Scates, A. C. (2010). Melatonin treatment for insomnia in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Annals of Pharmacotherapy*, 44 (1), 185–191.

Berger, M., Gray, J., & Roth, B. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60, 355-366.

Beydoun, M. A., Gamaldo, A. A., Canas, J. A., Beydoun, H. A., Shah, M. T., McNeely, J. M., & Zonderman, A. B. (2014). Serum nutritional biomarkers and their associations with sleep among US adults in recent national surveys, *Plos One*, 9(8), e103490.

Biederman, J., & Faraone, J. (2003). Attention-deficit hyperactivity disorder. *British Journal of General Practice*, 488(53), 225–230.

Biederman, J., Kwon, A., Aleardi, M., Chouinard, V. A., Marino, T., Cole,

H.,...Faraone, F. V. (2005). Absence of gender effects on attention deficit hyperactivity disorder: findings in non-referred subjects. *The American Journal of Psychiatry*, 162(6), 1083–1089.

Bijlenga, D., van der Heijden, K. B, Breuk, M., van Someren, E. J, Lie, M. E., Boonstra, A. M.,...,& Kooij, S. J. (2013a). Associations between sleep characteristics, seasonal depressive symptoms, lifestyle, and ADHD symptoms in adults. *Journal of Attention Disorders*, 17(3), 261-275.

Bijlenga, D., Van Someren, E. J., Gruber, R., Bron, T. I., Kruithof, I. F., Spanbroek, E. C., & Kooij, J. J. (2013b). Body temperature, activity and melatonin profiles in adults with attention-deficit / hyperactivity disorder and delayed sleep : a case – control study. *Journal of Sleep Research*, 22(6), 607–616.

Bloch, M. H., & Qawasmi, A. (2011). Omega-3 fatty acid supplementation for the treatment of children with attention-deficit/Hyperactivity disorder symptomatology: systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 50(10), 991–1000.

Blunden, S. L., Milte, C. M., & Sinn, N. (2011). Diet and sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder: preliminary data in Australian children. *Journal of Child Health Care*, 15(1), 14–24.

Bolea-Alamañac, B., Nutt, D. J., Adamou, M., Asherson, P., Bazire, S., Coghill, D., ..., & Young, S. J. (2014). Evidence-based guidelines for the pharmacological management of attention deficit hyperactivity disorder: Update on recommendations from the British Association for Psychopharmacology. *Journal of Psychopharmacology*, 28(3), 179–203.

Bonnet, G., Gómez-Abellán, P., Vera, B., Sanchez-Romera, J., Hernández-Martínez A., Sookoian, S.,..., & Garaulet, M. (2017). Serotonin-transporter promoter polymorphism modulates the ability to control food intake : Effect on total weight loss, *Molecular Nutrition and Food Research*. 61(11) 1–10.

Boonstra, A. M., Kooij, J. J., Oosterlaan, J., Sergeant, J. A., Buitelaar, J. K., & Van Someren, E. J. (2007). Hyperactive night and day? Actigraphy studies in adult ADHD: a baseline comparison and the effect of methylphenidate. *Sleep*, *30*(4), 433–442.

Borkowska, A., Bielinski, M., Szczesny, W., Szwed, K., Tomaszewska, M., Katwa, A.,..., & Akiskal, H. (2015). Effect of the 5-HTTLPR polymorphism on affective temperament, depression and body mass index in obesity, *Journal of Affective Disorder*, *184*(15), 193–197.

Brookes, K., Xu, X., Chen, W., Zhou, K., Neale, B., Lowe, N...Asherson, P. (2006). The analysis of 51 genes in DSM-IV combined type attention deficit hyperactivity disorder: association signals in DRD4, DAT1 and 16 other genes. *Molecular Psychiatry*, *11*(10):934-953.

Broussard, J. L., & Van Cauter, E. (2016). Disturbances of sleep and circadian rhythms: novel risk factors for obesity. *Current opinion in endocrinology, diabetes and obesity*, *23*(5), 353-359.

Bruni, O., Ottaviano, S., Guidetti, V., Romoli, M., Innocenzi, M., Cortesi, F., & Giannotti, F. (1996). The sleep disturbance scale for children (SDSC). Construction and validation of an instrument to evaluate sleep disturbances in childhood and adolescence. *Journal of Sleep Research*, *5*(4), 251–261.

Burgess, J. R., Stevens, L., Zhang, W., & Peck, L. (2000). Long-chain polyunsaturated fatty acids in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *71*(1 Suppl), 327S–30S.

Buxton, O. M., Cain, S. W., O'Connor, S. P., Porter, J. H., Duffy, J. F., Wang, W.,..., Shea, S. A. (2012). Adverse metabolic consequences in humans of prolonged sleep restriction combined with circadian disruption. *Science Translation Medicine* *4* (129) 129ra43.

Caci, H., Bouchez, J., & Baylé, F. J. (2009). Inattentive symptoms of ADHD are related to evening orientation. *Journal of Attention Disorders*, *13*(1), 36–41.

Cairncross, M., & Miller, C. J. (2016). The Effectiveness of Mindfulness-Based Therapies for ADHD: A Meta-Analytic Review, *Journal of Attention Disorders*, 1-17. doi: 10.1177/1087054715625301.

Cambras, T., & Díez, A. (2015). Los ritmos de la vida: Como la cronobiología nos ayuda a vivir mejor. *Editorial Catátesis. Universitat de Barcelona*, Barcelona-España.

Cantós, D., Farran, A., & Palma, I. (2004). PCN Pro. Barcelona: *Universitat de Barcelona*, Barcelona-España.

Carrasco-Benso, M. P., Rivero-Gutierrez, B., Lopez-Minguez, J., Anzola, A., Diez-Noguera, A., Madrid, J. A.,..., & Garaulet, M. (2016). Human adipose tissue expresses intrinsic circadian rhythm in insulin sensitivity. *FASEB Journal*, 30(9), 3117–3123.

Catalá, A. (2010). The function of very long chain polyunsaturated fatty acids in the pineal gland. *Biochimica et Biophysical Acta*, 1801(2), 95–99.

Catalá-López, F., Hutton, B., Núñez-Beltrán, A., Mayhew, A. D., Page, M. J., Ridaio, M.,..., & Moher, D. (2017). The pharmacological and non-pharmacological treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children and adolescents: A systematic review with network meta-analyses of randomised trials. *Plos One*, 12(7):e0180355. doi: 10.1371/journal.pone.0180355.

Cao, Y. L., Cui, Q. T., Tang, C. H., Chang, X. (2012). Association of CLOCK gene T3111C polymorphism with attention deficit hyperactivity disorder and related sleep disturbances in children. *Chinesse Journal of Contemporary Pediatrics*. 14(4), 285-288.

Centros para el control y prevención de enfermedades, *Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tablas de crecimiento clínicos*. Descargado desde: http://www.cdc.gov/growthcharts/clinical_charts.htm.

Cheruku, S. R., Montgomery-Downs, H. E., Farkas, S. L., Thoman, E. B., & Lammi-Keefe, C. J. (2002). Higher maternal plasma docosahexaenoic acid during pregnancy is associated with more mature neonatal sleep-state patterning. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(3), 608–613.

Chalon, S. (2006). Omega 3-fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 75(4–5), 259–269.

Chamorro, M., Lara, J. P., Insa, I., Espadas, M., & Alda-Díez, J. A. (2017). Evaluation and treatment of sleep problems in children diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder: an update of the evidence. *Revista de Neurología*, 64(9), 413-421

Cheng, F. W., Li, Y., Winkelman, J. W., Hu, F. B., Rimm, E. B., & Gao, X. (2016). Probable insomnia is associated with future total energy intake and diet quality in men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 104 (2), 462- 469.

Chellappa, S. L., Steiner, R., Blattner, P., Oelhafen, P., Gotz, T., & Cajochen, C. (2011) Non-visual effects of light on melatonin, alertness and cognitive performance: can blue-enriched light keep us alert? *Plos One*, 6:e16429. doi:10.1371/journal.pone.0016429.

Chellappa, S. L., Steiner, R., Oelhafen, P., Lang, D., Gotz, T., Krebs, J., & Cajochen, C. (2013). Acute exposure to evening blue-enriched light impacts on human sleep. *Journal of Sleep Research*, 22, 573–580.

Chellappa, S. L., Viola, A. U., Schmidt, C., Bachmann, V., Gabel, V., Maire, M.,...,Cajochen, C. (2012). Human melatonin and alerting response to blue-enriched light depend on a polymorphism in the clock gene PER3. *Journal Clinical .Endocrinology and Metabolism*. 97, E433–E437. doi:10.1210/jc.2011-2391

Chollet, D., Franken, P., Raffin, Y., Henrotte, J. G., Widmer, J., Malafosse, A., & Tafti, M. (2001). Magnesium involvement in sleep: genetic and nutritional models. *Behavior Genetics*, 31(5), 413–425.

Cole, T. J., & Lobstein, T. (2012). Extended international (IOTF) body mass index cutoffs for thinness, overweight and obesity. *Pediatric Obesity*, 7(4), 284–294.

Colter, A. L., Cutler, C., & Meckling, K. A. (2008). Fatty acid status and behavioural symptoms of Attention Deficit Hyperactivity Disorder in adolescents: A case-control study. *Nutrition Journal*. doi:10.1186/1475-2891-7-8.

Conners, C. K., Sitarenios, G., Parker, J. D., & Epstein, J. N. (1998). The revised Conners' Parent Rating Scale (CPRS-R): factor structure, reliability, and criterion validity. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 26(4), 257–268.

Coogan, A. N., Baird, A. L., Popa-Wagner, A., & Thome, J. (2016). Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry Circadian rhythms and Attention Deficit Hyperactivity Disorder: The what, the when and the why. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 67(3), 74–81.

Coogan, A. N., & McGowan, N. M. (2017). A systematic review of circadian function, chronotype and chronotherapy in attention deficit hyperactivity disorder. *ADHD Attention Deficit Hyperactivity Disorder*, 9(3), 129-147.

Cooper, R. E., Tye, C., Kuntsi, J., Vassos, E., & Asherson, P., (2016). The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on emotional dysregulation, oppositional behaviour and conduct problems in ADHD: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 190, 474–482.

Cortese, S., & Castellanos, F. X. (2014). The relationship between ADHD and obesity: Implications for therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 14(5), 473–479.

Cortese, S., Konofal, E., Bernardina, B. D., Mouren, M.-C., & Lecendreux, M. (2009). Sleep disturbances and serum ferritin levels in children with attentiondeficit/hyperactivity disorder. *European Child & Adolescent Psychiatry*, 18(7), 393–399.

Cortese, S., Lecendreux, M., Bernardina, B. D., Mouren, M. C., Sbarbati, A., & Konofal, E. (2008). Attention-deficit/hyperactivity disorder, Tourette's syndrome, and restless legs syndrome: The iron hypothesis. *Medical Hypotheses*, 70(6), 1128-1132.

Cortese S., & Tessari L. (2017) Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) and Obesity: Update 2016. *Current Psychiatry Report*. 19(1):4. doi: 10.1007/s11920-017-0754-1.

Craig, S. G., Weiss, M. D., Hudec, K. L., & Gibbons, C. (2017). The functional impact of sleep disorders in children with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 1:1-10. doi: 10.1177/1087054716685840.

Danielson, M. L., Visser, S. N., Chronis-Tuscano, A., & George, J. D. (2017) A National Description of Treatment among United States Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Journal of Pediatrics*. 192(1), 240-246.

Dane, A. V., Schachar, R. J., & Tannock, R. (2000). Does actigraphy differentiate ADHD Subtypes in a Clinical Research Setting?. *Journal of American Academy Child and Adolescents Psychiatry*, 39(6), 752-760.

De Crescenzo, F., Licchelli, S., Ciabattini, M., Menghini, D., Armando, M., Alfieri, P., ..., & Vicari, S. (2014). The use of actigraphy in the monitoring of sleep and activity in ADHD: A meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 26, 9–20. doi: 10.1016/j.smrv.2015.04.002.

Dias, H., Muc, M., Padez, C., & Manco, L. (2015). Association of polymorphisms in 5-HTT (SLC6A4) and MAOA genes with measures of obesity in young adults of Portuguese origin. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 122(1), 8–13.

Díaz-Román, A., Hita-Yáñez, E., & Bucla-Casal, G. (2016). Sleep Characteristics in Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder: Systematic Review and Meta-Analyses. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 12(5), 747-756.

Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology*. 72, 517–549. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135821.

Dodig-Curković, K., Dovhanj, J., Curković, M., Dodig-Radić, J., & Degmecic, D. (2009). The role of zinc in the treatment of hyperactivity disorder in children. *Acta Medica Croatica*, 63(4), 307–313.

Donfrancesco, R., Parisi, P., Vanacore, N., Martines, F., Sargentini, V., & Cortese, S. (2013). Iron and ADHD: time to move beyond serum ferritin levels. *Journal of Attention Disorders, 17*(4), 347–357.

Donovan, M. H., Tecott, L. H., & Horvath, T. L. (2013). Serotonin and the regulation of mammalian energy balance. *Frontiers in Neuroscience, 7*(3), 1–15.

Drabe, M., Rullmann, M., Luthardt, J., Boettcher, Y., Regenthal, R., Ploetz, T.,..., & Hesse, S. (2017). Serotonin transporter gene promoter methylation status correlates with in vivo prefrontal 5-HTT availability and reward function in human obesity. *Translational Psychiatry, 4*;7:e1167. doi: 10.1038/tp.2017.133.

DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A. D., & Reid, R. (1998). *ADHD Rating Scale-IV: Checklists. Norms and Clinical Interpretation*. New York, NY: The Guilford Press.

Durmuş, F. B., Arman, A. R., & Ayaz, A. B. (2017). Chronotype and its relationship with sleep disorders in children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Chronobiology International, 34*(7), 886–894.

Ehara, M., Vargas, S., Amarante, M., Losi, R., Massayo, M., Alves, K., & Pelegrinelli, M. (2011). Genetic polymorphism of serotonin transporter 5-HTTLPR: involvement in smoking behaviour. *Journal of Genetics, 90*(1), 179-183

Enoch, M., Gorodetsky, E., Hodgkinson, C., Goldman, D. (2012). Functional Genetic Variants that Increase Synaptic Serotonin and 5-HT₃ Receptor Sensitivity Predict Alcohol and Drug Dependence. *Molecular Psychiatry, 16*(11), 1139–1146.

Eun, T. K., Jeong, S. H., Lee, K. Y., Kim, S. H., Ahn, Y. M., Bang, Y. W., Joo, E. J. (2016). Association between the 5-HTTLPR genotype and childhood characteristics in mood disorders. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience, 14*(1), 88–95.

Faedda, G. L., Ohashi, K., Hernández, M., McGreenery, C. E., Grant, M.C., Baroni, A.,..., & Teicher, M. H. (2016). Actigraph measures discriminate pediatric bipolar disorder from attention-deficit/hyperactivity disorder and typically-developing controls. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, 57*(6), 706–716.

Fallone, G., Acebo, C., Seifer, R., & Carskadon, M.A. (2005). Experimental restriction of sleep opportunity in children: effects on teacher ratings. *Sleep*, 28, 1561-1567.

Faraone, S. V., Perlis, R. H., Doyle, A. E., Smoller, J. W., Goralnick, J. J., Holmgren, M. A., & Sklar, P. (2005). Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 57(11), 1313-1323.

Farran, A., Zamora, R., & Cervera, P. (2004). Tablas de composición de alimentos del CESNID. *McGraw-Hill/Interamericana de España - Edicions UB*. Barcelona.

Fasmer, O., Mjeldheim, K., Forland, w., Hansen, A. L., Dilsaver, S., & Oedegarrd, K. J. (2015). Motor Activity in Adult Patients with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Psychiatry Investigation*, 12(4):474-82. doi: 10.4306/pi.2015.12.4.474.

Franke, B., Neale, B. M., & Faraone, S. V. (2009). Genome-wide association studies in ADHD. *Human Genetics*, 126(1), 13-50.

Fuemmeler, B. F., Agurs-Collins, T. D., Mcclernon, F. J., Kollins, S. H., Kail, M. E., Bergen, A.W., & Ashley-Koch, A. E. (2008). Genes implicated in serotonergic and dopaminergic functioning predict BMI categories. *Obesity (Silver Spring)*, 16(2), 348-355.

Gadow, K., DeVincent, C. J., Siegal, V. I., Olvet, D. M., Kibria, S., Kirsch, S. F., & Hatchwell, E. (2013). Allele-Specific Associations of 5-HTTLPR/rs25531 with ADHD and Autism Spectrum Disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 40(631), 292-297.

Gaggioni, G., Maquet, P., Schmidt, C., Dijk, D. J., Vanderwalle, G. (2014) Neuroimaging, cognition, light and circadian rhythms. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 126(8), 1-15.

Gamble, K. L., May, R. S., Besing, R. C., Tankersly, A. P., & Fargason, E. (2013). Delayed sleep timing and symptoms in adults with Attention-Deficit/ Hyperactivity Disorder: A controlled actigraphy study. *Cronobiology International*, 30(4), 598-606.

Garaulet, M. (2009). Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Current opinion in lipidology*, 20(2), 127–134.

Garaulet, M., & Gómez-Abellán, P. (2013). Chronobiology and obesity. *Nutrición Hospitalaria*, 28(5), 114–120.

Garaulet, M., Tardido, E., Lee, Y. C., Smith, C. E., Parnel, P. D., Ordovás, J. M. (2016). SIRT1 and CLOCK 3111T 4 C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. *International Journal of Obesity*, 36, 1436-1441.

Gatt, J. M., Burton, K. L., Williams, L. M., & Schofield, P. R. (2014). Specific and common genes implicated across major mental disorders : A review of meta-analysis studies. *Research in Developmental Disabilities*, 60:1-13. doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.09.014.

Gekakis, N., Staknis, D., Nguyen, H. B., Davis, F. C., Wilsbacher, L. D., King, D. P.,..., & Weitz, C. J. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science (New York, NY)*, 280(5369), 1564-1569.

Gelernter, J., Pakstis, A. J., & Kidd, K. (1995). Linkage mapping of serotonin transporter protein gene SLC6A4 on chromosome 17. *Human Genetics*, 95(6), 677–680.

Ghanizadeh, A. & Haddad, B. (2015). The effect of dietary education on ADHD, a randomized controlled clinical trial. *Annals of General Psychiatry*, 14(1), 12-31.

Goldman, N., Glei, D. A., Lin, Y.H., & Weinstein, M. (2011). The Serotonin Transporter Polymorphism (5-HTTLPR): Allelic Variation and Links with Depressive Symptoms. *Depression and Anxiety*, 27(3), 260–269.

Gominak, S. C., & Stumpf, W. E. (2012). The world epidemic of sleep disorders is linked to vitamin D deficiency. *Medical Hypotheses*, 79(2), 132–135.

González, C., Rodríguez, S., & Sánchez, G. (2015). Epidemiología del TDAH. *Revista Española Pediatría*, 71(2), 58–61.

Grandner, M. A., Jackson, N., Gerstner, J. R., Knutson, K. L. (2014) Sleep symptoms associated with intake of specific dietary nutrients. *Journal of Sleep Research* 23:22-34. doi:10.1111/jsr.12084.

Grandner, M. A., Jackson, N., Gerstner, J. R., & Knutson, K. L. (2013). Dietary nutrients associated with short and long sleep duration. Data from a nationally representative sample. *Appetite*, 64, 71–80. doi: 10.1016/j.appet.2013.01.004.

Grandner, M. A., Kripke, D. F., Naidoo, N., & Langer, R. D. (2010). Relationships among dietary nutrients and subjective sleep, objective sleep, and napping in women. *Sleep Medicine*, 11(2), 180–184.

Grant, R., & Guest, J. (2016). The Benefits of Natural Products for Neurodegenerative Diseases. *Advances in Neurobiology*, 12 (1), 247-274.

Grantham-McGregor, S., & Ani, C. (2001). A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *The Journal of Nutrition*, 131(6), 49S–68S.

Grevet, E. H., Marques, F. Z., Salgado, C. A., Fischer, A. G., Kalil, K. L., Victor, M. M., ..., Bau, C. H. (2007). Serotonin transporter gene polymorphism and the phenotypic heterogeneity of adult ADHD. *Journal of Neural Transmission*, 114(12), 1631–1636.

Gröber, U., Schmidt, J., & Kisters, K. (2015). Magnesium in Prevention and Therapy. *Nutrients*, 7(9), 8199-8226.

Guendelman, S., Medeiros, S., & Rampes, H. (2017). Mindfulness and emotion regulation: Insights from neurobiological, psychological, and clinical studies. *Frontiers in Psychology*, 8(3). doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00220.

Halterman J. S, Kaczorowski J. M, Aligne C. A, Auinger P, & Szilagyi P. G. (2001). Iron deficiency and cognitive achievement among school-aged children and adolescents in the United States. *Pediatrics*, 107(6), 1381-1386.

Hariri, M. & Azadbakht, L. (2015). Magnesium, Iron, and Zinc Supplementation for the Treatment of Attention Deficit Hyperactivity Disorder: A Systematic Review on the

Recent Literature. *International Journal of Preventive Medicine*, 6, 83. doi: 10.4103/2008-7802.164313.

