

VAS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA

RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

“Cambios en la expresión proteica inducidos por la estimulación magnética transcraneal en las células del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de Trastorno Límite de Personalidad valorados con microarreglos”.

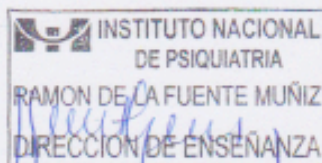
TÉSIS PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRIA.

PRESENTA:

Dr. Francisco Javier Vegas Rodríguez

Tutor Metodológico: Dr. Jorge Julio Gonzalez Olvera

Tutor Teórico: Dr. Gerardo Bernabé RamírezRodriguez



CD.MX., 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## Índice.

|   |                              |
|---|------------------------------|
| .....   | Error! Bookmark not defined. |
| <b>Marco Teórico</b> .....  | 4                            |
| <b>Estimulación Magnética Transcraneal</b> .....  | 4                            |
| <b>Historia</b> .....   | 4                            |
| <b>Desarrollo de la Estimulación Magnética Transcraneal Moderna</b> .....                 | 4                            |
| <b>EMT: consideraciones fisiológicas actuales, concepto moderno y su aplicación</b> ..... | 5                            |
| <b>Interacción del tejido y el campo magnético</b> .....                                  | 5                            |
| <b>Tipos de Bobinas</b> .....   | 7                            |
| <b>Consideraciones de seguridad</b> .....   | 7                            |
| <b>Efectos adversos</b> .....   | 7                            |
| <b>Cambios cognitivos y neuropsicológicos</b> .....                                       | 9                            |
| <b>Efecto de la EMTr sobre los neurotransmisores</b> .....                                | 9                            |
| <b>Trastorno límite de personalidad y EMT</b> .....                                       | 10                           |
| <b>Neurobiología del Trastorno Límite de Personalidad</b> .....                           | 12                           |
| <b>Neurogénesis, epitelio olfatorio y expresión proteica</b> .....                        | 12                           |
| <b>Microarreglos de anticuerpos</b> .....   | 14                           |
| <b>Utilización del epitelio olfatorio para la evaluación de la Neurogénesis</b> .....     | 15                           |
| <b>Planteamiento del problema</b> .....   | 15                           |
| <b>Justificación</b> .....  | 16                           |
| <b>Hipótesis</b> .....  | 16                           |
| <b>Criterios de selección</b> .....   | 17                           |
| <b>Procedimientos</b> .....   | 18                           |
| <b>Proceso de obtención y procesamiento de la muestra de mucosa olfatoria</b> ....        | 21                           |
| <b>Escalas Clinimétricas</b> .....  | 21                           |
| <b>Escala Hamilton de Depresión</b> .....   | 21                           |
| <b>Escala de Hamilton para Ansiedad (HAM-A)</b> .....                                     | 22                           |
| <b>Borderline Evaluation of Severity over Time (BEST)</b> .....                           | 22                           |

|   |           |
|---|-----------|
| Escala de Impresión Clínica Global para TLP (ICG-TLP).....  | 23        |
| <b>Análisis estadístico.....</b>  | <b>23</b> |
| <b>Aspectos éticos, financieros y de bioseguridad.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>Resultados.....</b>  | <b>24</b> |
| <b>Efecto del tratamiento e intervención reflejado en las escalas clinimétricas... 24</b>   |           |
| <b>Borderline Evaluation of Severity over Time (BEST).....</b>  | <b>25</b> |
| <b>Impresión Clínica Global (ICG). .....</b>  | <b>29</b> |
| <b>Microarreglos y procesamiento de las proteínas de secreción de las células del epitelio olfatorio: Abordaje cualitativo.....</b> | <b>38</b> |
| GRUPO 1: Pacientes que recibieron estimulación magnética transcraneal repetitiva. ....  | 44        |
| GRUPO 2: Pacientes que recibieron únicamente psicofármacos. ....  | 47        |
| <b>Microarreglos y procesamiento de las células de epitelio olfatorio .....</b>   | <b>49</b> |
| <b>Discusión. ....</b>  | <b>51</b> |
| <b>C-Src Tyrosine Kinase (CSK) # 78 del L-507. ....</b>   | <b>53</b> |
| <b>EDA-A2: Ectodisplasina-A # 110 del L-507.....</b>  | <b>54</b> |
| <b>IGF-BPrp1 / IGFBP7: Proteína de unión 1 con el factor de crecimiento insulínico #229 del L-507.....</b>                          | <b>55</b> |
| <b>sFRP-4 : Soluble frizzled-related protein. #445 del L-507. ....</b>  | <b>55</b> |
| <b>Trombospondina-1 #477 del L-507.....</b>   | <b>55</b> |
| <b>SPARC # 459 del L-507.....</b>   | <b>56</b> |
| <b>Conclusiones. ....</b>   | <b>56</b> |
| <b>Limitaciones .....</b>   | <b>57</b> |
| <b>Futuras perspectivas. ....</b>   | <b>58</b> |
| <b>Agradecimientos.....</b>   | <b>58</b> |
| <b>Referencias.....</b>   | <b>59</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>  | <b>67</b> |