Hastings, P. D., Fortier, I., Utendale, W. T., Simard, L. R., & Robaey, P. (2009). Adrenocortical functioning in boys with attention-deficit/hyperactivity disorder: examining subtypes of ADHD and associated comorbid conditions. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 37(4), 565–578.

Hawi, Z., Cummins, T., Tong, J., Johnson, B., Lau, R., Samarraï, W., & Bellgrove, M. A. (2015). The molecular genetic architecture of Attention Deficit Hyperactivity Disorder, *Molecular Psychiatry*, 20(3), 289–97.

Heils, A., Teufel, A., Petri, S., Stöber, G., Riederer, P., Bengel, D., & Lesch, K. P. (1996). Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of Neurochemistry*, 66(6), 2621–2624

Heilskov, M. J., Andersen, L. B., Houmann, T., Bilenberg, N., Hvolby, A., Molgaard, C.,..., & Lauritzen, L., (2015). Systematic review of the literature Diet in the treatment of ADHD in children — A systematic review of the literature, *Nordic Journal of Psychiatry*, 69(1), 1-18.

Herbeth, B., Aubry, E., Fumeron, F., Aubert, R., Cailotto, F., & Siest, G. (2005). Polymorphism of the 5-HT 2A receptor gene and food intakes in children and adolescents : the Stanislas Family Study 1-3. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82 (2), 467–470.

Hillman, C. H., Pontifex, M. B., Castelli, D. M., Khan, N., Raine, L. B., Scudder, M. R.,..., & Kamijo, K., (2014). Effects of the FIT Kids randomized controlled trial on executive control and brain function', *Pediatrics*, 134 (4), e1063–e1071.

Hogenkamp, P. S., Nilsson, E., Nilsson, V. C., Chapman, C. D., Vogel, H., Lundberg, L. S.,..., & Schiöth, H. B. (2013). Acute sleep deprivation increases portion size and affects food choice in young men. *Psychoneuroendocrinology*, 38(9), 1668–1674.

Hong, H. J., Shin, D. W., Lee, E. H., Oh, Y. H., & Noh, K. S. (2003). Hypothalamic–pituitary–adrenal reactivity in boys with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Yonsei Medical Journal*, *44*(4), 608–614.

Howard, A. L., Robinson, M., Smith, G. J., Ambrosini, G. L., Piek, J. P., & Oddy, W. H. (2011). ADHD is associated with a “Western” dietary pattern in adolescents. *Journal of Attention Disorders*, *15*(5), 403–411.

Hoza, B., Martin, C. P., & Pirog, A. S., (2016) Using Physical Activity to Manage ADHD Symptoms: The State of the Evidence, *Current Psychiatry Report*, *18*(12), 113–120.

Hu, X.-Z., Lipsky, R. H., Zhu, G., Akhtar, L. A., Taubman, J., Greenberg, B. D., . . . , & Goldman, D. (2006). Serotonin Transporter Promoter Gain-of-Function Genotypes Are Linked to Obsessive-Compulsive Disorder. *The American Journal of Human Genetics*, *78*(5), 815–826.

Huang, Y. C., Wahlqvist, M. L., & Lee, M. S. (2013). Sleep quality in the survival of elderly taiwanese: roles for dietary diversity and pyridoxine in men and women. *Journal of the American College of Nutrition*, *32*(6), 417–427.

Hughes, S., Jagannath, A., Hankins, M. W., Foster, R. G., & Peirson, S. N. (2015). Photic regulation of clock systems. *Methods in Enzymology*, *552*, 125–143.

Huss, M., Völp, A., & Stauss-Grabo, M. (2010). Supplementation of polyunsaturated fatty acids, magnesium and zinc in children seeking medical advice for attentiondeficit/hyperactivity problems - an observational cohort study. *Lipids in Health and Disease*, *9*, 105. doi: 10.1186/1476-511X-9-105.

Imeraj, L., Antrop, I., Roeyers, H., Swanson, J., Deschepper, E., Bal, S., & Beboutte, D. (2012). Time-of-day effects in arousal: disrupted diurnal cortisol profiles in children with ADHD. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, *53*(7), 782-798.

Izquierdo-Pulido, M., Ríos-Hernández, A., Farran-Codina, A., & Alda, J. Á. (2015). The role of diet and physical activity in children and adolescents with ADHD. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences V. Research Signpost*. Chapter 4, 51-64.

Jeong, S. H., Yu, J. C., Lee, C. H., Choi, K. S., Choi, J. E., Kim, S. H., & Joo, E. J. (2014). Human CLOCK gene-associated Attention Deficit Hyperactivity Disorder-related features in healthy adults: quantitative association study using Wender Utah Rating Scale. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 264 (1), 71–81.

Johnston, J. D., Ordovás, J. M., Scheer, F. A., & Turek, F. W. (2016). Circadian Rhythms, Metabolism, and Chrononutrition in Rodents and Humans. *Advances in Nutrition*, 7(2), 399-406.

Kaufman, J., Birmaher, B., Brent, D., Rao, U., Flynn, C., Moreci, P.,..., & Ryan, N. (1997). Schedule for affective disorders and schizophrenia for school-age children-present and lifetime version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 36(7), 980–988.

Kebir, O., Tabbane, K., Sengupta, S., & Joobar, R. (2009). Examen critique Candidate genes and neuropsychological phenotypes in children with ADHD : review of association studies. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 34(2), 88–101.

Kenna, G.A., Roder-Hanna, N., Leggio, L., Zywiak, W. H., Clifford, J., Edwards, S., ..., & Swift, R. M. (2012). Association of the 5-HTT gene-linked promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with psychiatric disorders: Review of psychopathology and pharmacotherapy. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 5(1), 19–35.

Kiive, E., & Harro, J. (2013). The effect of serotonin transporter gene promoter polymorphism on adolescent and adult ADHD symptoms and educational attainment: A longitudinal study. *European Psychiatry*, 28(6), 372–378.

Kim, Y. & Chang, H. (2011). Correlation between attention deficit hyperactivity disorder and sugar consumption, quality of diet, and dietary behavior in school children. *Nutrition Research and Practice*, 5(3), 236–245.

Kissling, C., Retz, W., Wiemann, S., Coogan, A. N., Clement, R. M., Hünnerkopf, R.,..., & Thome, J. (2008). A polymorphism at the 3'-untranslated region of the CLOCK

gene is associated with adult attention-deficit hyperactivity disorder. *American Journal of Medical Genetics.Part B Neuropsychiatr.* 147(3), 333–338.

Klenberg, L., Hokkanen, L., Lahti-Nuutila, P., & Närhi, V. (2016). Teacher ratings of executive function difficulties in Finnish children with combined and predominantly inattentive symptoms of ADHD. *Applied neuropsychology. Child*, 6(4), 305-314.

Konofal, E., Cortese, S., Marchand, M., Mouren, M. C., Arnulf, I., & Lecendreux, M. (2007). Impact of restless legs syndrome and iron deficiency on attention-deficit/hyperactivity disorder in children. *Sleep medicine*, 8(7-8):711-715.

Konofal, E., Lecendreux, M., Arnulf, I., & Mouren, M. C. (2008). Iron deficiency in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 158(12), 1113-1115.

Kooij, S., & Bijlenga, D. (2014). The Circadian Rhythm in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Health. *ADHD Report*, 22(3), 399-406.

Lall, G. S., Atkinson, L. A., Corlett, S. A., Broadbridge, P. J., & Bonsall, D. R. (2012). Circadian entrainment and its role in depression: a mechanistic review. *Journal of Neural Transmission*, 119(10), 1085–1096.

Lan, M. Y., Chang, Y. Y., Chen, W. H., Kao, Y. F., Lin, H. S., & Liu, J. S. (2009). Serotonin transporter gene promoter polymorphism is associated with body mass index and obesity in non-elderly stroke patients, *Journal of Endocrinology Investigation*. 32(2), 119-122.

Lange, K.W. (2017). Dietary factors in the etiology and therapy of attention deficit / hyperactivity disorder. *Plos One*, 20(6), 464–469.

Larson, K., Russ, S. A., Robert, S., Kahn, D., & Halfon, N. (2009). Psychopharmacology of ADHD in pediatrics. *Current advances and issues. Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 5(1),171–81.

Lasky-Su, J., Neale, B. M., Franke, B., Anney, R. J., Zhou, K., Maller, J. B.,...,& Faraone, S. V. (2008). Genome-wide association scan of quantitative traits for Attention Deficit Hyperactivity Disorder identifies novel associations and confirms candidate gene associations. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatr. Genetics* 147B (8), 1345–1354.

Lee, Y. H., & Song, G. G. (2015). Meta-Analysis of Case-Control and Family- Based Associations Between the 5-HTTLPR L/S Polymorphism and Susceptibility to ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 1-8. doi:10.1177/1087054715587940.

Leibowitz, S. F., & Alexander, J. T. (1998). Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biological Psychiatry*, 44(9), 851–864.

Lesch, K. P. & Mössner, R. (1998). Genetically driven variation in serotonin uptake: Is there a link to affective spectrum, neurodevelopmental, and neurodegenerative disorders? *Biological Psychiatry*, 44(3), 179–192.

Lopez-Minguez, J., Morosoli, J. J., Madrid, J. A., Garaulet, M., & Ordoñana, J. R. (2017). Heritability of siesta and night-time sleep as continuously assessed by a circadian-related integrated measure. *Scientific Reports*, 7:12340. doi:10.1038/s41598-017-12460-x.

Lockley, S. W., Evans, E. E., Scheer, F. A., Brainard, G. C., Czeisler, C. A., & Aeschbach, D. (2006). Short-wavelength sensitivity for the direct effects of light on alertness, vigilance and the waking electroencephalogram in humans. *Sleep*, 29, 161-168.

Luan, R., Mu, Z., Yue, F., & He, S. (2017). Efficacy and Tolerability of Different Interventions in Children and Adolescents with Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 8: 229. doi: 10.3389/fpsy.2017.00229.

Ly, V., Bottelier, M., Hoekstra, P. J., Arias, A., Buitelaar, J. K., & Rommelse, N. N. (2017). Elimination diets' efficacy and mechanisms in attention deficit hyperactivity disorder and autism spectrum disorder. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 26(9), 1067–1079.

Madrid, J. A., Rol, M. A., & Sánchez, J. (2014). *Cronobiología básica y clínica. Edica Red*, Madrid-España.

Malone, S. K., Zemel, B., Compher, C., Souders, M., Chittams, J., Thompson, A. L., Lipman, T. H. (2016). Characteristics associated with sleep duration, chronotype, and social jet lag in adolescents. *The Journal of school Nursing*, 32(2), 120-131.

Markus, C. R., & Capello, A. E. (2007). Contribution of the 5-HTTLPR gene by neuroticism on weight gain in male and female participants. *Psychiatric Genetics*, 22(6) 279–285.

Massa, J., Stone, K. L., Wei, E. K., Harrison, S. L., Barrett-Connor, E., Lane, N. E., ...Schernhammer, E. (2015). Vitamin D and actigraphic sleep outcomes in older community-Dwelling men: the MrOS sleep study. *Sleep*, 38(2), 251-257.

Mazefsky, C. A., Anderson, R., Conner, C. M., & Minshew, N. (2011). Child behavior checklist scores for school-aged children with autism: preliminary evidence of patterns suggesting the need for referral. *Journal of Psychopathology and Behavioral Assessment*, 33(1), 31–37.

Mcgowan, N. M., Voinescu, B. I. & Coogan, A. N. (2016). Sleep quality, chronotype and social jetlag differentially associate with symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in adults. *Chronobiology International*, 33(10), 1433-1443.

Menegassi, M., De Mello, E. D., Guimarães, L. R., Matte, B. C., Driemeier, F., Pedroso, G. L., Rohde, L. A., & Schmitz, M. (2010). Food intake and serum levels of iron in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32(2), 132–138.

Meppelink, R., de Bruin, E.I., & Bögels, S. M., (2016) Meditation or Medication? Mindfulness training versus medication in the treatment of childhood ADHD: a randomized controlled trial. *BMC Psychiatry*, 16(1), 267. doi.org/10.1186/s12888-016-0978-3.

Miano, S., Esposito, M., Foderaro, G., Ramelli, G. P., Pezzoli, V., & Manconi, M. (2016). Sleep-related disorders in children with attention-deficit hyperactivity disorder:

preliminary results of a full sleep assessment study. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(11), 906–914.

Micó, V., Díez-Ricote, L., & Daimiel, L. (2016). Nutrigenetics and Nutrimomics of the Circadian System: The Time for Human Health. *International Journal of Medical Science*, 17 (3), 1-26.

Millichap, J. G. & Yee, M. M. (2012). The diet factor in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder, *Pediatrics*, 129(2), 330–337.

Millichap, J. G., Yee, M. M., & Davidson, S. I. (2006). Serum ferritin in children with Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Pediatric Neurology*, 34(3), 200–203.

Minors, D. S., & Watherhouse, J. M. (1988). Mathematical and statistical analysis of circadian rhythms. *Psychoneuroendocrinology*, 13(6), 443–464.

Miranda, R., Genro, J. P., Campagnolo, P. B., Mattevi, V. S., Vitolo, M. R., & Almeida, S. (2017). Biallelic and triallelic approaches of 5-HTTLPR polymorphism are associated with food intake and nutritional status in childhood. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 43(1), 47–52. doi: 10.1016/j.jnutbio.

Mogavero, F., Jager, A., & Glennon, J. C. (2016). Clock genes, ADHD and aggression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, S0149-7634(16), 30448-30451 doi:10.1016/j.neubiorev.2016.11.002.

Montgomery, P., Burton, J. R., Sewell, R. P., Spreckelsen, T. F., & Richardson, A. J. (2014). Fatty acids and sleep in UK children: subjective and pilot objective sleep results from the DOLAB study - a randomized controlled trial. *Journal of Sleep Research*, 23(4), 364–388.

Mousain-Bosc, M., Roche, M., Rapin, J., & Bali, J. P. (2004). Magnesium VitB6 intake reduces central nervous system hyper excitability in children. *Journal of the American College of Nutrition*, 23(5), 545S–548S.

Namkung, J., Kim, H., & Park, S. (2015). Peripheral Serotonin : a New Player in Systemic Energy Homeostasis, *38*(12), 1023–1028.

National Institute of Mental Health. *Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) publication*. Citado en Diciembre 2017. Descargado de: <http://www.nimh.nih.gov/health/publications/attention-deficit-hyperactivitydisorder/>.

Nigg, J., Lewis, K., Edinger, T., & Falk, M. (2012). Meta-Analysis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder or Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Symptoms, Restriction Diet, and Synthetic Food Color Additives Joel. *Journal of American Academy of Child & Adolescents Psychiatry*, *49*(18), 1841–1850.

Ng, Q. X., Ho, C. Y. X., Chan, H. W., Yong, B. Z. J., Yeo, W. S. (2017) Managing childhood and adolescent attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) with exercise: A systematic review. *Complementary therapies of medicine*, *34*, 123-128.

Oner, O., Oner, P., Bozhurt, O., Odabas, E., Keser, N., Karadag, H., & Kizilgun, M., (2010). Effects of zinc and ferritin levels on parent and teacher reported symptom scores in attention deficit hyperactivity disorder. *Child psychiatry and human development*, *41*(4), 441–447.

Oner, P., Dirik, E. B., Taner, Y., Caykoğlu, A., & Anlar, O. (2007). Association between low serum ferritin and restless legs syndrome in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, *213*(3), 269–276.

Oner, P., Oner, O., Azik, F. M., Cop, E., & Munir, K. M., (2012). Ferritin and hyperactivity ratings in attention deficit hyperactivity disorder. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*, *54*(5), 688–92

Park, S. Y., Kim, E. J., & Cheon, K. (2015). Association Between 5-HTTLPR Polymorphism and Tics after Treatment with Methylphenidate in Korean Children. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, *25*(8), 633–640.

Park, S., Cho, S. C., Hong, Y. C., Oh, S. Y., Kim, J. W., Shin, M. S., Kim, B. N., ..., & Bhang, S.Y. (2012). Association between dietary behaviors and attention-

deficit/hyperactivity disorder and learning disabilities in school-aged children. *Psychiatry Research*, 198(3), 468–476.

Parsons, M. J., Moffitt, T. E., Gregory, A. M., Goldman-Mellor, S., Nolan, P. M., Poulton, R., & Caspi, A. (2015). Social jetlag, obesity and metabolic disorder: Investigation in a cohort study. *International Journal of Obesity*, 39(5), 842–848.

Partinen, M., & Westermarck, T. (2014). Nutrition, sleep and sleep disorders – relations of some food constituents and sleep, pharmacology and nutritional intervention in the treatment of disease. *Faik Atroshi (Ed), InTech*. doi:10,5772/58345

Patrick, R. P., & Ames, B. N. (2015). Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: Relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB Journal*. 29(6), 2207–2222.

Pelsser, L. M., Frankena, K., & Buitelaar, J. K. (2010). Effects of food on physical and sleep complaints in children with ADHD: A randomized controlled pilot study. *European Journal of Pediatrics*, 169(9), 1129–1138.

Pelsser, L. M., Frankena, K., Toorman, J., & Pereira, R. R. (2017). Diet and ADHD , Reviewing the Evidence : A Systematic Review of Meta-Analyses of Double-Blind Placebo-Controlled Trials Evaluating the Efficacy of Diet Interventions on the Behavior of Children with ADHD. *Plos One*, 12(1): e0169277.

Percinel, I., Yazici, K. U. & Ustundag, B. (2016). Iron Deficiency Parameters in Children and Adolescents with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Child Psychiatry & Human Development*, 47(2), 259–269

Peuhkuri, K., Sihvola, N., & Korpela, R. (2012a). Diet promotes sleep duration and quality. *Nutrition Research*, 32(5), 309–19.

Peuhkuri, K., Sihvola, N., & Korpela, R. (2012b). Dietary factors and fluctuating levels of melatonin. *Food & Nutrition Research*, 56. doi.org/10.3402/fnr.v56i0.17252

Polanczyk, G. V., Salum, G. A., Sugaya, L. S., Caye, A., & Rohde, L. A. (2015). Annual research review: A meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 56(3), 345–365.

Pontifex, M. B., Saliba, B. J., Raine, L. B., Picchietti, D. L., & Hillman, C. H. (2013). Exercise improves behavioral, neurocognitive, and scholastic performance in children with ADHD. *The Journal of Pediatrics*, 162(3), 543–551.

Ponto, L. B., & Schultz, S. K. (2003) Ginkgo biloba extract: review of CNS effects. *Annals of Clinical Psychiatry*, 15(2), 109–119.

Pritchett, D., Wulff, K., Oliver, P. L., Bannerman, D. M., Davies, K. E., Harrison, P. J.,..., & Foster, R. G. (2012). Evaluating the links between schizophrenia and sleep and circadian rhythm disruption. *Journal of Neural Transmission*. 119(10), 1061–1075.

Puper-Ouakil, D., Ramoz, N., Lepagnol-Bestel, A.M., Philip, G. & Simmoneau, M.(2008). Neurobiology of attention deficit hyperactivity disorder. *Child & Adolesc Psychiatr Clinics of North America*, 17(2), 285–307.

Reppert S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935–941.

Ríos-Hernández, A., Alda, J. A., Farran-Codina, A., Ferreira-García, E., & Izquierdo-Pulido M. (2017). The Mediterranean Diet and ADHD in Children and Adolescents. *Pediatrics*, 139 (2):e20162027

Rodríguez, I. T., Ballart, J. F., Pastor, G. C., Jordà, E. B., & Arijá, V. (2008). Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto : reproducibilidad y validez. *Nutrición Hospitalaria*, 23(3), 242–252.

Roenneberg, T., Kuehne, T., Juda, M., Kantermann, T., Allebrandt, K., Gordijn, M., & Mellow, M. (2007). Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Medicine Reviews*, 11(6), 429–438

Rondanelli, M., Opizzi, A., Monteferrario, F., Antonello, N., Manni, R., & Klersy, C. (2011). The effect of melatonin, magnesium, and zinc on primary insomnia in long-term care facility residents in Italy: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59(1), 82–90.

Ruiz-Lozano, T., Vidal, J., de Hollanda, A., Canteras, A., Garaulet, M., & Izquierdo-Pulido, M. Evening-chronotype associates with obesity in severe obese subjects: interaction with CLOCK 3111T/C. *International Journal of Obesity*, 40(10), 1550-1557.

Rybak, Y. E., McNeely, H. E., Mackenzie, B. E., Jain, U. R., & Levitan, R. D. (2006). An open trial of light therapy in adult Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 67(10), 1527–1535.

Salehi, B., Mohammadbeigi, A., Sheykhoslam, H., Moshiri, E., & Dorreh, F. (2016). Omega-3 and Zinc supplementation as complementary therapies in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Research in Pharmacy Practice*, 5(1), 22-26.

San Mauro, M., Blumenfeld, J. A., Garicano-Vilar, E., Echeverry-López, M., García-Bernat, M., Quevedo-Santos, Y.,..., & Rincón-Barrado, M. (2017). Nutritional and environmental factors in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): A cross-sectional study. *Nutritional Neuroscience*, 11:1–7. doi:10.1080/1028415X.2017.1331952

Schredl, M., Alm, B., & Sobanski, E. (2007). Sleep quality in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 257(3), 164–168

Schuch, V., Utsumi, D. A., Machado, TV., Domenici, L., & Muskat, M. (2015). Attention deficit hyperactivity disorder in the light of the epigenetic paradigm. *Frontiers in Psychiatry*, 6(9), 1–7.

Serrano-Troncoso, E., Guidi, M. & Alda-Díez, J. Á. (2013). Is psychological treatment efficacious for attention deficit hyperactivity disorder (ADHD)? Review of non-

pharmacological treatments in children and adolescents with ADHD. *Actas españolas de psiquiatría*, 41(1) 44–51.

Sha'ari, N., Manaf, Z. A., Ahmad, M., & Rahman, F. N. A. (2017). Nutritional status and feeding problems in pediatric attention deficit–hyperactivity disorder. *Pediatrics International*, 59(4), 408–415.

Shaw, P., Stringaris, A., Nigg, J., & Leibenluft, E. (2014). Emotional dysregulation and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 171(3), 276–293.

Smalley, S. L., Loo, S. K., Hale, T. S., Shrestha, A., Mcgough, J., Flook, L., & Reise, S. (2009) Mindfulness and attention deficit hyperactivity disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*. 65(10), 1087–1098.

Smith, A. L., Hoza, B., Linnea, K., McQuade, J. D., Tomb, M., Vaughn, A. J.,..., & Hook, H. (2013) Pilot physical activity intervention reduces severity of ADHD symptoms in young children, *Journal of Attention Disorders*, 17(1), 70–82.

Smolensky, M. H., Portaluppi, F., Manfredini, R., Hermida, R. C., Tiseo, R., Sackett-Lundeen, L. L., & Haus, E. L. (2015). Diurnal and twenty-four hour patterning of human diseases: acute and chronic common and uncommon medical conditions. *Sleep Medical Reviews*. 21, 12–22. doi: 10.1016/j.smr.2014.06.005

Sobanski, E., Schredl, M., Kettler, N., & Alm, B. (2008). Sleep in adults with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) before and during treatment with methylphenidate: A controlled polysomnographic study. *Sleep*, 31(3), 375–381.

Soleimani, R., Salehi, Z., Soltanipour, S., Hasandokht, T., & Jalali, M. M. (2017). *SLC6A3* polymorphism and response to methylphenidate in children with ADHD: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 10(1), 1-14.

Sonuga-Barke, E. J. (2015). Diet and children's behaviour problems - disentangling urban myth from clinical reality. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 56(5), 495–499.

Sonuga-Barke, E.J., Brandeis, D., Cortese, S., Daley, D., Ferrin, M., Holtmann, M., Sergeant, J. (2013). Nonpharmacological interventions for ADHD: systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials of dietary and psychological treatments. *The American Journal of Psychiatry*, 170(3), 275–289.

Sookoian, S., Gemma, C., Garcia, S. I, Gianotti, T. F, Dieuzeide, G., Roussos, A.,...Pirola, C. J. (2007). Short allele of serotonin transporter gene promoter is a risk factor for obesity in adolescents. *Obesity (Silver Spring)*, 15(2), 271–276.

Spencer, T. J., Faraone, S. V., Surman, C. H., Petty, C., Clarke, A., Batchelder, H., & Wozniak, J. (2011). Towards Defining Deficient Emotional Self Regulation in Youth with Attention Deficit Hyperactivity Disorder Using the Child Behavior Check List : A Controlled Study. *Postgraduate Medical Journal*, 123(5), 50–59.

Spiegel, K., Leproult, R., L'Hermite-Balériaux, M., Copinschi, G., Penev, P. D., & Van Cauter, E. (2004). Leptin levels are dependent on sleep duration: Relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(11), 5762–5771.

St-Onge, M. P., Mikic, A., & Pietrolungo, C. E. (2016). Effects of diet on sleep quality. *Advances in Nutrition* 7(5), 938-949.

Tenenbaum, S., Paull, J. C., Sparrow, E. P., Dodd, D. K., & Green, L. (2002). An experimental comparison of Pycnogenol and methylphenidate in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Journal of Attention Disorders*, 6(2), 49–60.

Tonetti, L., Conca, A., Giupponi, G., & Natale, V. (2017). Circadian pattern of motor activity in adults with attention-deficit / hyperactivity disorder. *Chronobiology International*, 34(6), 802–807.

U.S. National library of Medicine. Genetics Home Reference. Descargado en <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SLC6A4>.

Ulloa, R. E., Ortiz, S., Higuera, F., Nogales, I., Fresán, A., Apiquian, R.,..., de la Peña, F. (2006) Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL) [in Spanish]. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 34(1), 36–40.

Van der Heijden, K. B., Smits, M. G., & Gunning, W.B., (2005). Sleep-related disorders in ADHD: A review. *Clinical Pediatrics*, 44(3) 201–210.

Van der Meer, D., Hoekstra, P.J., Zwiers, M., Mennes, M., Schweren, L.J., Franke, B., ... Hartman, CA. (2015). Brain correlates of the interaction between 5-HTTLPR and psychosocial stress mediating attention deficit hyperactivity disorder severity. *American Journal of Psychiatry*, 172(8), 768–775.

Van Egmond-Fröhlich, A.W., Weghuber, D., & de Zwaan, M. (2012). Association of symptoms of attention-deficit/hyperactivity disorder with physical activity, media time, and food intake in children and adolescents. *Plos One*, 7(11), e49781.

Van Oudheusden, L. J., & Scholte, H. R. (2002). Efficacy of carnitine in the treatment of children with attention-deficit hyperactivity disorder, *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 67(1), 33–38.

Van Someren, E. J., Swaab, D. F., Colenda C. C, Cohen W, McCall W. V, & Rosenquist P. B. (1999). Bright light therapy: improved sensitivity to its effects on rest-activity rhythms in Alzheimer patients by application of nonparametric methods. *Chronobiology International*, 16(4), 505-518.

Van Veen, M. M., Kooij, J. J., Boonstra, A. M., Gordijn, M. C., & Van Someren, E. J. (2010). Delayed circadian rhythm in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder and chronic sleep-onset insomnia. *Biological Psychiatry*, 67(11), 1091–1096.

Vélez-Galarraga, R., Guillén-Grima, F., Crespo-Eguílaz, N., & Sánchez-Carpintero, R. (2016). Prevalence of sleep disorders and their relationship with core symptoms of

inattention and hyperactivity in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *European Journal of Paediatric Neurology*, 20(6), 925–937.

Vogel, S. W., Bijlenga, D., Tanke, M., Bron, T. I., van der Heijden, K. B., Swaab, H., ..., & Sandra Kooij, J. J. (2015). Circadian rhythm disruption as a link between Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and obesity? *Journal of Psychosomatic Research*, 79(5), 443–450.

Vogel, S. W., Ten Have, M. L., Bijlenga, D., de Graaf, R., Beekman, A. T., Kooij, J. J. (2016). Seasonal variations in the severity of ADHD symptoms in the Dutch general population. *Journal of Attention Disorders*. doi: 10.1177/1087054716649663

Voinescu, B. I., Szentagotai, A., & David, D. (2012). Sleep disturbance, circadian preference and symptoms of adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Journal of Neural Transmission*. 119(10), 1195–1204.

Walters, A. S., Silvestri, R., Zucconi, M., Chandrashekariah, R., & Konofal, E. Review of the Possible Relationship and Hypothetical Links Between Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) and the Simple Sleep Related Movement Disorders, Parasomnias, Hypersomnias, and Circadian Rhythm Disorders. *Journal of Clinical Sleep Medicine* 4(6), 591-600.

Wang, Y., Huang, L., Zhang, L., Qu, Y., & Mu, D. (2017) Iron Status in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos One*, 2(1): e0169145.

Wechsler, D., (2005) *Escala de Inteligencia de Wechsler para Niños – IV (WISC-IV) TEA Edición*, Madrid, Spain.

Weissenberger, S., Ptacek, R., Klicperova-Baker, M., Erman, A., Schonova, K., Raboch, J., & Goetz, M. (2017). ADHD, lifestyles and comorbidities: A call for an holistic perspective-From medical to societal intervening factors. *Frontiers in Psychology*, 6(8), 1-13. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00454

Wendland, J. R., Martin, B. J., Kruse, M. R., Lesch, K. P., & Murphy, D. L. (2006). Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Molecular Psychiatry*, *11*(3), 224–226.

Weyandt, L., Swentosky, A., & Gudmundsdottir, B. G. (2013). Neuroimaging and ADHD: FMRI, PET, DTI findings, and methodological limitations. *Developmental Neuropsychology*, *38*(4), 211–25.

Wigglesworth, J. M. & Baum, H. B., (1998). Iron dependent enzymes in the brain. In: Brain iron: neurochemical and behavioral aspects. Yodanis, M. B. H., ed, *Taylor and Francis*; New York, 25–66.

Wolraich, M. L. (1995). The effect of sugar on behavior or cognition in children. A meta-analysis. *JAMA*, *274*(20), 1617-1621.

Wurtman, R. J., & Wurtman, J. J. (1995). Brain Serotonin, Carbohydrate-Craving, Obesity and Depression. *Obesity Research*, *3*(4), 477–480.

Xu, X., Breen, G., Chen, C. K., Huang, Y.S., Wu, Y.Y., & Asherson, P. (2010). Association study between a polymorphism at the 3'-untranslated region of CLOCK gene and attention deficit hyperactivity disorder. *Behavioral Brain Function*. *6*: 48. doi.org/10.1186/1744-9081-6-48.

Yang, H. N., Tai, Y. M., Yang, L. K., & Gau, S. F. (2013). Prediction of childhood ADHD symptoms to quality of life in young adults: Adult ADHD and anxiety/depression as mediators. *Research in Developmental Disabilities*, *34*(10), 3168–3181.

Yang, S. C. & Shieh, K. R. (2009). Implications of Circadian Rhythms on Metabolic Disorders. *Tzu Chi Medical Journal*, *21*(4), 285–288.

Yoo, H., Seung-Chul, H., & Jong-Hyun, J. (2017). Sleep Problems as Predictors in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Causal Mechanisms, Consequences and Treatment. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience : The Official Scientific Journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology*, *15*(1), 9–18.

Young, G & Conquer, J. (2005). Omega-3 fatty acids and neuropsychiatric disorders. *Reproduction Nutrition Development*, 45(1), 1–28.

Yu, C. J., Du, J. C., Chiou, H. C., Feng, C. C., Chung, M. Y., Yang, W., ..., & Chen, M. L. (2016). Sugar-Sweetened Beverage Consumption Is Adversely Associated with Childhood Attention Deficit/Hyperactivity Disorder. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(7), E678. doi: 10.3390/ijerph13070678.

Yürümez, E., & Kılıç, B. G. (2016). Relationship between sleep problems and quality of life in children with ADHD. *Journal of Attention Disorders*, 20(1), 34–40.

Zadeh, S. S., & Begum, K. (2011). Comparison of nutrient intake by sleep status in selected adults in Mysore, India. *Nutrition Research and Practice*, 5(3), 230–235.

Zhou, F., Wu, F., Zou, S., Chen, Y., Feng, C., & Fan, G. (2016). Dietary, Nutrient Patterns and Blood Essential Elements in Chinese Children with ADHD. *Nutrients*, 8(6), 352. doi: 0.3390/nu8060352.



Aspectos (troubleshooting) Errores y Matices en psiquías con Trastorno de Atención e Hiperactividad

8. Anexos

A1. Otras publicaciones en revistas indexadas.**A.1 Sistema Indígena Diversificado de Cultivos y Desarrollo Local en la Amazonía Ecuatoriana.**

Ruth I. Arias Gutiérrez¹, Tannia Valeria Carpio Arias², Angelina Herrera Sorzano³ y Roberto González Sousa³.

1. *Universidad Estatal Amazónica*
2. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*
3. *Universidad de la Habana.*

Revista Cultivos Tropicales 2017;37(2), 7-14

ABSTRACT. *Kichwa* amazon biodiverse agro system is analyzed, focusing to species with adding value possibility, incomes and economic quantification of the use of agro biodiversity in native *Kichwa* territory in the Ecuadorian Amazon, as elements to establish sustainable local development strategies for rural communities in the Andean sub central sector colonized. Qualitative methods by records in nine events research with communities and regional organizations and quantitative methods through 64 questionnaires in six rural communities in the lower reaches, middle and top of the Anzu river valley were used. There were recorded up to 482 flora species but not their uses; cultivated species list based on usage, consumer acceptance, relative abundance and possibility of value added is selected; undervaluing the contribution of the system is analyzed because quantification does not exceed 15 % of total family income, although communities establish a 67 % dependence on forest resources for food and agricultural livelihoods. The local development strategies should include partnerships between universities and communities in the territory in relation to respect, fairness and collaboration for research Amazonian fruit processing, enrichment and support of agro-ecosystems in this area for forestry and conservation.

SISTEMA INDÍGENA DIVERSIFICADO DE CULTIVOS Y DESARROLLO LOCAL EN LA AMAZONIA ECUATORIANA

Diversified crops indigenous system and local development
in Ecuadorian Amazonia

Ruth I. Arias Gutiérrez^{1*}, Tannia Valeria Carpio Arias²,
Angelina Herrera Sorzano³ y Roberto González Sousa³

ABSTRACT. *Kichwa* amazon biodiverse agro system is analyzed, focusing to species with adding value possibility, incomes and economic quantification of the use of agro biodiversity in native *Kichwa* territory in the Ecuadorian Amazon, as elements to establish sustainable local development strategies for rural communities in the Andean sub central sector colonized. Qualitative methods by records in nine events research with communities and regional organizations and quantitative methods through 64 questionnaires in six rural communities in the lower reaches, middle and top of the Anzu river valley were used. There were recorded up to 482 flora species but not their uses; cultivated species list based on usage, consumer acceptance, relative abundance and possibility of value added is selected; undervaluing the contribution of the system is analyzed because quantification does not exceed 15 % of total family income, although communities establish a 67 % dependence on forest resources for food and agricultural livelihoods. The local development strategies should include partnerships between universities and communities in the territory in relation to respect, fairness and collaboration for research Amazonian fruit processing, enrichment and support of agro-ecosystems in this area for forestry and conservation.

Key words: agrobiodiversity, local communities,
rural development, sustainability

RESUMEN. Se analiza el sistema agrobiodiverso *Kichwa* amazónico, con énfasis en las principales especies promisorias susceptibles de agregación de valor y que están asociadas a sus cultivos diversificados, ingresos y cuantificación económica de las formas de aprovechamiento de la agro biodiversidad, como elementos para establecer estrategias de desarrollo local sostenible para comunidades rurales en el sector central sub andino colonizado. Se utilizaron métodos cualitativos mediante registros en nueve eventos de investigación con las comunidades y sus organizaciones regionales y métodos cuantitativos, a través de 64 cuestionarios aplicados en seis comunidades rurales en el curso bajo, medio y alto del río Anzu. Se informaron hasta 482 especies de flora pero no sus usos; se establece un listado de especies cultivadas, en función del uso, aceptación de consumo, abundancia relativa y posibilidad de valor agregado; se analiza la subvaloración del aporte del sistema, pues su cuantificación no supera el 15 % del total de ingresos familiares, pese a que las comunidades establecen un 67 % de dependencia de los recursos de la selva y agropecuarios para la subsistencia alimentaria. Se propone construir procesos, proyectos y planes de acción conjunta y permanentes, conocidos en asambleas por las comunidades, en base a un diálogo participativo, un marco jurídico y una ética de respeto a los derechos colectivos, que permitan mantener nexos entre la universidad, las comunidades y otras entidades, para investigar, replicar y compartir beneficios, información y transferencia de conocimientos y tecnologías.

Palabras clave: agrobiodiversidad, comunidades locales,
desarrollo de la comunidad, sostenibilidad

INTRODUCCIÓN

Los pueblos indígenas, en el mundo, dependen de los productos de la naturaleza, ocupan y usan determinados territorios desde antes de la conformación de los estados nacionales, conservan su identidad, tienen experiencias de marginación y sometimiento, pero también características y

¹ Universidad Estatal Amazónica, Paso lateral km 2¼ vía Napo, Pastaza-Ecuador.

² Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Panamericana Sur, km 1¼, vía Guayaquil, Riobamba, Ecuador.

³ Universidad de La Habana, edificio Mella, calle L y 21, Vedado, Plaza, La Habana, Cuba.

* ruth.arias@geo.uea.edu.ec; rarias@uea.edu.ec

Ruth I. Arias Gutiérrez, Tannia Valeria Carpio Arias, Angelina Herrera Sorzano, Roberto González Sousa

conocimientos singulares que pueden contribuir al desarrollo sostenible y equitativo (1); muchos migran cuando los recursos del área se agotan, hasta que el ambiente natural se regenera y se puede usar de nuevo (2). Con su cosmovisión, los pueblos indígenas amazónicos desarrollan sistemas de agricultura de subsistencia que conservan biodiversidad, la que se considera el resultado de la cultura y del control del territorio por las comunidades locales, expresión de autonomía, conocimiento, identidad y economía (3).

Los sistemas de vida de los pueblos indígenas se alteran por procesos relacionados al desarrollo, por decisiones políticas, explotación de recursos naturales, minería, urbanización, modernización, desarrollo de infraestructura, cambio climático y calentamiento global (2). La colonización de la Amazonia se propició por esas experiencias de desarrollo que aplican conocimiento y poder desde una racionalidad completamente distinta a la que ha existido en cada lugar (3); fragmentó la posesión del territorio indígena originario en la zona colonizada, pero no sus sistemas de agricultura biodiversos y de subsistencia.

Mientras entre el año 2012 y el 2013 Ecuador ascendió cinco puntos en el Índice de Desarrollo Humano (IDH), al pasar de un IDH de 0,708 a 0,711, para ubicarse en el puesto 95, como país de IDH medio, en la región amazónica ecuatoriana, en las provincias con mayor población indígena, todavía se registran los peores indicadores de pobreza, concepto disonante en la representación de la Amazonia como espacio de la abundancia (4). Aunque los estudios de la cuenca amazónica enfatizan en la deforestación, como principal responsable de la reducción del bosque (5), pocos estudios se desarrollan en las fronteras de colonización, lo que indica la dificultad en coleccionar datos (6). En la frontera de colonización permanecen comunidades indígenas *Kichwa* amazónicas con su riqueza de sistemas de vida, de agricultura adaptada al medio y uso de la biodiversidad, pero en desventaja de ingresos económicos para resolver las necesidades de vestido, educación, transporte, salud, especialmente porque hay déficit en el aprovechamiento de la biodiversidad amazónica que conocen y en la producción del conocimiento científico que considere el ámbito étnico propio de las comunidades, sus posibilidades y recursos en el territorio, en términos de sostenibilidad, puesto que los modelos de desarrollo asignados a la región amazónica no han significado beneficio para sus pobladores. Esas consideraciones sitúan a las opciones agropecuarias con valor agregado y de formación del capital humano en las naciones indígenas, como nuevas perspectivas de desarrollo.

El objetivo de la investigación es analizar el sistema agrobiodiverso *Kichwa* amazónico, las principales especies promisorias (asociadas a sus

cultivos diversificados) que pueden agregar valor, los ingresos a partir de aprovechamiento de la agrobiodiversidad amazónica en seis comunidades rurales ubicadas en el territorio de la nación originaria *Kichwa* amazónica ecuatoriana, afectadas por la colonización en el valle del Anzu y la percepción discutida con las representaciones indígenas amazónicas para establecer una estrategia de desarrollo rural local sostenible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y características geográficas: las comunidades indígenas *Kichwa* en el área de estudio, provienen de la provincia de Napo, registran asentamiento permanente desde finales del siglo XIX, excepto Unión de Llandia, con más población de campesinos migrantes de la región Interandina o Sierra, producto del proceso de colonización. Se ubican desde los 508 m s. n. m. hasta los 1 200 m s. n. m. en las estribaciones orientales de Los Andes centrales, al sur de la zona subandina, identificada como Levantamiento Napo, sobre suelos aluviales hidromórficos de vocación forestal, origen volcánico y fines de conservación; suelos formados por los conos de deyección en el piedemonte amazónico, como consecuencia de la fusión de los casquetes glaciares plio-cuatenarios y de la actividad volcánica y sísmica (7). Estas comunidades están ubicadas en el bosque húmedo tropical, la pluviosidad supera los 8 000 mm anuales; temperatura promedio entre 20 y 24 °C; clima tropical húmedo; topografía con pendientes, desde terrenos relativamente planos en las zonas más bajas, hasta inclinaciones de 70° o más, en las altitudes mayores.

Indicadores medidos: ciclo del sistema agrobiodiverso *Kichwa* amazónico; principales especies promisorias susceptibles de agregación de valor y que están asociadas a sus cultivos diversificados; ingresos y aprovechamiento de la agrobiodiversidad amazónica; percepción de estrategias de desarrollo rural local sostenible.