## **Marco Teórico**

### **Estimulación Magnética Transcraneal.**

#### **Historia.**

En la actualidad el postulado de la localización de las funciones mentales en áreas específicas del cerebro viene a la mente como algo común y sin mayor debate, sin embargo, dicho concepto ha evolucionado a lo largo de la existencia de los humanos. Posiblemente el primer intento de situar una conducta en un área específica cerebral surgió en la antigüedad con las prácticas chamánicas basadas en la trepanación valorando la masa encefálica.

Uno de los primeros científicos en relacionar cuestiones mentales con afecciones en el cerebro y su localización particular fue Sir Thomás Willis en el siglo XVII. A los científicos de la época interesados en la localización de las funciones se los conocía de manera genérica como “locacionistas”. Dichos científicos establecieron las bases sobre las que descansan las neurociencias actuales, sin embargo, como ocurre frecuentemente dicha relación fue llevada al extremo surgiendo así la frenología, donde se postulaba que el cerebro es el órgano de la mente y que la forma externa del cráneo se relacionaba con las capacidades del individuo. Es evidente que en el momento científico actual dichos preceptos están completamente desestimados, sin embargo la frenología y los “locacionistas” son considerados como una protociencia, ya que oriento a las generaciones futuras a estudiar el cerebro como el origen de las cuestiones mentales. (1)

El siguiente paso histórico en la localización de las funciones lo dio Pierre-Paul Broca, quien describiendo clínicamente a su paciente “Tan”, el cual posterior a una lesión cerebral solo podía repetir una y otra vez la sílaba tan; los estudios postmortem de dicho paciente demostraron una lesión en el hemisferio izquierdo, naciendo así la anatomía topográfica de Broca.

Dichos antecedentes lanzaron a muchos científicos en el viaje por descubrir la localización exacta de las funciones mentales, camino que aun continuamos recorriendo hasta la actualidad.

#### **Desarrollo de la Estimulación Magnética Transcraneal Moderna**

El principio funcional de la estimulación magnética transcraneal (EMT) es la inducción electromagnética, que hace referencia al proceso por el cual la energía eléctrica es transformada en campos magnéticos y viceversa. Dicho principio fue descrito por

primera ocasión en 1831 por Faraday. La aplicación de dicho principio a un modelo de EMT parecido a lo que se usa actualmente fue Dársonval en 1896, quien colocó a una persona en un campo electromagnético potente generando en él acúfenos, vértigo y síncope.

La aplicación de los estudios llevados a cabo por Dársonval en un paciente con psicopatología se dio en 1902, con un aparato patentado por Adrian Pollacsek y Berthold Beer en Austria. Este instrumento constaba de un resorte electromagnético colocado sobre el cráneo que “pasaba las vibraciones del mismo hacia el cráneo” intentando manejar así “la depresión y neurosis”.

Con el fin de estudiar el fenómeno generado por el electromagnetismo en los humanos, en especial la generación de fosfenos, surgieron diversas herramientas hacia 1910, sin embargo los capacitores de la época no permitían el uso de estimulación de altas frecuencias o intensidades.