METODOLOGÍA

Comunidades seleccionadas: se seleccionaron seis comunidades en el área rural no servida por la carretera principal troncal amazónica, en los cauces bajo, medio y alto del valle del río "Anzu", en base a su vulnerabilidad, por encontrarse en un sector de colonización que extrae recursos y destruye su base material de existencia. Se diseñó el acercamiento a las comunidades, a través de contactos con sus dirigentes y miembros de estas. El permiso para desarrollar la presente investigación se obtuvo por consenso en asamblea comunitaria. La investigación de campo se desarrolló entre julio 2012 y julio 2014. Se utilizaron métodos cualitativos y cuantitativos.

Métodos cualitativos: estudio de caso y observación participante de nueve eventos públicos de las comunidades de la nación *Kichwa*, donde discuten su realidad en proceso de cambio y tienen su propio criterio sobre el camino que mejor satisface sus aspiraciones (8). Se indagó sobre el sistema agrobiodiverso *Kichwa* amazónico, principales especies promisorias susceptibles de agregación de valor asociadas a sus cultivos diversificados, el uso de tecnologías para dar valor agregado a las materias primas, el vínculo con las universidades y la calidad de la educación.

Métodos cuantitativos: se aplicó el método estadístico de medición de impacto (9, 10), a partir de cuestionarios a las 64 familias de las seis comunidades y un cuestionario para sus dirigentes. Se recurre a la maximización del ingreso probable y los riesgos de diversificación (8), con preguntas sobre uso, destino y cuantificación económica de las formas de aprovechamiento de la agrobiodiversidad amazónica, bajo el supuesto de "cuánto cuesta", "en cuánto puede comprar", "en cuánto puede vender", para el año de referencia, 2012.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sistema agrobiodiverso *Kichwa* amazónico se forma con el ciclo *chacra-ushun-purun* y el aprovechamiento de recursos renovables de la selva en recorridos estacionales.

La *chacra* posee variedad de especies que satisfacen las necesidades alimentarias anuales de la familia; se siembra primero maíz o plátanos, luego yuca, frijol, naranjas, mandarinas, cacao, naranjilla, chonta, ají, calabaza, fruta bomba, piñas y otras especies; se instalan en bosques primarios o secundarios para aprovechar la fertilidad orgánica, se cultivan varios años.

Después del primer año o las primeras cosechas, toma el nombre de *ushun*, se resiembran yuca y otros tubérculos, se incrementan plátanos, palmas útiles y árboles frutales; mientras se cosecha yuca y plátanos continua el *ushun*.

Cuando ya no se cosecha se transforma en *purun*, proceso de regeneración natural en el que se cultivan árboles y palmas, formando bosques secundarios con gran diversidad de especies de árboles útiles, que pueden llegar a tener una configuración boscosa, con abundancia de especies comestibles y de utilidad en la obtención de biopreparados con fines médicos, medicinales y alimenticios.

El aprovechamiento de productos renovables del bosque se complementa en recorridos hacia los antiguos *purun*, cotos de caza y pesca, llamados *purinas*. Las comunidades reportan usos alimenticios, medicinales, artesanales y mitológicos sobre especies de flora y fauna de las *chacras*, *ushun*, *purun* y *purinas*. Mientras en la selva baja, otras comunidades registran hasta 368 especies de flora, 28 especies de mamíferos, 51 especies de aves y 141 especies de peces (11), en la zona de estudio las comunidades *Kichwa* tienen hasta 38 especies de mamíferos, 62 especies de aves y 482 especies de flora (12); es decir, más especies, pero no se reportan todos los usos posibles de lograr de las especies conocidas, tal como lo hacen las comunidades de la selva baja. Este hecho sugiere que el conocimiento de las especies existentes en el sistema territorial indígena *Kichwa*, incluyendo sus usos, tienen riesgo de disminuir, según avanza la frontera de colonización; no obstante, se enfatiza que los territorios indígenas mantienen gran riqueza de biodiversidad, aun en áreas colonizadas y que se usan los recursos solo como materias primas, sin aplicación de la ciencia y la técnica que permita agregar valor; esto pudiera lograrse a partir del vínculo con proyectos de investigación con las universidades existentes en el territorio local.

Algunas especies del sistema agrobiodiverso *Kichwa*, también se destinan para la venta. La Tabla I indica el destino de uso doméstico y para la venta, de los productos que extraen de la selva en las comunidades en estudio.

En promedio, más de la mitad de las familias extraen productos de la selva, el mayor uso es de subsistencia antes que para la venta. La cantidad monetaria que las familias reciben de los productos aprovechados en el bosque o selva son una parte de sus ingresos anuales declarados.

Tabla I. Cuantificación y destino de recursos de selva (2012), en porciento y costo (USD)

Aprovechamiento de productos del bosque o la selva	Tzawata	Wayuri	Flor de bosque	Boayaku	Unión de Llandia	Veinticuatro de mayo	Promedio
Familias que extraen productos de la selva (%)	34	67	78	85	40	50	59
Productos de selva, uso doméstico (%)	70	100	70	7	21	42	52
Para venta (%)	30	-	30	93	79	58	48
Promedio anual por familia que extrae (USD)	520,00	215,00	533,00	960,00	813,00	160,00	534,00

Elaborada por los autores en base a los cuestionarios aplicados a nivel familiar

Ruth I. Arias Gutiérrez, Tannia Valeria Carpio Arias, Angelina Herrera Sorzano, Roberto González Sousa

En cuanto a las especies en cultivos diversificados, las *chacras* de las comunidades *Kichwa* son también espacios ecológicos, simbólicos, económicos y sociales de trabajo recíproco entre los miembros de la familia (13); mientras tienen mayor cantidad de especies útiles en cultivos diversificados, otorgan más prestigio a las familias y comunidades, mejores condiciones de pervivencia, conocimiento, aprovechamiento y trabajo.

Las chacras no emplean ningún químico y llegan a tener hasta 107 especies asociadas, alimenticias, rituales, medicinales, saborizantes, cosméticas e incluso una especie tóxica, el barbasco (*Lonchocarpus utilis*), utilizado en la pesca (11); este conocimiento empírico debe fortalecerse con estudios de las colecciones, de las asociaciones de cultivos, la instalación de bancos de gemoplasma *in situ* que permitan la investigación de la amplia biodiversidad para desarrollar productos elaborados con valor agregado y procesos agroindustriales, mediante proyectos científicos con las universidades del territorio, considerando la forma de actuación y ritmo de trabajo y

necesidades de las comunidades, no de forma lineal, sin considerar la magnitud de tiempo holístico comunitario (14).

En la Tabla II se presentan plantas alimenticias, medicinales, saborizantes, cosméticas, rituales y tóxicas de uso en las comunidades estudiadas. Muchas de estas tienen posibilidad de incremento de siembra y valor agregado, porque se consideran con altas cualidades organolépticas, digestivas y nutritivas (15), excepto las rituales y tóxicas, que tienen empleo cultural específico.

Las especies que se presentan en el listado de la tabla, pueden tener más de un tipo de uso conocido por las comunidades, así como pueden todas o algunas de ellas tener propiedades para biopreparados, probióticos, prebióticos, aceites esenciales omegas y otras cualidades de beneficio que se necesitan investigar. Asociadas a las estructuras de los sistemas diversificados de cultivo de las comunidades locales, se encuentra el incremento de siembras en esos ecosistemas y las relaciones en red entre las familias, pero no es deseable ni pertinente establecer monocultivos.

Tabla II. Plantas alimenticias, medicinales, saborizantes y cosméticas, rituales y tóxicas en las comunidades estudiadas

Nombre común	Nombre científico	Uso
Plantas alimenticias		
Achiote	<i>Bixa Orellana</i>	Colorante alimenticio. Uso en quemaduras
Apio	<i>Pouteria caimito</i>	Fruta, conservas
Uvillas	<i>Puorumma tomentosa</i>	Fruta, conservas
Chontaduro	<i>Bactris gasipaes</i>	Fruto de consumo humano; cualidades para elaborar aceite, alimento animal, jabones
Guabas	<i>Inga sp.</i>	Fruta, conservas
Killa	<i>Theobroma bicolor</i>	Fruta; elaborados de chocolate y bebidas
Mani de árbol	<i>Caryodendron orinocense</i>	Fruta; elaborados de aceites
Morete	<i>Mauritia flexuosa</i>	Fruta, conservas, artesanía
Naranjilla	<i>Solanum quituensis</i>	Fruta, uso para néctares y conservas
Papayagua	<i>Artocarpus altilis</i>	Fruto. Cualidades para control de colesterol
Paka kambi	<i>Theobroma subincanum</i>	Fruta, conservas
Plantas medicinales		
Chuchuhuazo	<i>Maytenus macrocarpa</i>	Reumatismo
Curarina	<i>Potalia amara</i>	Mordedura de serpiente
Guayusa	<i>Ilex guayusa</i>	Vigorizante, refrescante
Leche de oje	<i>Ficus insipida</i>	Dolencias estomacales
Sangre de drago	<i>Croton lechleri</i>	Heridas
Uña de gato	<i>Uncaria tomentosa</i>	Antioxidante
Plantas saborizantes		
Aji	<i>Capsicum sp</i>	Condimento picante. Antimicrobiano
Ajo	<i>Mansoa alliacea</i>	Condimento. Antimicrobiano
Ishpingu	<i>Ocotea quijos</i>	Condimento aromatizante
Maria panga	<i>Piper peltatum</i>	Condimento aromatizante: Uso en dolores.
Plantas cosméticas		
Shiwa	<i>Oenocarpus batava</i>	Aceite para cuidar el cabello
Wiruk	<i>Genipa americana</i>	Colorante natural
Plantas rituales		
Ayahuasca	<i>Banisteriopsis caapi</i>	Contacto con el mundo espiritual, por shamanes
Copal	<i>Protium fimbriatum</i>	Cera para encender
Incienso	<i>Cusia cf. Multiflora</i>	Aromatizante, purificación de ambientes
Waira panga	<i>Siparuna thecaphora</i>	Limpieza en el mundo espiritual por shamaes
Wanruk	<i>Brugmancia suaveolens</i>	Contacto con el mundo espiritual, por shamanes, protección en contusiones graves
Plantas tóxicas		
Barbasco	<i>Lonchocarpus utilis</i>	Tóxico para peces

Elaborada por los autores en base a la investigación de campo

Relacionado con los ingresos y composición económica del aprovechamiento de la agro biodiversidad amazónica; además de las especies indicadas en la Tabla II y de la extracción de maderas suaves para cajas contenedoras de mercancías y maderas finas para muebles y para construcción de viviendas, las familias cultivan para consumo y comercialización, plátano, yuca, papachina, naranjilla, caña de azúcar y cítricos, entre las principales especies que contribuyen a la economía familiar, también formada por la crianza de animales domésticos; pero también se registran ingresos monetarios provenientes de negocios y empleos, bonos y subsidios de desarrollo humano que reciben las familias en condición de pobreza material (Tabla III).

Los recursos renovables provenientes de la selva, tanto para uso doméstico como los que se destinan para la venta, no son ingresos monetarios directos sino una cuantificación monetaria de todos los bienes y servicios del sistema en que viven las comunidades en el área de estudio (6).

Los ingresos monetarios en efectivo, en dólares americanos, por negocio propio y por empleo fuera del hogar, son más elevados que los demás ingresos en todas las comunidades, excepto en Unión de Llandia, en la que la cuantificación de bienes de cultivos y animales llega a 53 % y en Boayaku, donde el porcentaje es similar al de cultivos y animales, ambos en 41 %.

Estos ingresos monetarios no están disponibles para todas las familias dentro de cada comunidad, pero suceden en todas las comunidades. Se observa que es el factor de mayor diferenciación económica. Confirma que uno o más de sus miembros tienen la expectativa de recibir remesas que alivien la presión sobre los escasos recursos, tales como la tierra y el espacio del hogar, como estrategia de minimización de riesgos y la diversificación de ingresos (6); que los productos forestales no figuran fuertemente en las estrategias de acumulación de los ríos rurales⁴ y que los ingresos agrícolas en la Amazonia son, en promedio, más bajos que a nivel nacional, lo

que impulsa a la población rural amazónica a buscar fuentes alternativas de ingresos; cuando la población no tiene capital ni educación, busca empleo agrícola asalariado, pero si tiene capital financiero y humano pueden afrontar las barreras de entrada e incursionar en negocios propios (16).

La cuantificación de cultivos y animales es más alta en Unión de Llandia, Boayaku y Veinticuatro de Mayo, con 53, 41 y 40 %, respectivamente, más cercanas a la frontera de colonización, vías de transporte y cuya población *Kichwa* es de 20, 85 y 50 % del total. Las tres comunidades con 100 % de población *Kichwa*, Flor de Bosque, Tzawata y Wayuri tienen porcentajes de 22, 15 y 9 % en este registro; sin embargo, se observó que aumentó el tamaño de las *chacras* de subsistencia y los cultivos comerciales, eso indica orientación al mercado y ya no solo subsistencia como era tradicional. En todas las comunidades se declara destino de venta, pero no todas las familias producen para el mercado. En la zona se empieza a incentivar el cultivo de cacao fino de aroma (*Theobroma sp.*) que también necesita de valor agregado en beneficio del desarrollo comunitario. Este escenario posibilita el desarrollo de proyectos en vínculos con instituciones académicas de nivel superior.

Los recursos de la selva llegan a cuantificar monetariamente el 15 % de contribución en las familias de Boayaku, ubicada en la frontera entre la colonización y la selva, el 12 % en Tzawata, 10 % en Flor de Bosque y 5 % en Wayuri en las comunidades *Kichwa*, estas indican aprovechamiento de maderas, artesanía, animales, medicina, fibras para vivienda y utensilios y alimentación, entre otros. Mientras Unión de Llandia indica 8 % en la cuantificación y Veinticuatro de Mayo apenas 1 %. Sin embargo, en promedio, las comunidades declararon dependencia del 67 % de los recursos locales para la subsistencia alimentaria. Este hallazgo indica que aunque los ingresos monetarios son importantes, todavía son muy importantes los recursos del medio rural, sus sistemas agrobiodiversos, la selva, los cultivos y los animales en general, para la auto subsistencia.

Cavandish, W. *How do forests support, insure and improve the livelihoods of rural poor? A research note [on line]*. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia, 2003, 23 p. [Consultado: 30 de marzo de 2013]. Disponible en: <<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.205.9472&rep=rep1&type=pdf>>

Tabla III. Ingresos monetarios diferenciados por fuentes de ingreso y comunidades

Ingresos y recursos renovables (para uso doméstico y venta), cuantificados en un año	Tzawata (12 encuestas)		Wayuri (6 encuestas)		Flor de bosque (9 encuestas)		Boayaku (13 encuestas)		Unión de Llandia (20 encuestas)		Veinticuatro de mayo (4 encuestas)	
	USD	%	USD	%	USD	%	USD	%	USD	%	USD	%
Negocios y empleos	20 760	61	17 650	80	37 080	64	41 370	41	25 760	32	24 780	56
Bonos y subsidios	4 200	12	1 260	6	2 520	4	2 940	3	5 880	7	1 260	3
Cultivos y animales	5 030	15	2 090	9	12 485	22	40 745	41	43 345	53	17 855	40
Recursos de la selva	3 975	12	1 020	5	5 540	10	14 670	15	6 800	8	480	1
Cuanta total año 2012	33 965	100	22 020	100	57 625	100	99 725	100	81 785	100	44 375	100

Elaborada por los autores en base a los cuestionarios aplicados a nivel familiar

Ruth I. Arias Gutiérrez, Tanna Valeria Carpio Arias, Angelina Herrera Sorzano, Roberto González Sousa

También se evidencia que la valoración de los recursos de la selva es pobre e incompatible con su importancia; pues se considera que la porción occidental de la Amazonia (donde está Ecuador y el área de estudio), es una de las áreas más biodiversas del planeta, hogar de varios pueblos indígenas. Mantiene porciones intactas de bosque muy húmedo tropical y alta probabilidad de estabilizar las condiciones climáticas de cara a los problemas del calentamiento global (17, 18).

También se establece que la conservación de la biodiversidad y el manejo sustentable de los ecosistemas son elementos clave en las políticas y las estrategias de reducción de la pobreza desde los niveles global, nacional y local, para el 70 % de los pobres del mundo que viven en áreas rurales y dependen directamente de la biodiversidad para su supervivencia y bienestar (19, 20, 21, 22). Se precisa repoblar y revalorizar los recursos renovables nativos que usan las comunidades, añadirles valor agregado y formar capital humano para su cuidado.

En cuanto a la percepción de las estrategias de desarrollo local rural sostenible para las comunidades en estudio se observa que las comunidades están en el área rural, no han migrado a la ciudad que crece y multiplica sus problemas de contaminación, falta de abastecimiento y demanda creciente de recursos

de consumo. A través de los indicadores medidos se evidenciaron el mantenimiento de la identidad, la estructura de su sistema agrobiodiverso amazónico, así como el conocimiento de especies susceptibles de agregación de valor y vulnerabilidad monetaria para solventar necesidades materiales. En la Tabla IV se presenta una síntesis del análisis realizado entre las organizaciones indígenas y la Universidad Estatal Amazónica de Puyo, Ecuador.

Para enfrentar las necesidades de investigación se propone formar redes de investigación, de vinculación, de docencia, que incorporen las culturas ancestrales, sus sabios, sus ritos; propiciar una especialización en saberes ancestrales; institucionalizar una política de vinculación con la comunidad en la evaluación académica. También el estado ecuatoriano previene la urgencia en la discusión de estrategias que contribuyan a sostener la ventaja competitiva nacional, basada en la riqueza natural y biológica, soportada por el desarrollo de redes productivas y de generación tecnológica local; para hacerlo impulsar el programa de becas Prometeo y la instalación de una universidad regional amazónica (23).

En este marco de apertura a la colaboración para apoyo a la comunidad, es preciso concretar planes de acción con las comunidades, con respeto y en beneficio común.

Tabla IV. Agenda para impulsar la sostenibilidad ecológica

Problemas	¿Qué investigar?	Propuestas
-La educación superior no siempre es accesible; no siempre reconoce el aporte indígena, no investiga en diálogo de saberes en beneficio de la comunidad; es factor de diferenciación social que puede servir funcionalmente a los sectores extractivos o la biopiratería. -La universidad tiene un trabajo de vinculación que no es reconocido suficientemente; tiene presión de las lógicas de mercado antes que de la generación de la ciencia, la cultura, el arte local. Se necesita mayor trabajo interdisciplinario e incorporación de los saberes ancestrales en las políticas públicas. -La calidad educativa en las comunidades es baja, desarticulada, falta información, conciencia de trabajo a largo plazo. Las comunidades indígenas esperan resultados de corto plazo.	-Fuentes de ingresos alternativos con énfasis en la biodiversidad local, ecología, capacidad de carga, reforestación, cría de animales y peces amazónicos, agroecología y procesamiento de plantas nativas con potencial de mercado. -Filosofía, formas de actuación para la interrelación entre las necesidades comunitarias, las posibilidades de ingresos y la mediación institucional de apoyo. -Dinámicas de uso y sistemas ancestrales de manejo del territorio, etnobotánica, propiedad intelectual, documentación de saberes, ciclos biogeoquímicos, energías renovables. Mitigación y adaptación al cambio climático. -Estudios socioeconómicos y demográficos. -Rol de la mujer en la conservación ambiental y manejo sostenible de recursos. Emigración, inmigración y cambios culturales.	-Construir procesos, proyectos y planes de acción conjunta y permanentes; conocidos en asamblea por las comunidades; en base a un diálogo participativo, un marco jurídico y una ética de respeto a los derechos colectivos; que permitan mantener nexos entre la universidad, las comunidades y otras entidades, para investigar, replicar y compartir beneficios, información y transferencia de conocimientos y tecnologías. -Incluir en la malla curricular los conocimientos ancestrales; involucrar a las nacionalidades en los procesos académicos e investigaciones en relación con la biodiversidad.

Fuente: elaborada por los autores en base al taller de trabajo de la Universidad Estatal Amazónica (UEA) con las comunidades rurales y originarias e instituciones estatales de la zona 3 (Pastaza, Tungurahua, Chimborazo, Cotopaxi), para impulsar la sostenibilidad ecológica, en el marco de adaptación al cambio climático, Puyo-Centro de Investigación, Posgrado y Conservación de la Biodiversidad Amazónica de la UEA, 10-11 de junio/2014

CONCLUSIONES

- ♦ Se presenta el ciclo del sistema agrobiodiverso Kichwa amazónico de seis de sus comunidades con las principales especies promisorias (asociadas a sus cultivos diversificados), que pueden agregar valor, los ingresos y composición económica del aprovechamiento de la agrobiodiversidad amazónica en estas comunidades rurales, ubicadas en el territorio de la nación originaria Kichwa amazónica ecuatoriana.
- ♦ Se destaca que el territorio indígena estudiado Kichwa mantiene sistemas agrobiodiversos, pero existe el riesgo de pérdida de recursos, estructuras y conocimiento ancestral, producto de la influencia del mercado y de los procesos de colonización.
- ♦ Se precisa integrar soluciones estratégicas entre las comunidades y las universidades del territorio que acrecienten el poder y conocimiento propio, que favorezcan la permanencia de la población en el sector rural, que potencien la identidad, la economía popular, social y solidaria, la estabilidad en el patrimonio natural y el bioconocimiento, a través del procesamiento de frutos amazónicos, enriquecimiento y sostén de los sistemas agroecológicos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Estatal Amazónica por el soporte a la investigación de campo a través del proyecto AMB 001-UEA Diagnóstico del estado de conservación de la vertiente oriental de los Andes centrales del Ecuador: corredor ecológico Llanganates Sangay y sub cuenca del río Anzu.