La época moderna de EMT surge en 1985 cuando A.T Baker y sus colaboradores desarrollaron el primer sistema moderno, sin embargo aún presentaban problemas técnicos con el modelo, como un tiempo prolongado de carga y un sobrecalentamiento con el uso continuo (1).

Actualmente los diseños son capaces de generar un campo electromagnético en rangos de 1 a 2 Teslas, el cual es el umbral conocido para generar despolarización neuronal a través del cráneo.

### **EMT: consideraciones fisiológicas actuales, concepto moderno y su aplicación.**

La estimulación magnética transcraneal es una técnica de neuroestimulación y neuromodulación, que se basa en el principio de la inducción electromagnética de un campo eléctrico en el cerebro. Dicho campo puede ser de suficiente magnitud y densidad para generar despolarización neuronal y cuando los pulsos de la EMT son repetidos se puede modular la excitabilidad cortical, ya sea disminuyendo o incrementando la excitabilidad.

### **Interacción del tejido y el campo magnético.**

En la estimulación magnética transcraneal la energía eléctrica está almacenada en un capacitor que es disparada a través de una bobina de estimulación generando un pulso en el circuito que genera un campo magnético en la vecindad de la bobina. En relación a la ley de Faraday de la inducción electromagnética, este campo magnético induce un campo eléctrico cuya magnitud es proporcional al tiempo en el que cambia

la corriente de la bobina. El campo magnético inducido hace que los iones fluyan en el cerebro, sin la necesidad de que el estímulo viaje a través del cráneo y cerebro.

El flujo de iones que genera el campo eléctrico inducido en el cerebro altera la carga eléctrica en ambos lados de la membrana celular, despolarizando o hiperpolarizando las neuronas.

Los estimuladores y las bobinas que actualmente existen desarrollan aproximadamente un campo de 1.5 – 2.0 Teslas en la cabeza de la bobina y son capaces de inducir campos eléctricos en la corteza de hasta 150 V/m, se considera que dependiendo de la intensidad de estimulación seleccionada es posible activar neuronas corticales de una profundidad de 1.5 a 3 cm por debajo de la piel cabelluda (2,3).

La forma de la onda del estímulo y la dirección de la corriente tiene significancia en relación al umbral de estimulación. De tal modo que los estímulos de duración corta requieren pulsos de amplitud mayor pero menor energía para lograr la estimulación (4)

La EMT puede ser administrada con diversos patrones teniendo así: un estímulo simple por ocasión, llamada EMT de pulso único; en pares de estímulos separados por un intervalo de tiempo conocida como EMT de pulsos pareados; o en trenes de estimulación llamada EMT repetitiva (EMTr).

En relación a la aplicación terapéutica de la EMT se utiliza de manera general la EMTr. Al utilizar esta modalidad se debe diferenciar entre protocolo convencional o “en patrones”. Para los protocolos convencionales el termino actual es EMT repetitiva, y se refiere a la aplicación regular de un estímulo único repetido. El término “rápido o de alta frecuencia” se refiere a rangos de estímulo de 1 Hz o menor.

La EMT repetitiva en patrones se refiere a EMT repetitiva en “bursts” de una frecuencia alta intercalada con pausas en las que no se da estimulación. La mayor evidencia de esta modalidad son los “theta burst” en los que se utilizan cortas “explosiones” de 50 Hz en repeticiones en rango theta (5 Hz), ya sea de manera continua o en trenes intermitentes (5, 6).

La aplicación de dichos modelos de estimulación ha permitido la expansión del estudio de los mecanismos de acción de la EMT. En este sentido se han considerado diversos mecanismos, incluyendo cambios sinápticos que asemejan de forma experimental a la meta plasticidad, generando potenciaciones a largo plazo e inhibiciones a largo plazo

con los modelos experimentales de EMT; así como cambios en la excitabilidad del sistema y activación de redes de "feedback" (7,8).

### **Tipos de Bobinas.**

De manera general la forma de la bobina afecta la dirección y capacidad de focalización del campo electromagnético formado. Así existen bobinas circulares en donde dependiendo del diámetro es posible estimular regiones de diversa profundidad sobre la corteza cerebral. Sin embargo la focalización no es tan precisa. Además, existen bobinas en forma de 8 y bobinas circulares dobles, donde el campo electromagnético generado es mucho más preciso, pudiendo con las bobinas circulares dobles estimular regiones corticales profundas, llegando incluso a poder generar estimulación cerebelosa. Una parte central a considerar en las bobinas es el sobrecalentamiento de los materiales, siendo vital un sistema de enfriamiento adecuado para limitar los posibles riesgos (9).