A la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación Senescyt, por la beca de la convocatoria abierta 2011, conferida para estudios doctorales y a la Facultad de Geografía de la Universidad de La Habana, Cuba, por la conducción de estos estudios.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO. *Política de la FAO sobre pueblos indígenas y tribales* [en línea]. edit. FAO, Roma, 2011, 34 p., ISBN 978-92-5-306689-6. [Consultado: 20 de octubre de 2014]. Disponible en: <<http://www.fao.org/docrep/013/i1857s/i1857s.pdf>>.
2. Dublin, D. y Tanaka, N. "Indigenous Agricultural Development for Sustainability and «Satoyama»". *Geography, Environment, Sustainability*, vol. 7, no. 2, 2014, pp. 86-95, ISSN 2071-9388.
3. Escobar, A. "Una minga para el posdesarrollo". *Signo y Pensamiento*, vol. 30, no. 58, junio de 2011, pp. 278-284, ISSN 0120-4823.
4. Vallejo, I. "Petróleo, desarrollo y naturaleza: aproximaciones a un escenario de ampliación de las fronteras extractivas hacia la Amazonia suroriental en el Ecuador". *Anthropologica*, vol. 32, no. 32, junio de 2014, pp. 115-137, ISSN 0254-9212.
5. Barbieri, A. F.; Bilsborrow, R. E. y Pan, W. K. "Farm Household Lifecycles and Land Use in the Ecuadorian Amazon". *Population and Environment*, vol. 27, no. 1, 18 de marzo de 2006, pp. 1-27, ISSN 0199-0038, 1573-7810, DOI 10.1007/s11111-005-0013-y.
6. Barbieri, A. F.; Carr, D. L. y Bilsborrow, R. E. "Migration Within the Frontier: The Second Generation Colonization in the Ecuadorian Amazon". *Population Research and Policy Review*, vol. 28, no. 3, 15 de julio de 2008, pp. 291-320, ISSN 0167-5923, 1573-7829, DOI 10.1007/s11113-008-9100-y.
7. Instituto Geográfico Militar. *Atlas geográfico de la República del Ecuador*. edit. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, Ministerio de Defensa Nacional del Ecuador, Quito, Ecuador, 2013, ISBN 978-9942-07-458-4, 357 p.
8. Blanke, A. S. y Walzer, N. "Measuring community development: what have we learned?". *Community Development*, vol. 44, no. 5, 1 de diciembre de 2013, pp. 534-560, ISSN 1557-5330, DOI 10.1080/15575330.2013.852595.
9. Torres, V.; Ramos, N.; Lizazo, D.; Monteagudo, F. y Noda, A. "Modelo estadístico para la medición del impacto, basado en componentes principales". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 42, no. 2, 2008, pp. 133-139, ISSN 0034-7485, 2079-3472.
10. Torres, V.; Cobo, R.; Sánchez, L. y Raez, N. "Statistical tool for measuring the impact of milk production on the local development of a province in Cuba". *Livestock Research for Rural Development*, vol. 29, no. 9, 2013, ISSN 0121-3784, [Consultado: 11 de enero de 2016]. Disponible en: <<http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd25/9/tor25159.htm>>.
11. Arias, G. R. I.; González, S. R.; Herrera, A. y Alemán, R. "Indicadores ambientales en comunidades kichwa amazónicas ecuatorianas para elaborar una estrategia de desarrollo sostenible". *Centro Agrícola*, vol. 42, no. 2, 2015, pp. 71-78, ISSN 0253-5785, 2072-2001.
12. Arias, R. I.; Tapia, A.; Tapia, A.; Santaacruz, L.; Yasaca, R. y Miranda, N. "Evaluación de la biodiversidad en cinco comunidades Kichwa de la zona de colonización de la alta Amazonía ecuatoriana". *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, vol. 1, no. 3, 2012, pp. 157-172, ISSN 1390-5800.
13. Tanguila, A. "Descripción de la huerta tradicional" [en línea]. En: Caiga C. Y. y Tocari Ahua D. Q., *Sabiduría de la cultura kichwa de la amazonia ecuatoriana*, edit. Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador, 2012, pp. 505-508, ISBN 978-9978-14-000-0, [Consultado: 11 de enero de 2016]. Disponible en: <<http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/5281>>.
14. Martínez, N. R. "Del tiempo insostenible y del sentido del tiempo en las comunidades kichwa caneloes". *Desacatos*, no. 40, diciembre de 2012, pp. 111-126, ISSN 1405-9274.
15. González, V. M. E. "Chirimoya (*Annona cherimola* Miller), frutal tropical y sub-tropical de valores promisorios". *Cultivos Tropicales*, vol. 34, no. 3, septiembre de 2013, pp. 52-63, ISSN 0258-5936.

Ruth I. Arias Gutiérrez, Tannia Valeria Carpio Arias, Angelina Herrera Sorzano, Roberto González Sousa

16. Vasco, C.; Herrera, B.; Vargas, S. y Arias, R. "Empleo Agrícola y no Agrícola en la Amazonía Ecuatoriana". *Ecuador Debate*, no. 90, 2013, pp. 141-152, ISSN 1012-1498.
17. Finer, M.; Jenkins, C. N.; Pimm, S. L.; Keane, B. y Ross, C. "Oil and Gas Projects in the Western Amazon: Threats to Wilderness, Biodiversity, and Indigenous Peoples". *PLoS ONE*, vol. 3, no. 8, 13 de agosto de 2008, pp. 29-32, ISSN PLoS ONE, DOI 10.1371/journal.pone.0002932.
18. Prates, L. E. G. "Evolución del paisaje amazónico desde el Precámbrico". *Revista Brasileira de Geociências*, vol. 41, no. 4, diciembre de 2011, pp. 654-661, ISSN 0375-7536.
19. European Communities. *The Economics of Ecosystems and Biodiversity* [en línea]. Inst. European Communities, Wesseling, Germany, 2008, p. 64, ISBN 978-92-79-08960-2, [Consultado: 24 de enero de 2016]. Disponible en: <http://ec.europa.eu/environment/nature/biodiversity/economics/pdf/teeb_report.pdf>.
20. Álvarez, J. y Shany, N. "Una experiencia de gestión participativa de la biodiversidad con comunidades amazónicas". *Revista Peruana de Biología*, vol. 19, no. 2, agosto de 2012, pp. 223-232, ISSN 1727-9933.
21. Sukhdev, P. "El valor monetario de la Biodiversidad" [en línea]. En: *Congreso Diálogo internacional de finanzas para la biodiversidad, diálogo-seminario*, edit. Secretaría del Convenio de la Diversidad Biológica, Montreal, Canadá, 2012, p. 9, ISBN 92-9225-420-0, [Consultado: 24 de enero de 2016]. Disponible en: <<http://www.cbd.int/doc/meetings/fin/fin-ds-fb-01/official/ds-fb-01-02-es.pdf>>.
22. Gaona, P. G. "El derecho a la tierra y protección del medio ambiente por los pueblos indígenas". *Nueva antropología*, vol. 26, no. 78, junio de 2013, pp. 141-161, ISSN 0195-0636.
23. Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo del Ecuador. *Plan Nacional de Desarrollo para el Buen Vivir 2013-2017*, edit. Senplades, Quito, 2013, 600 p., ISBN 978-9942-07-448-5.

Recibido: 5 de enero de 2015

Aceptado: 7 de agosto de 2015

A.2 Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo “semáforo nutricional” en Ecuador

Patricio David Ramos Padilla^a, Tannia Valeria Carpio Arias^{a,b}, Verónica Carlina Delgado López^a, Verónica Dayana Villavicencio Barriga^a, Carlos Eduardo Andrade^a, José Fernández-Sáez^c.

- a. *Grupo de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo-Ecuador.*
- b. *Departamento de Nutrición, ciencias de la alimentación y gastronomía, Universidad de Barcelona-España*
- c. *Grupo de Investigación en Salud Pública, Universidad de Alicante-España.*

Revista Española de Nutrición Humana y Dietética – Spanish Journal of Human Nutrition and Dietetics, 2017;21 (2), 121-129.

Introducción: La elección de alimentos es fundamental para la salud de las poblaciones. Las estrategias como las normas del etiquetado en los productos alimenticios podrían ayudar a que el consumidor tenga información clara de los alimentos que consume.

Objetivos: Explorar la asociación del sexo y la edad con las actitudes y prácticas frente al etiquetado nutricional tipo “Semáforo Nutricional” en Ecuador.

Material y Métodos: Estudio transversal en una muestra por conveniencia de 622 sujetos de ambos sexos en 6 supermercados del área urbana de Riobamba durante los meses de septiembre de 2014 a febrero de 2015. Se realizaron contrastes de hipótesis de diferencias de proporciones y regresión logística para determinar la asociación de las actitudes y prácticas con el sexo y edad.

Resultados: Respecto a las mujeres, los hombres (OR=1,58; IC95%:1,13–2,21; p<0,001) y los participantes de entre 18-40 años con respecto a los de >40 años (OR=1,72; IC95%:1,22–2,44;p=0,002) tienen más probabilidad de creer que actualmente hay demasiada presión para comer de forma saludable. Igualmente los hombres tienen menos probabilidad de creer que consumen demasiada grasa (OR=0,61; IC95%:0,43–0,85; p=0,01) respecto a las mujeres. Los participantes de entre 18-40 años frente a >40 años tienen más probabilidad de tratar de reducir al mínimo la cantidad de azúcar (OR=2,41; IC95%:1,55–3,76; p<0,001), sal (OR=2,24; IC95%:1,50–3,60; p<0,001) y grasa (OR=2,17; IC95%:1,44–3,27; p<0,001) que consumen.

Conclusiones: Las actitudes y prácticas de la población respecto al semáforo nutricional pueden variar respecto a la edad y el sexo.

Revista Española de
Nutrición Humana y Dietética
Spanish Journal of Human Nutrition and Dietetics



www.renhyd.org



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo "semáforo nutricional" en Ecuador

Patricio David Ramos Padilla^a, Tannia Valeria Carpio Arias^{a,b,*}, Verónica Carlina Delgado López^a, Verónica Dayana Villavicencio Barriga^a, Carlos Eduardo Andrade^a, José Fernández-Sáez^c

^a Grupo de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador.

^b Departamento de Nutrición, Ciencias de la Alimentación y Gastronomía, Universidad de Barcelona, España.

^c Grupo de Investigación de Salud Pública, Universidad de Alicante, España.

*val_carpio@yahoo.es

Recibido el 26 de octubre de 2016; aceptado el 27 de febrero de 2017; publicado el 22 de mayo de 2017.

➤ Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo "semáforo nutricional" en Ecuador

PALABRAS CLAVE

Etiquetado de alimentos;
Valor nutricional;
Comportamiento alimentario;
Ecuador.

RESUMEN

Introducción: La elección de alimentos es fundamental para la salud de las poblaciones. Las estrategias como las normas del etiquetado en los productos alimenticios podrían ayudar a que el consumidor tenga información clara de los alimentos que consume.

Objetivos: Explorar la asociación del sexo y la edad con las actitudes y prácticas frente al etiquetado nutricional tipo "Semáforo Nutricional" en Ecuador.

Material y Métodos: Estudio transversal en una muestra por conveniencia de 622 sujetos de ambos sexos en 6 supermercados del área urbana de Riobamba durante los meses de septiembre de 2014 a febrero de 2015. Se realizaron contrastes de hipótesis de diferencias de proporciones y regresión logística para determinar la asociación de las actitudes y prácticas con el sexo y edad.

Resultados: Respecto a las mujeres, los hombres (OR=1,58; IC95%:1,13-2,21; p<0,001) y los participantes de entre 18-40 años con respecto a los de >40 años (OR=1,72; IC95%:1,22-2,44; p=0,002) tienen más probabilidad de creer que actualmente hay demasiada presión para comer de forma saludable. Igualmente los hombres tienen menos probabilidad de creer que consumen demasiada grasa (OR=0,61; IC95%:0,43-0,85; p=0,01) respecto a las mujeres. Los participantes de entre 18-40 años frente a >40 años tienen más probabilidad de tratar de reducir al mínimo la cantidad de azúcar (OR=2,41; IC95%:1,55-3,76; p<0,001), sal (OR=2,24; IC95%:1,50-3,60; p<0,001) y grasa (OR=2,17; IC95%:1,44-3,27; p<0,001) que consumen.

Conclusiones: Las actitudes y prácticas de la población respecto al semáforo nutricional pueden variar respecto a la edad y el sexo.



► Population attitudes and practices regarding the 'traffic light'-style labeling in Ecuador

KEYWORDS

Food Labeling;
Nutritive Value;
Feeding Behavior;
Ecuador.

ABSTRACT

Introduction: Choosing food is critical to the health of populations. Strategies such as labeling rules in products could help consumers to have clear information on the food they eat.

Objectives: To explore the association of sex and age with the attitudes and practices with regard to the 'traffic light'-style nutritional labeling in Ecuador

Material and Methods: A cross-sectional study was carried out in a convenience sample of 622 subjects of both sexes in 6 supermarkets in the urban area of Riobamba from September 2014 to February 2015. Differences of proportions and logistic regression hypotheses were tested to determine the association of attitudes and practices with sex and age.

Results: Men with respect to women (OR=1.58; 95%CI:1.13–2.21; p<0.001) and participants aged 18-40 years with respect to those aged >40 years (OR=1.72; 95%CI:1.22–2.44; p=0.002) are more likely to believe that there is currently too much pressure to eat healthily. Likewise, men are less likely to believe that they consume too much fat (OR=0.61; 95%CI:0.43–0.85; p=0.01) compared to women. Participants aged between 18-40 years are more likely to try to minimize the amount of sugar (OR=2.41; 95%CI:1.55–3.76; p<0.001), salt (OR=2.24; 95%CI:1.50–3.60; p<0.001) and fat consuming (OR=2.17; 95%CI:1.44–3.27; p<0.001) vs. 40 years.

Conclusions: The attitudes and practices of the population regarding the 'traffic light'-style nutritional labeling can vary with respect to age and sex.

CITA

Ramos Padilla PD, Carpio Arias TV, Delgado López VC, Villavicencio Barriga VD, Andrade CE, Fernández-Sáez J. Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo "semáforo nutricional" en Ecuador. Rev Esp Nutr Hum Diet. 2017; 21(2): 121-9. doi: 10.14306/renhyd.21.2.306

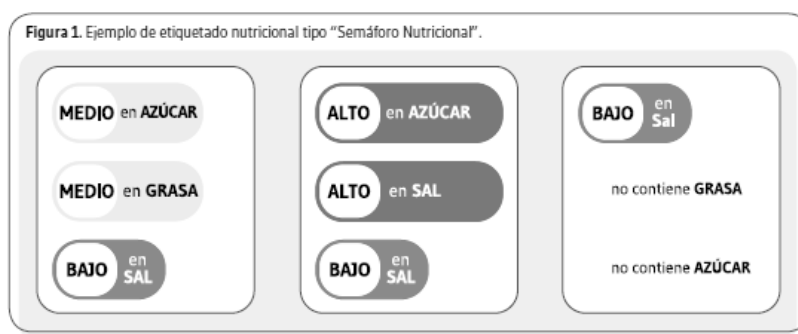
INTRODUCCIÓN

Desde hace varias décadas, ha aumentado considerablemente la cultura que aboga por estilos de vida más saludables que lleven a un bienestar personal y mejoren la salud de los individuos en todo el mundo. La selección de alimentos que se ajusten a las propias necesidades personales es un fuerte componente de una dieta equilibrada conduciendo a una sociedad más informada y saludable¹⁻³.

La importancia del etiquetado de los alimentos radica en su papel como principal medio de comunicación entre productores y consumidores, para los cuales es una valiosa herramienta de ayuda en la toma de decisiones acerca de su ingesta alimentaria⁴. Según el reglamento sanitario de etiquetado de alimentos procesados para el consumo humano de la República de Ecuador⁵, se considera

etiquetado nutricional a toda descripción destinada al consumidor sobre las propiedades nutricionales de un alimento que comprende la declaración de nutrientes y la información complementaria, a la vez que señala que la valoración del alimento procesado en referencia a los componentes y concentraciones permitidas de grasas, azúcares y sal (debido a su relación con enfermedades crónico-degenerativas) se debe referir en base a cantidades establecidas que permita crear el etiquetado tipo "Semáforo Nutricional" donde cada aspecto se marca con un color (verde: bajo; amarillo: medio; o rojo: alto) (Figura 1).

Los etiquetados convencionales suelen ser de difícil comprensión, por lo que el éxito del sistema de etiquetado tipo semáforo nutricional ha sido comprobado en otros países como Inglaterra o Alemania, donde se pudo constatar que los individuos que utilizaban el semáforo nutricional solían tener decisiones más acertadas con respecto al contenido



nutricional de un alimento o bebida que escogían⁶⁷. El etiquetado tipo semáforo nutricional ha sido apoyado por la *British Medical Association*, otras asociaciones médicas, *Consumers International* y organizaciones de consumidores en todo el mundo por su gran eficiencia y sentido común⁶.

Ecuador se ha convertido en el primer país de Latinoamérica en adoptar el sistema del semáforo nutricional para alertar a los consumidores sobre la cantidad de grasas-azúcar y sal de diversos productos alimenticios. El siguiente paso es la adopción de conductas y prácticas adecuadas de la población con respecto a esta herramienta para mejorar su dieta. Un reciente estudio ha concluido que la comprensión y uso del etiquetado tipo semáforo nutricional es distinto en función de las etnias de la población ecuatoriana⁹, sin embargo, no exploraron la asociación de las actitudes y las prácticas del etiquetado nutricional según semáforo nutricional en función del sexo y la edad.

Por tanto, el objetivo de este estudio es explorar la asociación del sexo y la edad con las actitudes y prácticas frente al etiquetado nutricional tipo semáforo nutricional en Ecuador.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se aplicó una encuesta estructurada durante los meses de septiembre de 2014 a febrero de 2015 en una muestra representativa de 622 adultos mayores de 18 años, hombres y mujeres, que realizaban sus compras en 6 supermercados del área urbana de la ciudad de Riobamba, Ecuador, quienes brindaron su consentimiento para la toma de dichos datos.

La información fue tomada por 32 estudiantes previamente entrenados de la carrera de Nutrición y Dietética de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, sobre los conocimientos, actitudes y prácticas referentes al sistema de etiquetado semáforo nutricional. Los encuestadores procedieron a realizar la encuesta de 20 ítems que constaba de las siguientes afirmaciones: 1) creo que actualmente hay demasiada presión para comer de forma saludable; 2) creo que comer una dieta con un alto contenido en azúcar, sal y/o grasa puede causar graves problemas de salud; 3) creo que consumo demasiada azúcar; 4) creo que consumo demasiada sal; 5) creo que consumo demasiada grasa; 6) trato de reducir al mínimo la cantidad de azúcar que consumo; 7) trato de reducir al mínimo la cantidad de sal que consumo; 8) trato de reducir al mínimo la cantidad de grasa que consumo; 9) en general, conozco lo que significa el color rojo en el etiquetado; 10) en general, conozco lo que significa el color amarillo en el etiquetado; 11) en general, conozco lo que significa el color verde en el etiquetado; 12) siempre o frecuentemente, leo la etiqueta nutricional de los paquetes de alimentos o bebidas; 13) siempre o frecuentemente, presto atención a las indicaciones que figuran en los paquetes de alimentos o bebidas; 14) desde que se implementó la estrategia del semáforo nutricional presto mayor atención a las indicaciones que figuran en los paquetes de alimentos o bebidas; 15) opino que en el etiquetado tipo semáforo nutricional de los alimentos y las bebidas hay información suficiente; 16) desearía que en los paquetes de los alimentos con alto contenido de azúcar, sal y/o grasa apareciera una advertencia clara; 17) en las etiquetas nutricionales de los paquetes de alimentos, prefiero ver información sobre las cantidades de azúcar, sal y/o grasa, que en lugar de sólo una de ellas; 18) he dejado

de comprar un alimento luego de haber leído el contenido de azúcar, sal y/o grasa; 19) he dejado de consumir un alimento luego de haber leído el contenido de azúcar, sal y/o grasa; 20) considero que la implementación de la estrategia del semáforo nutricional es adecuada para mejorar las condiciones de salud de la población. Finalmente, se procedió a registrar las respectivas respuestas en un formulario de papel.

La muestra se calculó utilizando el software Epi Info versión 7 para un tamaño poblacional de 263.412 habitantes según el Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador, 2013, con nivel de confianza 95%, precisión 0,04 (4%) y frecuencia esperada de 0,5 (50%); siendo 600 individuos (n=600) más un 5% adicional (30 encuestas) por posible pérdida de datos por exclusión (encuestas que no estuvieran rellenas al 100% o ilegibles). La selección de la muestra se realizó por muestreo por conveniencia. Los datos se procesaron y analizaron con los paquetes estadísticos SPSS 15.0 y STATA 14.0.

Se recogió información sociodemográfica (sexo, edad, nivel de educación y ocupación) y de comportamiento (actitudes y prácticas en relación al semáforo nutricional). La edad fue categorizada en dos categorías: 18-40 años y mayores de 40 años; la ocupación fue agrupada en cuatro categorías: desempleados y estudiantes, cargos técnicos y profesionales, labores de hogar, y trabajo manual; el nivel de educación se agrupó en tres categorías: ≤ primaria (donde se agrupa sin estudios y primaria debido a los pocos casos de sin estudios), secundaria y superior.

Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre la edad de la muestra por sexo se realizó el contraste no paramétrico de la U de Mann-Whitney.

Se realizó un análisis descriptivo usando frecuencia y porcentajes para describir las variables cualitativas. Para comparar las diferencias entre las variables sociodemográficas (edad en categorías, nivel educativo y ocupación) y el sexo se usó el estadístico χ^2 . Para determinar la asociación entre las actitudes y prácticas del etiquetado nutricional con el uso semáforo nutricional y el sexo y la edad se usó la regresión logística cruda y ajustando por ocupación y nivel educativo, obteniendo Odds Ratio (OR) e intervalos de confianza del 95%.

RESULTADOS

Se recogieron 622 encuestas, siendo el 64% mujeres y 65,6% sujetos en edades comprendidas entre los 18 y 40 años. La edad media de los hombres y mujeres fue de 34,7 y 35,8 años respectivamente, no encontrándose diferencias significativas ($p=0,2$). El 36,7% de las mujeres se dedicaba a las labores de hogar mientras que el 52,7% de los hombres se dedicaba a trabajos manuales. El 23,9% de las mujeres tenía un nivel de educación superior frente al 31,3% de hombres (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de la muestra según sexo, edad, ocupación y nivel de educación

	Hombre		Mujer		p**
	n	%	n	%	
Total	224	36,0	398	64,0	< 0,001
Grupo de edad					
18 - 40 años	156	69,6	261	65,6	0,3
+ 40 años	68	30,4	137	34,4	0,3
p*	0,3				
Grupo de ocupación					
Desempleados y estudiantes	58	25,9	78	19,6	0,1
Cargos técnicos y profesionales	42	18,8	50	12,6	0,04
Labores del hogar	5	2,2	146	36,7	< 0,001
Trabajo manual	118	52,7	122	30,7	< 0,001
p*	< 0,001				
Nivel de educación					
≤ Primaria	22	9,8	87	21,9	< 0,001
Secundaria	132	58,9	216	54,3	0,3
Superior	70	31,3	95	23,9	0,04
p*	0,002				

n: tamaño muestral; * Contraste de independencia de χ^2 ; ** Contraste de diferencias de proporciones.

El 68,6% de los participantes del estudio afirmaron leer el etiquetado nutricional, de los cuales el 40% creía que la información presentada en el etiquetado tipo semáforo nutricional contiene suficiente información. Además, el 50% y 49,4% de los participantes declararon haber dejado de comprar o consumir, respectivamente, un alimento tras leer el contenido de azúcar, sal y grasa que presentaba el etiquetado nutricional.

En la Tabla 2 se muestra la asociación entre el sexo y la edad con las actitudes y prácticas frente al etiquetado nutricional tipo semáforo nutricional. En ella se observa que, tanto en el modelo crudo como en el ajustado, el ser hombre (OR=1,58; IC95%:1,13-2,21) y tener entre 18-40 años (OR=1,72; IC95%:1,22-2,44) fueron predictores significativos ($p < 0,001$) de tener la creencia de que actualmente hay demasiada presión para comer de forma saludable, independientemente de la ocupación y del nivel de estudios.

Tabla 2. Asociación entre el sexo y la edad con las actitudes y prácticas de la población en relación con el etiquetado tipo "Semáforo Nutricional" en Ecuador (n=622).

Preguntas		SI	NO	OR	IC95%	P	OR*	IC95%	P
Creo que actualmente hay demasiada presión para comer de forma saludable.	Sexo	Mujer	224	174					
		Hombre	100	124	1,60	(1,15-2,22)	0,005	1,58	(1,13-2,21)
	Edad	+ 40 años	125	80					
		18-40 años	199	218	1,71	(1,22-2,40)	0,002	1,72	(1,22-2,44)
Creo que comer una dieta con un alto contenido en azúcar, sal y/o grasa puede causar graves problemas de salud.	Sexo	Mujer	376	22					
		Hombre	220	4	0,31	(0,11-0,91)	0,03	0,36	(0,12-1,07)
	Edad	+ 40 años	195	10					
		18-40 años	401	16	0,78	(0,35-1,75)	0,5	0,92	(0,40-2,12)
Creo que consumo demasiada azúcar.	Sexo	Mujer	150	248					
		Hombre	100	124	0,75	(0,54-1,05)	0,1	0,73	(0,52-1,02)
	Edad	+ 40 años	78	127					
		18-40 años	172	245	0,87	(0,62-1,23)	0,4	0,86	(0,60-1,21)
Creo que consumo demasiada sal.	Sexo	Mujer	122	276					
		Hombre	78	146	0,83	(0,58-1,17)	0,3	0,81	(0,57-1,15)
	Edad	+ 40 años	58	147					
		18-40 años	142	275	0,76	(0,53-1,10)	0,1	0,75	(0,52-1,10)
Creo que consumo demasiada grasa.	Sexo	Mujer	156	242					
		Hombre	114	110	0,62	(0,44-0,86)	0,005	0,61	(0,43-0,85)
	Edad	+ 40 años	74	131					
		18-40 años	196	221	0,64	(0,45-0,90)	0,01	0,63	(0,44-0,90)
Trato de reducir al mínimo la cantidad de azúcar que consumo.	Sexo	Mujer	295	103					
		Hombre	164	60	1,05	(0,72-1,52)	0,8	1,00	(0,68-1,46)
	Edad	+ 40 años	173	32					
		18-40 años	286	131	2,48	(1,61-3,81)	< 0,001	2,41	(1,55-3,76)
Trato de reducir al mínimo la cantidad de sal que consumo.	Sexo	Mujer	278	120					
		Hombre	160	64	0,93	(0,65-1,33)	0,7	0,93	(0,65-1,34)
	Edad	+ 40 años	165	40					
		18-40 años	273	144	2,18	(1,46-3,25)	< 0,001	2,24	(1,50-3,60)
Trato de reducir al mínimo la cantidad de grasa que consumo.	Sexo	Mujer	286	112					
		Hombre	149	75	1,28	(0,90-1,83)	0,2	1,36	(0,95-1,95)
	Edad	+ 40 años	163	42					
		18-40 años	272	145	2,07	(1,39-3,07)	< 0,001	2,17	(1,44-3,27)
En general, conozco lo que significa el color rojo en el etiquetado.	Sexo	Mujer	284	114					
		Hombre	169	55	0,81	(0,56-1,18)	0,3	1,01	(0,68-1,50)
	Edad	+ 40 años	135	70					
		18-40 años	318	99	0,60	(0,42-0,87)	0,006	0,67	(0,45-0,99)

Preguntas		SI	NO	OR	IC95%	P	OR*	IC95%	P	
En general, conozco lo que significa el color amarillo en el etiquetado.	Sexo	Mujer	245	153						
		Hombre	156	68	0,70	(0,49-0,99)	0,04	0,83	(0,58-1,20)	0,3
	Edad	+ 40 años	114	91						
		18-40 años	287	130	0,57	(0,40-0,80)	0,001	0,64	(0,44-0,92)	0,02
En general, conozco lo que significa el color verde en el etiquetado.	Sexo	Mujer	266	132						
		Hombre	161	63	0,79	(0,55-1,29)	0,2	0,93	(0,64-1,36)	0,7
	Edad	+ 40 años	124	81						
		18-40 años	303	114	0,57	(0,40-0,82)	0,002	0,63	(0,43-0,91)	0,01
Opino que en el etiquetado tipo "Semáforo Nutricional" de los alimentos y las bebidas hay información nutricional suficiente.	Sexo	Mujer	155	243						
		Hombre	94	130	0,88	(0,63-1,23)	0,5	0,87	(0,62-1,22)	0,4
	Edad	+ 40 años	81	124						
		18-40 años	168	249	0,97	(0,69-1,36)	0,8	0,95	(0,67-1,35)	0,8
Desearía que en los paquetes de los alimentos con alto contenido de azúcar, sal y/o grasa apareciera una advertencia clara.	Sexo	Mujer	353	45						
		Hombre	198	26	1,03	(0,62-1,72)	0,9	1,00	(0,60-1,69)	0,9
	Edad	+ 40 años	177	28						
		18-40 años	374	43	0,73	(0,44-1,21)	0,2	0,73	(0,43-1,23)	0,2
En las etiquetas nutricionales, prefiero ver información sobre las cantidades de azúcar, sal y grasa, en lugar de solo 1 de ellas.	Sexo	Mujer	305	93						
		Hombre	176	48	0,89	(0,60-1,33)	0,6	0,97	(0,65-1,45)	0,9
	Edad	+ 40 años	158	47						
		18-40 años	323	94	0,98	(0,66-1,46)	0,9	1,07	(0,71-1,62)	0,7
Considero que la estrategia del "Semáforo Nutricional" es adecuada para mejorar las condiciones de salud de la población.	Sexo	Mujer	327	71						
		Hombre	187	37	0,91	(0,59-1,41)	0,7	0,92	(0,59-1,44)	0,7
	Edad	+ 40 años	168	37						
		18-40 años	346	71	0,93	(0,60-1,44)	0,7	0,97	(0,62-1,53)	0,9
Siempre o frecuentemente, leo la etiqueta nutricional de los paquetes de alimentos o bebidas.	Sexo	Mujer	247	151						
		Hombre	127	97	1,24	(0,90-1,74)	0,2	1,32	(0,94-1,85)	0,1
	Edad	+ 40 años	126	79						
		18-40 años	248	169	1,09	(0,77-1,53)	0,6	1,13	(0,79-1,61)	0,5
Siempre o frecuentemente, presto atención a las indicaciones que figuran en los paquetes de alimentos o bebidas.	Sexo	Mujer	237	161						
		Hombre	120	104	1,28	(0,92-1,77)	0,1	1,33	(0,95-1,87)	0,1
	Edad	+ 40 años	131	74						
		18-40 años	226	191	1,50	(1,06-2,11)	0,02	1,54	(1,08-2,20)	0,02
Tras la implementación del "Semáforo Nutricional" presto mayor atención a las indicaciones que figuran en el etiquetado.	Sexo	Mujer	285	113						
		Hombre	150	74	1,24	(0,87-1,77)	0,2	1,34	(0,93-1,92)	0,1
	Edad	+ 40 años	141	64						
		18-40 años	294	123	0,92	(0,64-1,32)	0,7	0,96	(0,66-1,39)	0,8
He dejado de comprar un alimento tras leer el contenido de azúcar, sal y/o grasa.	Sexo	Mujer	205	193						
		Hombre	106	118	1,18	(0,85-1,64)	0,3	1,28	(0,92-1,80)	0,1
	Edad	+ 40 años	115	90						
		18-40 años	196	221	1,44	(1,03-2,02)	0,03	1,52	(1,08-2,16)	0,02
He dejado de consumir un alimento luego de haber leído el contenido de azúcar, sal y/o grasa.	Sexo	Mujer	208	190						
		Hombre	99	125	1,38	(0,99-1,92)	0,1	1,42	(1,02-1,98)	0,04
	Edad	+ 40 años	121	84						
		18-40 años	186	231	1,79	(1,27-2,51)	0,001	1,85	(1,31-2,62)	< 0,001

OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de Confianza al 95%; * Odds Ratio ajustada por nivel de estudios.

Los hombres tienen menos probabilidad de contestar que sí a la afirmación "Creo que consumo demasiada grasa" (OR=0,61; IC95%:0,43-0,85; p=0,004) respecto a las mujeres. En esta última afirmación se encontró también que los individuos con edades comprendidas entre los 18-40 años tienen menos probabilidad de decir que sí (OR=0,63; IC95%:0,44-0,90; p=0,01) respecto a los individuos mayores de 40 años.

Los individuos con edades comprendidas entre los 18-40 años tienen más probabilidad de decir que sí en los ítems "Trato de reducir al mínimo la cantidad de azúcar que consumo" (OR=2,41; IC95%:1,55-3,76; p<0,001); "(...) sal que consumo" (OR=2,24; IC95%:1,50-3,60; p<0,001); "(...) grasa que consumo" (OR=2,17; IC95%:1,44-3,27; p<0,001) respecto a los individuos mayores de 40 años.

Con respecto al conocimiento de los colores del semáforo nutricional, la muestra comprendida entre 18-40 años tiene menor probabilidad de decir que sí respecto a los mayores de 40 años a "En general, conozco lo que significa el color rojo en el etiquetado" (OR=0,67; IC95%:0,45-0,99; p=0,04); "(...) el color amarillo del etiquetado" (OR=0,64; IC95%:0,44-0,92; p=0,02); y "(...) color verde" (OR=0,63; IC95%:0,43-0,91; p=0,01).

Los individuos en edades comprendidas entre los 18-40 años tienen menor probabilidad de decir que sí a la afirmación "He dejado de consumir un alimento luego de haber leído el contenido de azúcar, sal y/o grasa" (OR=1,85; IC95%:1,31-2,62; p<0,001).

El 95,8% de los encuestados cree que comer una dieta con un alto contenido en azúcar, sal y/o grasa puede causar graves problemas de salud y 82,6% de la población considera que la implementación de la estrategia del semáforo nutricional es adecuada para mejorar las condiciones de salud de la población.

DISCUSIÓN

El presente trabajo analiza las actitudes y prácticas de la población con respecto a la implementación del etiquetado tipo semáforo nutricional en el Ecuador que pretende brindar la pauta para la comprensión del impacto de la estrategia para alertar a los consumidores sobre el consumo de alimentos y bebidas y, de esta manera, contribuir a la adopción de hábitos saludables que formen parte de estilos de vida más sanos.

En un estudio realizado en el año 2010-2011, donde participó Ecuador (n=400) junto con otros países latinoamericanos

(n=1992), se vio que apenas el 30,7% de los encuestados lee las etiquetas nutricionales de los paquetes de alimentos y solamente el 26,2% presta atención a las indicaciones que figuran en los paquetes tales como "sin sal añadida", "bajo contenido en sal", "ligero" o "sin grasas trans"¹⁰, dato que contrasta evidentemente con los encontrados en el presente estudio, donde un 68,6% lee las etiquetas nutricionales y el 50% y 49,4% respectivamente afirma que han dejado de comprar o consumir un alimento luego de mirar su contenido en azúcar, sal y grasa.

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, ENSANUT 2013¹¹, en Ecuador existe una alta carga de sobrepeso-obesidad y enfermedades metabólicas en la mayoría de grupos de edad, estas patologías están fuertemente condicionadas con la dieta. Bermudez y Col. menciona en su artículo el doble costo que implica el aumento de las enfermedades crónicas en Latinoamérica para los sistemas de salud, sumado a la lucha de enfermedades infecciosas y desnutrición, producto de un aumento del consumo de alimentos altos en azúcar y grasa¹². Según el INEC¹³ (Instituto Nacional de Estadística y Censos del Ecuador), las primeras causas de muerte en el país son la diabetes mellitus tipo II y las enfermedades hipertensivas. Estas patologías están relacionadas con el consumo de azúcar, sal y/o grasa. En el presente estudio el 95,8% de los encuestados cree que comer una dieta con un alto contenido en azúcar, sal y/o grasa puede causar graves problemas de salud y el 82,6% de la población considera que la implementación de la estrategia del semáforo nutricional es adecuada para mejorar las condiciones de salud de la población.

La ENSANUT menciona en su informe que 3 de cada 10 niños en edad escolar y adolescente y 6 de cada 10 adultos en Ecuador tiene sobrepeso y obesidad, condición que está fuertemente relacionada con el consumo de azúcar y grasa, además menciona las altas prevalencias en el consumo de gaseosas y otras bebidas, comida rápida y snacks (88,8%; 62,7%; y 71,2% respectivamente), todas altas en azúcar, grasas y sal. En el mismo informe se menciona que el promedio de consumo de grasa en la población ecuatoriana con respecto a la ingesta energética diaria corresponde al 26,5% de las cuales 12% corresponden a grasas saturadas. Micha y Cols.¹⁴, en su revisión que analizó 266 estudios de 187 países acerca del consumo de grasas y aceites, encontraron que el consumo promedio global de grasas saturadas fue de 9,4%, valor inferior al consumo en Ecuador.

Con respecto al consumo de sal, centenares de estudios, y sobre todo la Organización Mundial para la Salud¹⁵, han ratificado la relación que existe entre el consumo excesivo de sal¹⁶, mismo que se da en casi todos los rangos de edad, y la prevalencia de enfermedades crónicas severas como

hipertensión arterial y enfermedades renales²⁷, así como la necesidad de crear políticas que ayuden a la reducción de su consumo en la población.

Los individuos en edades >40 años tienen mayor probabilidad de decir que sí a la afirmación "He dejado de consumir un alimento luego de haber leído el contenido de azúcar, sal y/o grasa". En este sentido, se podría asumir que el impacto en las prácticas de alimentación y elección de alimentos en adultos mayores desde la implementación del semáforo nutricional ha sido positivo. Se debería analizar si dicho impacto es similar en adolescentes y niños, ya que aparentemente la simplicidad del semáforo nutricional indica que la información es clara y de fácil comprensión para la mayoría de personas.

El estudio presentó la limitación de no tener datos más específicos de la población como datos antropométricos y datos sobre etnia, que serían interesantes en estudios futuros. De igual manera, al tener una muestra por conveniencia, puede que no sea representativa de la población aunque sí lo sea de las personas que compran sus alimentos en supermercados. Cabe destacar que la principal fortaleza de este trabajo es dejar abiertas las puertas para ampliar el estudio con una muestra más grande y representativa de la población.

CONCLUSIONES

El presente estudio proporciona información sobre las actitudes y prácticas de la población con relación al semáforo nutricional y lo compara en función de la edad y el sexo, de manera que se han establecido diferencias importantes entre grupos poblacionales para ser consideradas en futuras campañas de educación nutricional y salud pública.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a los estudiantes del 4º semestre de Nutrición y Dietética de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, así como a los supermercados de Riobamba que participaron, brindando su aprobación para la toma de datos de esta investigación: DICOSAVI, AKI, Supermercados H de J Riobamba, TIA, AHI ES, MI COMISARIATO, SUPERMAXI.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores expresan que no hay conflictos de interés al redactar el manuscrito.

REFERENCIAS

- (1) Ollberding NJ, Wolf RL, Contento I. Food label use and its relation to dietary intake among US adults. *J Am Diet Assoc.* 2010; 110(8):1233-7.
- (2) Robinson E, Thomas J, Aveyard P, Higgs S. What everyone else is eating: a systematic review and meta-analysis of the effect of informational eating norms on eating behavior. *J Acad Nutr Diet.* 2014; 114(3): 414-29.
- (3) Babio N, López L, Salas-Salvado J. Análisis de la capacidad de elección de alimentos saludables por parte de los consumidores en referencia a dos modelos de etiquetado nutricional; estudio cruzado. *Nutr Hosp.* 2013; 28(1): 173-81.
- (4) Loria V, Pérez A, Fernández C, Villarino M, Rodríguez D, Zurita L, et al. Análisis de las encuestas sobre etiquetado nutricional realizadas en el Hospital La Paz de Madrid durante la 9ª edición del «Día Nacional de la Nutrición (DNN) 2010». *Nutr Hosp.* 2011; 26(1): 97-106.
- (5) Ministerio de Salud Pública (Ecuador). Reglamento de Etiquetado de Alimentos Procesados para el Consumo Humano. Registro Oficial Suplemento 318, 2014, Acuerdo Ministerial 5103.
- (6) Borgmeier J, Westenhofer J. Impact of different food label formats on healthiness evaluation and food choice of consumers: a randomized-controlled study. *BMC Public Health.* 2009; 9: 184.
- (7) Trudel R, Murray KB, Kim S, Chen S. The impact of traffic light color-coding on food health perceptions and choice. *J Exp Psychol Appl.* 2015; 21(3): 255-75.
- (8) Larrivee S, Greenway FL, Johnson WD. A Statistical Analysis of a Traffic-Light Food Rating System to Promote Healthy Nutrition and Body Weight. *J Diabetes Sci Technol.* 2015; 9(6): 1336-41.
- (9) Orozco F, Ochoa D, Muquínche M, Padro M, Melby CL. Awareness, Comprehension, and Use of Newly Mandated Nutrition Labels Among Mestiza and Indigenous Ecuadorian Women in the Central Andes Region of Ecuador. *Food Nutr Bull.* 2016; 379572116684730.
- (10) Claro RM, Linders H, Ricardo CZ, Legetic B, Campbell NRC. Consumer attitudes, knowledge, and behavior related to salt consumption in sentinel countries of the Americas. *Rev Panam Salud Publica.* 2012; 32(4): 265-73.
- (11) Freire WB, Ramírez MJ, Belmont P, Mendieta MJ, Silva MK, Romero N, et al. RESUMEN EJECUTIVO. TOMO I. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Ecuador. ENSANUT-ECU 2011-2013. Quito, Ecuador: Ministerio de Salud Pública/ Instituto Nacional de Estadística y Censos; 2013.