### **Consideraciones de seguridad.**

Calentamiento: el calentamiento tisular generado sobre el cerebro después de un pulso único de estimulación ha sido calculado en aproximadamente 0.1 °C (10); lo cual parece ser aún menor en áreas con perfusión baja como quistes o zonas isquémicas. En protocolos de estimulación profunda se ha calculado el calentamiento de las zonas implicadas en aproximadamente 0.8 °C (11). Se considera que el calentamiento tisular cerebral por encima de 43 °C puede resultar en daño irreversible.

De manera general los paciente con material metálico, ya sea ferromagnético o no colocados en cráneo deben de ser evaluados cuidadosamente ya que el campo electromagnético puede modificar el posicionamiento de estos, generar calentamiento sobre ellos o modificar la posición de los mismos.

### **Efectos adversos.**

#### **Audición.**

La deformación rápida del núcleo de la bobina en la EMT genera un artefacto acústico que puede llegar a exceder los 140 dB, se ha reportado que algunos usuarios posterior a la estimulación han reportado incremento transitorio del umbral auditivo. El único caso de afección definitiva posterior a un proceso ocurrió en un individuo que no estaba utilizando protecciones auditivas y que estaba siendo estimulado con una bobina de estimulación profunda. En los estudios realizados con individuos con adecuada protección auditiva no se generó ningún cambio reportado. (9)



### **Convulsiones.**

La inducción de convulsiones es el efecto secundario más grave de la EMT. Existen diferentes reportes de convulsiones inducidas por la EMT, la mayoría de ellos ocurriendo a los pocos días de iniciado el manejo. Gracias a la cantidad de estudios existentes y a la baja presencia de convulsiones reportadas se puede concluir que el riesgo de convulsiones es bastante bajo.

Las convulsiones pueden ser inducidas cuando se aplican pulsos a altas frecuencia con intervalos cortos entre cada tren de estimulación. Teóricamente las convulsiones se pueden inducir en dos periodos asociado con la estimulación: el primero durante o justo al terminar los trenes de EMTr y el segundo como resultado de los efectos posteriores debido a la excitabilidad cortical.

Incluso existen estudios realizados a paciente epilépticos (12) en donde se tomaron reportes de EEG y se demostraba que no existían cambios e incluso reportaron reducciones en la frecuencia o duración de las ondas anormales en los reportes encefalográficos.

### **Sincope.**

La respuesta vasodepresora es común en reacciones de ansiedad y "discomfort" psicosocial. Dicho efecto adverso es mucho más frecuente que la presencia de convulsiones asociadas a la estimulación. La sintomatología presente durante el episodio puede ser muy variada estando asociada con la disminución en la perfusión cerebral durante el evento y pueden incluir movimientos anormales, vocalizaciones, alucinaciones, versiones cefálicas u oculares; dichos síntomas pueden ser difíciles de distinguir de una convulsión, siendo la pérdida de control de esfínteres y el morderse la lengua los síntomas que suelen hacer la diferencia entre uno y otro, por supuesto, el diagnóstico diferencial preciso se da con el registro electroencefalográfico en caso de contar con el durante el episodio.

Otro dato relevante para la diferencia es la toma de prolactina en los primeros 15 minutos posteriores al evento, ya que la presencia de elevación de esta hormona confirma el evento convulsivo, sin embargo un registro negativo no lo descarta.

Las técnicas para el control de este evento adversos consisten en las mediciones generales de signos vitales y apertura de la vía aérea, siendo estas las medidas que pueden evitar complicaciones asociadas al síncope como las caídas. (9)

### **Dolor.**

Dicho síntoma es el efecto adverso más frecuente asociado a la EMT, el "discomfort" generado por pulsos únicos suele ser mínimo y es bastante tolerado por los pacientes. Sin embargo al utilizar EMTr el dolor y la tolerancia al mismo suele ser algo frecuente, aunque la vivencia asociada con esto es muy variable de persona a persona.