Rev Esp Nutr Hum Diet. 2017; **21**(2): 121 - 129

Actitudes y prácticas de la población en relación al etiquetado de tipo "semáforo nutricional" en Ecuador

129

- (12) Bermudez OJ, Tucker KL. Trends in dietary patterns of Latin American populations. *Cad Saude Publica*. 2003; 19(Suppl 1): S87-99.
- (13) Dirección de Estadísticas Socioeconómicas. Anuario de Nacimientos y Defunciones en El Ecuador 2013. Instituto Nacional de Estadística y Censos; 2014.
- (14) Micha R, Khatibzadeh S, Shi P, Fahimi S, Lim S, Andrews KG, et al. Global, regional, and national consumption levels of dietary fats and oils in 1990 and 2010: a systematic analysis including 266 country-specific nutrition surveys. *BMJ*. 2014; 348: g2272.
- (15) World Health Organization. Reducing salt intake in populations: report of a WHO forum and technical meeting, 5-7 October 2006, Paris, France. World Health Organization; 2007.
- (16) Jackson SL, King SMC, Zhao L, Cogswell ME. Prevalence of Excess Sodium Intake in the United States - NHANES, 2009-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016; 64(52): 1393-7.
- (17) Lankhorst S, Baelde HJ, Clahsen-van Groningen MC, Smeets FMM, Danser AHJ, van den Meiracker AH. Effect of high salt diet on blood pressure and renal damage during vascular endothelial growth factor inhibition with sunitinib. *Nephrol Dial Transplant*. 2016; 31(6): 914-21.

B. Comunicaciones en congresos científicos.**B.1. Comunicación 1. Poster**

Título: Association between 5-HTTLPR L/S polymorphism and ADHD in children and adolescents: Implications in diet and obesity

Autores: Carpio-Arias T.V., Torres-Anguiano J., Ríos-Hernández, A., Farran-Codina A., Alda, J.A., Izquierdo-Pulido, M.

Congreso/Evento: *NuGO Week.*” Phenotypes and prevention, the interplay of genes, life-style factors and gut environment”. Copenhagen, Dinamarca. 2016.



Association between 5-HTTLPR L/S polymorphism and ADHD in children and adolescents: Implications in diet and obesity

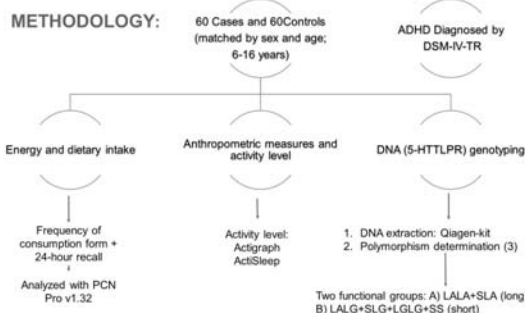


Carpio-Arias TV¹, Torres-Anguiano J¹, Ríos-Hernández A¹,
Farran-Codina A¹, Alda JA², Izquierdo-Pulido M^{1,3}

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Spain; ²ADHD Unit, Child and Adolescent Psychiatry Department, Hospital Sant Joan de Déu Barcelona, Spain; ³CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain.

INTRODUCTION: It has been postulated that the presence of functional polymorphism in the promoter region HTTLPR gene serotonin transporter (*SLC6A4*) may be related to certain compulsive eating behaviors and increased obesity (1,2).

AIM: To study the presence of this polymorphism in children and adolescents with attention deficit disorder and hyperactivity disorder (ADHD) and its potential association with the presence of overweight / obesity and eating habits in these patients.



RESULTS:

Figure 1. Percentage of genetic variations polymorphism 5-HTTLPR gene between cases and controls.

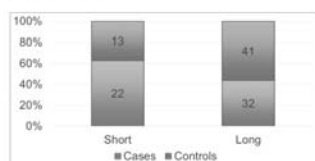


Table 2. ADHD symptomatology and 5-HTTLPR L/S polymorphism

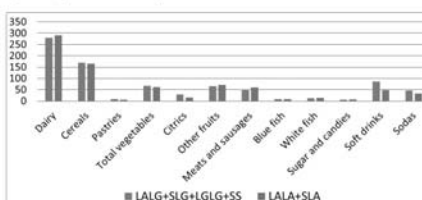
	A* n=32	B* n=22	P value
ADHD Parents			
ADHD (Total)	30.9 (11.3)	34.2 (11.5)	NS
Hyperactivity	14.3 (6.5)	13.8 (9.3)	NS
Inattention	16.6 (6.6)	20.4 (4.1)	0.01
Conners parents			
ADHD (Total)	69.1 (10.7)	74.9 (8.0)	0.03
Hyperactivity	70.5 (13.5)	67.3 (17.4)	NS
Inattention	68.7 (12.9)	76.4 (8.6)	0.01

A=LALA+SLA; B=LALG+SLG+LGLG+SS

Table 1. BMI and physical activity of subjects with ADHD and control subjects

	Cases ADHD	Controls	P value
BMI Z - score	0.73 (1.04)	0.24 (1.09)	0.018
Physical activity, kcal/day	1213.2 (810.4)	866.2 (486.3)	0.008

Figure 2. Food consumption in children with ADHD classified by 5-HTTLPR L/S, (data are presented in mean)



CONCLUSIONS:

1. The "short" variant predominates in children and adolescents with ADHD
2. The presence of the short variant could not relate to aspects of diet or obesity
3. The presence of the short variant allele, predominant in cases of children with ADHD could bring as consequences symptoms characteristic of the disease such as inattention that could have long-term consequences of obesity.

REFERENCES:

1. Corlese S et al. Association between ADHD and obesity: A systematic review and meta-analysis. *Am J Psychiatry*. 2016; 173:1.
2. Lee YG et al. Meta-Analysis of case-control and family based associations between the 5-HTTLPR L/S polymorphism and susceptibility to ADHD. *J Abnorm Child Psychol*. 2015; DOI: 10.1177/0165054715587940
3. Wendland JI et al. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reevaluation of 5-HTTLPR and rs25531. *Mol Psychiatry*. 2016; 11:224-226.

Abstract number: 24948

B.2. Comunicación 2. Poster

Título: Diet and sleep in children and adolescents with Attention deficit hyperactivity disorder

Autores: Ríos-Hernández A., **Carpio-Arias T.V.**, Alda J.A., Farran-Codina, A., Izquierdo-Pulido M.

Congreso/Evento: *“II Workshop anual sobre “Cacaco y chocolate: ciencia y gastronomía”*, Campus de Alimentación de Torribera- Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

DIET AND SLEEP IN SPANISH CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH ATTENTION DEFICIT HIPERACTIVITY DISORDER.

Ríos-Hernández A.¹, Carpio-Arias T.^{1*}, Alda JA.², Farran-Codina, A.¹, Izquierdo-Pulido M.^{1,3}

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy and Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària, University of Barcelona, Spain. ²ADHD Unit, Child and Adolescent Psychiatry Department, Hospital Sant Joan de Déu Barcelona, Spain; ³CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain

Background and objectives:

Nutrient deficiencies and unhealthy diets have been related with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). Sleep disorders also might influence in ADHD symptoms. To date little is known about the impact of diet and sleep on ADHD symptoms. The aim of this study was to assess the relationship between diet and sleep disturbances in children and adolescents with ADHD.

Subjects & Methods

55 Cases → Matched by sex and age 6-16 years → Energy and dietary intake, Anthropometric measures, Sleep characteristics

55 Controls

Results

Sleep disorders were more prevalent in ADHD children compared to control (Figure 1). It was found that a lower consumption of: fiber, vegetable protein, thiamin, vitamin D, iron, folate, potassium, magnesium is associated with a higher prevalence of total sleep problems (p<0, 05) (Figure 2). In the same way, a lower consumption of fiber, vegetable protein, thiamin, vitamin B6, vitamin E, iron, folate, magnesium and zinc intake was associated with a higher prevalence of "Excessive Daytime Sleepiness" only in children and adolescents with ADHD (p<0,05) (Table 1).

Table 1. Association of Excessive Daytime Sleepiness and diet*

Sleep Disorder	Contol (%)	ADHD children (%)
Total sleep problems	31.6	44.5
Sleep hyperhidrosis	2.7	3.4
Excessive somnolence	6.1	9.3
Sleep wake transition disorder	7.9	11.8
Disorder of arousal	3.3	3.3
Sleep breathing disorder	3.5	4.2
Disorders of initiating and maintaining sleep	8.3	12.2

Figure 1. Prevalence of Sleep Disorders

	n=55	B	95% CL	P-value
Fiber		-0.80	-1.35, -0.24	0.006
Vegetal protein		-0.75	-1.30, -0.23	0.005
Saturated fat		0.70	0.11, 1.30	0.022
Thiamin		-15.26	-24.10, -6.45	0.001
Vitamin B6		-8.30	-15.30, -1.30	0.022
Iron		-1.63	-2.75, -0.51	0.005
Folate		-0.04	-0.08, 0.01	0.008
Magnesium		-0.07	-0.12, -0.01	0.016

Figure 2. Associations between Total sleep disorders and nutrient intake in subjects with ADHD *

*Adjusted for sex, age and ADHD subtype

Conclusions

- Children and adolescents with ADHD have higher prevalence of sleep disorders than healthy subjects.
- Our results are in accordance with published data that showed that nutritional deficiencies such as that of vitamin B group, magnesium and zinc may impair sleep by altering neural responses via circulating intestinal hormones (e.g. insulin, CCK, ghrelin) or by affecting the synthesis of serotonin and melatonin.
- Taking in consideration that diet is a modifiable factor, specific dietary strategies for families and children with ADHD might help their sleep patterns and, in consequence, their quality of life

References:

Izquierdo-Pulido et al. The role of diet and physical activity in children and adolescents with ADHD. *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences v. Research Support*. 2015; 4:51-64.

Burden et al. Diet and sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder: preliminary data in Australian children. *Journal of child health care*. 2011;13:14-24

Colley et al. Sleep duration or bedtime? Exploring the association between sleep timing behaviour, diet and BMI in children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37:546-551

Supported by:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México)

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación (SENERCYT-Ecuador)

Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación (PI11/2008)

B.3. Comunicación 3. Poster

Título: Sleep disorders associated with diet in Spanish children and adolescents with Attention deficit hyperactivity disorder

Autores: Carpio-Arias T.V., Ríos-Hernández A., Farran-Codina, Izquierdo-Pulido, M., Alda J.A.

Congreso/Evento: 61 º Congreso de AEPNyA “Integrando Miradas” Asociación Española de Psiquiatría del Niño y Adolescente, Castellón de la Plana, España.

SLEEP DISORDERS ASSOCIATE WITH DIET IN SPANISH CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH ATTENTION DEFICIT HYPERACTIVITY DISORDER

Carpio-Arias T¹, Ríos-Hernández A¹, Farran-Codina A¹, Izquierdo-Pulido M^{1,2}, Alda JA.³

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy and Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària, University of Barcelona, Spain; ²CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain; ³ADHD Unit, Child and Adolescent Psychiatry Department, Hospital Sant Joan de Deu Barcelona, Spain.

INTRODUCTION & OBJECTIVES

Sleep disturbances are particularly widespread in children and adolescences with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) giving place to negative consequences in different areas of child's life. On the other hand, diet is another factor that has been shown to contribute to ADHD symptomatology. Therefore, both may be contributing factors to ADHD symptomatology. To date little is known about the impact of diet and sleep on ADHD symptoms. The aim of this study was to assess the relationship between diet and sleep disturbances in children and adolescents with ADHD.

METHODS

- 60 children and adolescents (6-16y) with ADHD (naïve) and 60 sex- and age- matched controls.
- Nutrient intake → Food Frequency Questionnaire
- Sleep Disturbances → SDSC Bruni et al., 1996

RESULTS & DISCUSSION

Sleep total disorders (STP) were more prevalent in ADHD children compared to controls ($p < 0.001$) (Figure 1). Moreover, ADHD children showed more behavioral sleep problems of initiating and maintaining sleep (BPS), more sleep-wake transition disorders (SWTD) and a higher excessive daytime somnolence (EDS) than controls ($p < 0.001$) (Figure 1). Most interesting was the fact that subjects with ADHD who had higher intake of dietary fiber and higher intake of certain vitamins and minerals showed less total sleep problems (Figure 2) and less excessive daytime somnolence (Table 1). Those, associations were not found in the controls. Deficiencies of group B vitamins and in certain minerals (magnesium and iron) may disrupt sleep, and their effect seems to be based on their influence on the secretion of melatonin.

Figure 1. Prevalence of Sleep Disorders (Bruni Scale) in cases (blue) and in controls (red)

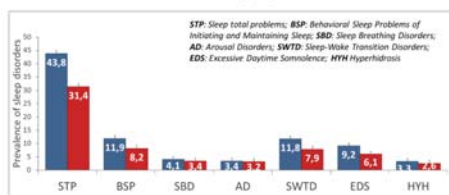
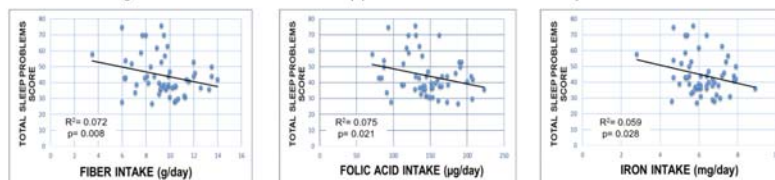


Table 1. Association of Excessive Daytime Sleepiness and diet in subjects with ADHD*

	B	95% CI	p
Fiber	-0.80	-1.35; -0.24	0.006
Thiamin	-15.26	-24.10; -6.45	0.001
Vitamin B6	-8.30	-15.30; -1.30	0.022
Iron	-1.63	-2.75; -0.51	0.005
Folate	-0.04	-0.08; 0.01	0.008
Magnesium	-0.07	-0.12; -0.01	0.016

* Adjusted for gender and age

Figure 2. Correlations between total sleep problems and nutrient intakes in subjects with ADHD *



* Adjusted for gender and age

CONCLUSIONS

- Children and adolescents with ADHD have higher prevalence of sleep disorders than healthy subjects.
- The nutritional quality of the diet may impair sleep by altering neural responses or by affecting the synthesis of serotonin and melatonin.
- Taking into consideration that diet is a modifiable factor, specific dietary strategies for families and children with ADHD might help to improve their sleep patterns and, in consequence, their quality of life.

FINANCIAL SUPPORTED BY:



REFERENCES: Blunden et al. J Child Health Care 2010; 14-24. Bruni et al., J Sleep Res 1996; 5:251-61. Chaput, Physiol Behav 2014; 134:86-91. Cortese et al., Eur Child & Adolesc Psychiatry 2009; 18: 393-9; Grandner et al., J Sleep Res. 2014; 23:22-34. Puhkuri et al. Nutr Res 2012; 32: 309-19.

B.4. Comunicación 4. Poster

Título: Eating behaviour dimensions and anthropometric indicators of adiposity and diet in Ecuadorian adults.

Autores: Carpio-Arias T.V., Zerón-Rugério M.F. , Cando-Oñate F. , Izquierdo-Pulido M.

Congreso/Evento: *III Workshop “La salud de la microbiota, prebióticos y pro bióticos en nutrición animal y humana”*. Campus de Alimentación de Torribera-Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

EATING BEHAVIOR DIMENSIONS AND ANTHROPOMETRIC INDICATORS OF ADIPOSITY AND DIET IN ECUADORIAN ADULTS.

Carpio-Arias T.V.^{1,2,3*}, Zerón-Rugiero M.F.^{1,3}, Cando-Oñate F.⁴, Izquierdo-Pulido M.^{1,3,5}



¹ Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Spain; ² Food and Nutrition Research Group (GIANH) "Escuela Superior Politécnica de Chimborazo", Ecuador; ³ Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), University of Barcelona, Spain; ⁴ Institute of Postgraduate and Continuing Education, "Escuela Superior Politécnica de Chimborazo", Ecuador; ⁵ CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain



Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària

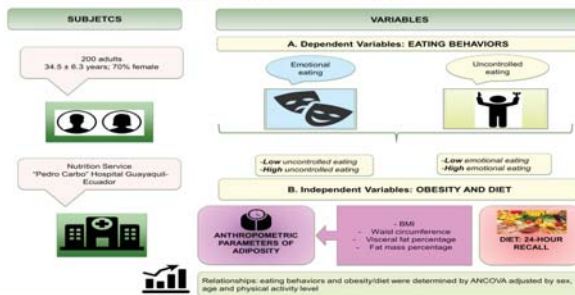
INTRODUCTION

Obesity is a growing and multifactorial pathology. There is a need to understand the cognitive-behavioral nature of food intake and its interaction with obesity. Among the cognitive-behavioral, two dimensions of eating behavior (EB) have been identified: uncontrolled and emotional, each with its own etiology.

AIM: To understand the link between the emotional and uncontrolled dimensions of the EB, adiposity indicators, and diet in a sample of overweight Ecuadorian adults.



MATERIALS AND METHODS

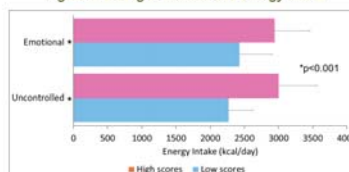


RESULTS

Table 1. Anthropometric characteristics and eating behavior scores [mean (SD)]

General and Anthropometric Characteristics				
Age(y)	34.6 (6.3)			
Weight (kg)	84.3 (22.3)			
Height (cm)	160.0 (0.1)			
BMI (kg/m ²)	32.5 (7.3)			
Waist perimeter (cm)	95.4 (17.2)			
Hip circumference (cm)	102.8 (11.5)			
Fat mass (%)	40.4 (8.9)			
Eating Behaviors				
	Mean	SD	Min	Max
Emotional score	2.14	0.34	1.33	3.17
Uncontrolled score	2.48	0.34	1.66	3.33

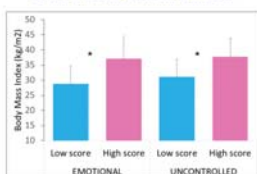
Figure 1. Eating behaviors and energy intake



All the individuals showed overweight or obesity. Higher scores of eating behaviors mean higher emotional or uncontrolled behaviors.

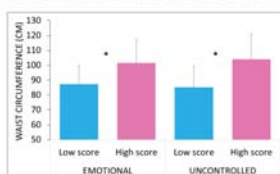
Adults identified as high emotional or high uncontrolled eaters showed higher values of energy intake. On the other hand, the intake of all macronutrients was also higher in both high emotional or high uncontrolled eaters (data not shown).

Figure 2. Eating behavior and BMI



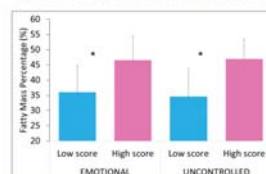
Individuals identified as high emotional or high uncontrolled eaters showed higher values of BMI. Mean and SD of BMI. *Significance level p<0.005

Figure 3. Eating behavior and waist circumference



Subjects identified as high emotional or high uncontrolled eaters showed higher values of waist circumference. Mean and SD of waist circumference. *Significance level p<0.001

Figure 4. Eating behavior and fatty mass (%)



Individuals identified as high emotional or high uncontrolled eaters showed higher values of fatty mass. On the contrary, those same individuals showed a lower free-fatty mass (data not shown, p<0.05). Mean and SD of fatty mass. *Significance level p<0.001

CONCLUSIONS

- Individual differences in eating behaviors may explain in part variations in diet, development of weight gain (adiposity), and subsequent obesity. Therefore, an emotional or/and an uncontrolled behavior could be obesity factor risks.
- The nutritional therapies to lose weight or to maintain the weight lost should also take into account the eating behavior of the patient in order to personalize the dietetic recommendations to increase their success.

REFERENCES

Capelleri J.C., et al. Psychometric analysis of the Three-Factor Eating Questionnaire-R21 results from a large diverse sample of obese and non-obese participants. 2009 Int. J. of Obes; 33, 611-620.; Jauregui-Lobera I. et al; Psychometric Properties of Spanish Version of the Three-Factor Eating Questionnaire-R18 (TFEQ-Sp) and Its Relationship with Some Eating and Body Image-Related Variables. 2014. Nutrients; 6 5619-5635.; Kruger R. et al; Exploring the Relationship between Body Composition and Eating Behavior Using the Three Factor Eating Questionnaire (TFEQ) in Young New Zealand Women. 2016. Nutrients; 8:386.

ACKNOWLEDGEMENTS



B.5 Comunicación 5. Poster

Título: Anthrometric indicators of adiposity and diet related with sleep quality in Ecuadorian adults.

Autores: Carpio-Arias T.V., Zerón-Ruggerio M.F., Cando-Oñate F., Cambras T., Izquierdo-Pulido M.

Congreso/Evento: *III Workshop “La salud de la microbiota, prebióticos y pro bióticos en nutrición animal y humana”*. Campus de Alimentación de Torribera-Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

ANTHROPOMETRIC INDICATORS OF ADIPOSITY AND DIET RELATED WITH SLEEP QUALITY IN ECUADORIAN ADULTS

Carpio-Arias T.V.^{1, 2, 3*}, Zerón-Rugiero M.F.^{1, 3}, Cando-Oñate F.⁴, Cambras T.⁵, Izquierdo-Pulido M.^{1, 3, 6}



¹ Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, University of Barcelona, Spain; ² Food and Nutrition Research Group (GIANH) ³ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador; ⁴ Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA), University of Barcelona, Spain; ⁵ Institute of Postgraduate and Continuing Education, "Escuela Superior Politécnica de Chimborazo", Ecuador; ⁶ Department of Physiology, School of Pharmacy and Food Science, University of Barcelona, Spain; ^{*} CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain.



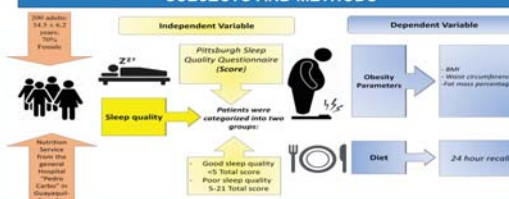
Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària

BACKGROUND AND AIMS:

BACKGROUND: The implications of inadequate sleep in the development of overweight and obesity have been strongly evidenced. Previous studies indicate that sleep deprivation results in changes in the levels of some hormones including leptin, ghrelin, insulin, cortisol and growth hormone that contribute to energy imbalance, which in the long term is related to diseases such as hypertension, metabolic syndrome, type 2 diabetes and hypercholesterolemia.

AIM: To examine the relationship between sleep quality and overweight-obesity and diet in a sample of Ecuadorian adults.

SUBJECTS AND METHODS



RESULTS

Anthropometric characteristics and sleep quality of the studied subjects are shown in Table 1. Participants classified as Poor Sleep Quality (PSQ) had higher anthropometric parameters: Body weight, BMI, waist circumference and fat mass percentage ($p < 0.05$) than adults classified as Good Sleep Quality (GSQ) (Figure 1). Moreover, participants classified as PSQ had higher intake of energy ($p < 0.001$), carbohydrates ($p = 0.023$) and fat ($p = 0.021$) than those classified as GSQ (Figure 2). Data in figure 1 and 2 are shown in means and standard deviations.

Table 1. Anthropometric characteristics and sleep quality

General and Anthropometric Characteristics	
Age (years)	Mean (SD) 34.6 (6.3)
Weight (kg)	84.3 (22.3)
Height (cm)	160.0 (0.1)
BMI (kg/m ²)	32.5 (7.3)
Waist perimeter (cm)	95.4 (17.2)
Hip circumference (cm)	102.8 (11.5)
Fat mass (%)	40.4 (8.9)
Sleep Quality	
Total Score	Mean (SD) 4.4 (1.9)
Sleep quality categories	
Poor Sleep Quality PSQ, %	48
Good Sleep Quality GSQ, %	52

Figure 1. Differences between PSQ and GSQ individuals and Anthropometric Indicators of Adiposity*

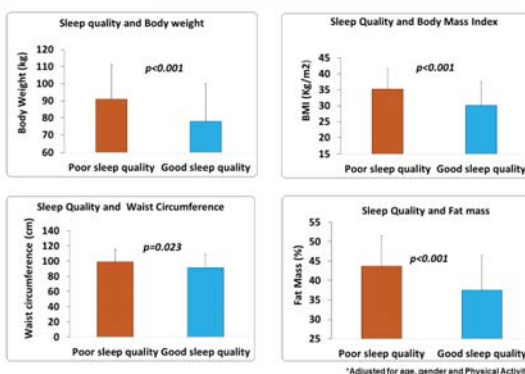
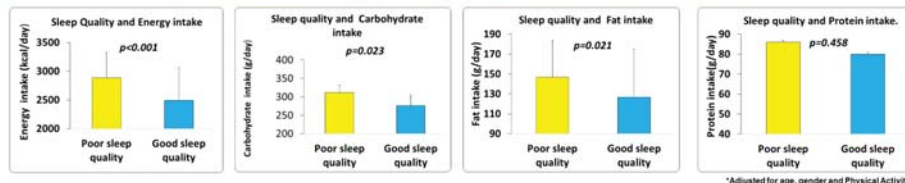


Figure 2. Differences between PSQ and GSQ individuals and energy and macronutrient Intake*



CONCLUSIONS

- Our results show that poor sleep quality could be an important risk for the development of overweight and obesity. This could be related to the fact that a higher intake of energy and carbohydrates and fat was observed in individuals who showed a poor sleep quality.
- These results support the hypothesis of the metabolic implications of inadequate rest. It is recommended to take this into account as part of an appropriate healthy style.

REFERENCES

Wills H, et al. The impact of sleep deprivation on food desire in the human brain. Nature Communications 2013; 4:2259. D. Sperry S, et al. Sleep Duration and Waist Circumference in Adults: A Meta-Analysis. Sleep. 2015; 38(8): Wu L, et al. Sleep duration and obesity among adults: a meta-analysis of prospective studies. Sleep Medicine. 2014; 14(5): 1462.

SUPPORTED BY:



B.6. Comunicación 6. Poster

Título: Emotional eating is associate to sleep quality in Spanish young adults.

Autores: Zerón-Rugero M.F., **Carpio-Arias T.V.**, Diez-Noguera A., Cambras T., Izquierdo-Pulido M.

Congreso/Evento: *III Workshop “La salud de la microbiota, prebióticos y pro bióticos en nutrición animal y humana”*. Campus de Alimentación de Torribera-Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España.



EMOTIONAL EATING IS ASSOCIATED TO SLEEP QUALITY IN SPANISH YOUNG ADULTS.

Zerón-Rugetio MF^{1,2*}; Carpio-Arias TV^{1,2}; Díez-Noguera A³; Cambras T³; Izquierdo-Pulido M^{1,2,4}.

¹Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy, School of Pharmacy and Food Science, University of Barcelona, Spain; ²Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària (INSA) University of Barcelona, Spain; ³Department of Biochemistry and Physiology, School of Pharmacy and Food Science, University of Barcelona, Spain; ⁴CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, Spain



INTRODUCTION

Poor sleep quality (SQ) independently influences dietary intake (food and nutrients) and weight outcomes. Few studies have studied the potential relationship between SQ with eating behaviors (EB) (the cognitive-behavioral nature of food intake) and its three dimensions: emotional (EE), uncontrolled (UE) and restraint (RE) eating.

AIM

Study potential associations between SQ and EB in young adults

Recruitment



n = 149
20 – 30 years
78.5% females

Assessments

- 1 Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI).
- 2 Three Factor Eating Questionnaire (TEFQ – R21).
- 3 International Physical Activity questionnaire (IPAQ).

METHODOLOGY

Data collection

Survey CTO platform for electronic data-collection, based on Open Data Kit.



RESULTS

In our population of young adults, 59% of participants showed a PSQI higher of 5, which indicates a poor SQ (Figure 1). Higher PSQI scores (indicating poor SQ) were associated with higher EE ($\beta = -0.298$, $p < 0.029$, $r^2 = 0.056$) (Figure 2). On the other hand, no statistically significant associations were found between PSQI and UE and RE. Figure 3 shows the associations between PSQI means and the emotional (EE) items from the TEFQ-R21, showing that subjects with higher PSQI tend to overeat when depressed, anxious or sad ($p < 0.05$). All statistical analysis were adjusted by age, gender and physical activity.

Figure 1. Sleep Quality in Spanish Young adults.



Figure 1. Sleep Quality in Spanish Young adults.

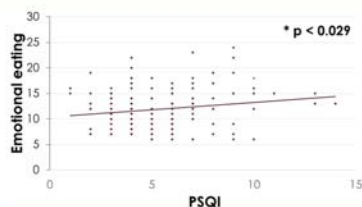
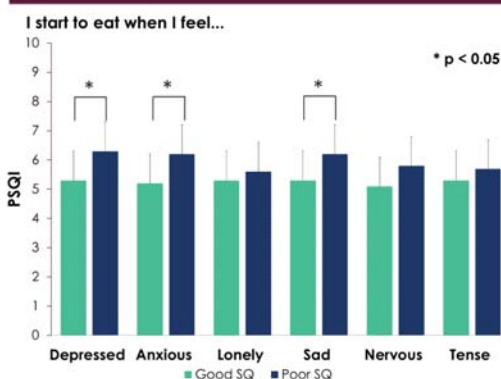


Figure 2. PSQI (means \pm SD) and emotional eating behaviors



CONCLUSIONS

1. Poor SQ and EE are positively associated.
2. Improving SQ in young population could reduce individual susceptibility to overeat when coping with emotionally negative situations, which could help to attenuate weight gain during adulthood.

REFERENCES

- Blumfield, M. L., Bell, B., Zimberg, L. Z., & Cain, J. W. (2017). Dietary disinhibition mediates the relationship between poor sleep quality and body weight. *Appetite*. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.10.022>
- Marín-García, M., Vilà-Maldonado, S., Rodríguez-Gómez, L., Faya, F. M., Plaza-Carmona, M., Pastor-Vicedo, J. C., & Ara, I. (2014). The Spanish version of the Three Factor Eating Questionnaire-R21 for children and adolescents (TEFQ-R21C): Psychometric analysis and relationships with body composition and fitness variables. *Physiology and Behavior*, 165, 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.08.015>

ACKNOWLEDGEMENTS

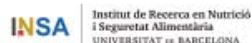


B.7. Comunicación Oral

Título: Morningness and sleep quality improve adherence to mediterranean diet.

Autores: Zerón-Rugiero F; **Carpio-Arias TV**; Díez-Noguera A; Cambras T; Izquierdo-Pulido M.

Congreso/Evento: *III Workshop “La salud de la microbiota, prebióticos y pro bióticos en nutrición animal y humana”*. Campus de Alimentación de Torribera-Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España.



III WORKSHOP ANUAL INSA-UB

La salut de la microbiota; Prebiòtics i Probiòtics en nutrició animal i humana.

MORNINGNESS AND SLEEP QUALITY IMPROVE ADHERENCE TO MEDITERRANEAN DIET.

Zerón-Rugerio F; Carpio-Arias V; Díez-Noguera A; Cambras T; Izquierdo-Pulido M.

Department of Nutrition, Food Science and Gastronomy and Department of Biochemistry and Physiology, School of Pharmacy and Food Science, University of Barcelona.

C. Cuestionarios

C1. Criterios para el diagnóstico de Trastorno por déficit de atención e hiperactividad del Manual DSM-V.

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

1. Inatención

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 las actividades sociales y académicas/laborales:

NOTA: Los síntomas no son sólo una manifestación del comportamiento de oposición, desafío, hostilidad o fracaso para comprender las tareas o instrucciones. Para adolescentes mayores y adultos (a partir de 17 años de edad), se requiere un mínimo de 5 síntomas.

a. Con frecuencia falla en prestar la debida atención a los detalles o por descuido se cometen errores en las tareas escolares, en el trabajo o durante otras actividades (por ejemplo, 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 (por ejemplo, tiene dificultad para mantener la atención en clases, conversaciones o lectura prolongada).

c. Con frecuencia parece no escuchar cuando se le habla directamente (por ejemplo, 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 (por ejemplo, inicia tareas pero se distrae rápidamente y se evade con facilidad).

e. Con frecuencia tiene dificultad para organizar tareas y actividades (por ejemplo, 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 (por ejemplo tareas escolares o quehaceres domésticos; en adolescentes mayores y adultos, preparación de informes, completar formularios, revisar artículos largos).

- g. Con frecuencia pierde cosas necesarias para tareas o actividades (por ejemplo, materiales escolares, lápices, libros, instrumentos, billetero, llaves, papeles de 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 (por ejemplo, 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 las actividades sociales y académicas/laborales:

NOTA: Los síntomas no son sólo una manifestación del comportamiento de oposición, desafío, hostilidad o fracaso para comprender las tareas o instrucciones. Para adolescentes mayores y adultos (a partir de 17 años de edad), se requiere un mínimo de 5 síntomas.

- a. Con frecuencia juguetea o golpea con 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 (por ejemplo, se levanta en clase, en la oficina o en otro lugar de trabajo, en 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” (por ejemplo, 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 (por ejemplo, termina las frases de otros; no respeta el turno de conversación).
- h. Con frecuencia le es difícil esperar su turno (por ejemplo, mientras espera una cola).

i. Con frecuencia interrumpe o se inmiscuye con otros (por ejemplo, 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 los otros).

Los síntomas de hiperactividad-impulsividad han estado presentes durante al menos 6 meses en una medida disruptiva e inapropiada para el nivel de desarrollo de la persona.

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 (por ejemplo, en casa, en el colegio o el trabajo; con los amigos o familiares; 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 (por ejemplo, trastorno del estado de ánimo, trastorno de ansiedad, trastorno disociativo, trastorno de la personalidad, intoxicación o abstinencia de sustancias).

En función de los resultados se podrán clasificar las siguientes presentaciones:

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

Presentación predominante con falta de atención: Si se cumple el Criterio A1 pero no se cumple el criterio A2 (hiperactividad-impulsividad) durante los últimos 6 meses.

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.

C2. Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario**Frecuencia de consumo de alimentos - Infantil**

ID:	(a rellenar por el personal investigador)	Fecha:	
Apellidos:	(escriba apellidos en MAYÚSCULAS)		
Nombre:	(escriba nombre en MAYÚSCULAS)		

Instrucciones:

- Este cuestionario NO debe ser autoadministrado. Debe ser rellenado por el personal investigador.
- Cuando estime las frecuencias de consumo, piense en todas las formas en que puede consumir un alimento. Por ejemplo, las verduras crudas pueden consumirse como plato o como acompañamiento.
- Tenga en cuenta las cantidades cuando estime las frecuencias. Por ejemplo, si un individuo suele consumir un plato de verduras crudas cada día y 3 veces a la semana como acompañamiento entonces serán 7 raciones más 3 medias raciones (total: 8,5 raciones/semana).
- Introduzca un sólo dato de frecuencia para cada alimento, usando la columna que más le convenga.
 - ¿Sigue el niño/a alguna dieta especial?** No Sí, por iniciativa de los padres Sí, por indicación de un profesional
 - ¿Cuál?** Sin gluten Sin lactosa Sin proteína láctea Sin huevo Baja en energía Vegetariana Ovo lacto vegetariana Otra.....
 - ¿Qué comidas hace habitualmente el niño/a?** Desayuno Media-mañana Comida Merienda Cena Resopón Entre horas
 - ¿Con qué frecuencia come el niño fuera de casa?:** Nunca A veces habitualmente Fin de semana
 - Si come habitualmente fuera de casa, indique qué comidas**
Desayuno Media-mañana Comida Merienda Cena Resopón Entre horas
 - Qué aceite/grasa acostumbra a utilizar para:**
Freír.....Aliñar..... Guisar.....
 - Acostumbra a eliminar la grasa o la piel de los diferentes alimentos (jamón, pollo, etc.)?** Sí No A veces.
 - Toma algún complejo vitamínico-mineral o suplemento nutricional?**
Sí No A veces
 - En caso afirmativo, indique el nombre comercial del producto y la frecuencia de consumo (pastilla/cápsula):**

NOMBRE	FRECUENCIA	Cuanto tiempo hace que lo toma?
	1 2 3 4 5 D S M Ameses
	1 2 3 4 5 D S M Ameses
	1 2 3 4 5 D S M Ameses

D, diario; S, semanal; M, mensual; A, anual

A continuación le preguntaré con qué frecuencia (poner un número [N] o una cruz [X]) acostumbra a tomar los siguientes alimentos:

	A la semana	Al mes	Nunca
Leche			
Yogurt (también DANONINO considerar ½ ración)			
Chocolate: tableta, bombones, “Kit Kat”, “Mars”...			
Cereales de desayuno (“Corn- flakes”, “Kellog’s”)			
Galletas tipo “maría”			
Galletas con chocolate, crema...			
Magdalenas, bizcocho, melindros...			
Ensamada, donut, croissant...			
“Phoskitos” “Pantera Rosa” “Bony” Tigretón			
	A la semana	Al mes	Nunca
Ensalada: lechuga, tomate, escarola...			
Judías verdes, guisantes, brócoli, zanahoria			
Acelgas, espinacas			
Verduras de guarnición: berenjena, champiñones			
Patatas al horno, fritas o hervidas			
Legumbres: lentejas, garbanzos, judías...			
Arroz blanco, paella			
Pasta: fideos, macarrones, espaguetis...			
Sopas y cremas de verduras			
	A la semana	Al mes	Nunca
Huevos			
Pollo o pavo (incluir el fiambre de pollo y			

pavo también)			
Ternera, cerdo, cordero (bistec, empanada,...)			
Carne picada, salchichas, hamburguesa, albóndigas			
Pescado blanco: merluza, panga, rape, bacalao...			
Pescado azul: sardinas, atún, salmón (conservas tb)			
Marisco: mejillones, gambas, langostinos, calamares,...			
Croquetas, empanadillas, pizza			
Pan (en bocadillo, con las comidas,...)			
Jamón salado, dulce, embutidos			
Queso blanco o fresco (Burgos,...) o bajo en calorías			
Otros quesos: curados o semicurado, cremosos			
	A la semana	Al mes	Nunca
Frutas cítricas: naranja, mandarina, (kiwi también)			
Otras frutas: manzana, pera, melocotón, plátano...			
Frutas en conserva (en almíbar...)			
Zumos de fruta natural			
Zumos de fruta comercial			
Frutos secos: cacahuetes, avellanas, almendras,...			
Postres lácteos: natillas, flan, mató, arroz con leche,...			
Pasteles de crema o chocolate (tartas, brazo gitano, etc.			
Golosinas: gominolas, caramelos...			
Bolsas de aperitivos ("chips", "Cheetos", "Fritos"...)			
Helados			
Azúcar			
	A la semana	Al mes	Nunca
Bebidas azucaradas ("Coca-cola", "Fanta", Trina,...)			
Bebidas bajas en calorías ("Coca-cola light")			
OTROS	A la semana	Al mes	Nunca

C.3 Cuestionario de calidad de sueño de Bruni.

	Puntos					
1. ¿Cuántas horas duerme la mayoría de las noches?:						
Horas:	9-11 h	8-9 h	7-8 h	5- 7 h	< 5 h	
Puntos:	1	2	3	4	5	
2. ¿Cuanto tarda en dormirse?:						
Minutos:	< 15m	15-30 m	30-45 m	45-60m	> 60 m	
Puntos:	1	2	3	4	5	
En las siguientes respuestas puntue según la frecuencia del evento:						
	1: nunca					
	2: 1-2 veces al mes					
	3 :1-2 por semana.					
	4: 3-5 veces/semana.					
	5: diariamente.					
3. Se va a la cama de mal humor:						
4. Tiene dificultad para coger el sueño por la noche:						
5. Parece ansioso o miedoso cuando "cae" dormido :						
6. Sacude o agita partes del cuerpo al dormirse:						
7. Realiza acciones repetitivas como rotación de la cabeza para dormirse:						
8. Tiene escenas de " sueños " al dormirse:						
9. Suda excesivamente al dormir:						
10. Se despierta más de dos veces cada noche:						
11. Después de despertarse por la noche tiene dificultades para dormir:						
12. Tiene tirones o sacudidas de las piernas mientras duerme, cambia a menudo de posición o da "patadas" a la ropa de cama:						
13. Tiene dificultades para respirar durante la noche:						
14. Da boqueadas para respirar durante el sueño:						
15. Ronca:						
16. Suda excesivamente durante la noche:						
17. Usted ha observado que camina dormido:						
18. Usted ha obsevado que habla dormido:						
19. Rechina los dientes dormido:						
20. Se despierta con un chillido :						
21. Tiene pesadillas que no recuerda al día siguiente:						
22. Es difícil despertarlo por la mañana :						
23. Al despertarse por la mañana parece cansado:						
24. Parece que no se pueda mover al despertarse por la mañana:						
25. Tiene soñolencia diurna:						
26. Se duerme de repente en determinadas situaciones:						
SUBESCALAS PARCIALES DE PROBLEMAS CON EL SUEÑO:						
					rango	
Inicio y mantenimiento del sueño: Preguntas 1-2-3-4-5-10-11.					0	9.9 ± 3.11
Problemas respiratorios: Preguntas 13-14-15.					0	3.77±1.45
Desórdenes del arousal: Preguntas 17-20-21.					0	3.29± 0.84

Alteraciones del tránsito vigilia/sueño: Preguntas 6-7-8-12-18-19.	0	8,11± 2.41
Somnolencia excesiva: Preguntas 22-23-24-25-26.	0	7,11± 2.57
Hiperhidrosis del sueño: Preguntas 9-16.	0	2,87±1.69