A pesar de la presencia recurrente de este efecto adverso la tasa de suspensión de estimulación por dicho síntoma es muy baja en los reportes realizados, alcanzando menos del 2% (13).

El mecanismo fisiológico de porque la estimulación genera dolor aun no esta bien claro, se cree que se debe a estimulación del nervio trigémino, sin embargo otros científicos consideran que la contracción muscular podría ser la génesis del dolor, así como la postura fija del cuello durante las sesiones de estimulación (9).

### **Cambios cognitivos y neuropsicológicos.**

El uso de la EMTr como una estrategia terapéutica, sobretodo en trastornos psiquiátricos ha incrementado en los últimos años, lo que ha permitido la valoración de los efectos de la estimulación sobre áreas no motoras. En un estudio de metanálisis en el que se consideraron 173 artículos [se reportaron](#) efectos como fatiga, problemas para concentrarse, dificultades mnésicas leves, transitorias y de una prevalencia baja (46). Sin embargo en otro metanálisis realizado por Loo en 2008, se evaluaron las repercusiones de la EMTr sobre las funciones cognitivas con baterías neuropsicológicas encontrando un incremento en el desempeño de dichos instrumentos. Este análisis sugirió que la EMTr podía favorecer a la neuroplasticidad de acuerdo con los estudios de imagen funcional (14).

### **Efecto de la EMTr sobre los neurotransmisores.**

Desde el año 2000 Keck demostró alteraciones en la concentración de neurotransmisores asociados a la EMT, demostrando en su estudio un incremento en la dopamina hipocámpica posterior a la estimulación del lóbulo frontal a 20 Hz. (15). Por otro lado, la estimulación de la corteza prefrontal dorso lateral izquierda a 20 Hz

alteró los niveles de glutamato/glutamina, no solo en la región estimulada sino a nivel remoto, demostrando cambios en la corteza prefrontal dorso lateral derecha y en el giro izquierdo del cíngulo (16). De tal modo que la estimulación a 10 Hz de la corteza prefrontal dorso lateral izquierda puede modular el metabolismo del triptófano y serotonina, en las áreas límbicas sin inducir cambios en la conducta (9). Aunado a lo anterior, existe información que la EMTr puede activar la transcripción de c-fos en neuronas de la capa 1 a la 4 y en la 6ta de corteza parietal y algunas neuronas del hipocampo (17).

### **Trastorno límite de personalidad y EMT.**

La prevalencia de dicho diagnóstico a nivel mundial se ha calculado alrededor del 2%, siendo actualmente un problema de salud pública. Dentro de la variabilidad en la expresión sintomatológica uno de los que más riesgo conlleva en los pacientes son los comportamientos impulsivos. (68)

En el análisis de los componentes neurobiológicos de la impulsividad se ha demostrado un papel fundamental de la corteza prefrontal como el área de planeación y control de los impulsos. En este sentido existen reportes de alteraciones morfológicas y funcionales en esta área particular del encéfalo (18-22). En los estudios funcionales realizados en pacientes con trastorno límite de personalidad (TLP) se evidenció una menor actividad en la región del lóbulo frontal (23-25). Además, la alta impulsividad en los pacientes tiene que ver con una desregulación en la circuitería neuronal, con asociación entre distintas áreas cerebrales, de tal modo que se considera que la impulsividad se debe a una desregulación de las áreas fronto-límbicas.

En los últimos años se han realizado esfuerzos sistemáticos para estudiar dicha desregulación fronto-límbica con diversos estudios funcionales sustentando el postulado inicial (26, 27, 28). Al analizar a las pacientes con TLP con tomografía por emisión de positrones se detectó un hipometabolismo en el área de la corteza prefrontal (29). Además, la disfunción frontal no solamente se ha demostrado por estudios funcionales y de neuroimagen, sino también se han encontrado alteraciones en las funciones de dichas áreas con pruebas neuropsicológicas (30). Al analizar éstas disfunciones con técnicas neurofisiológicas, se observó que la conducta impulsiva puede ser interpretada como una disminución en la inhibición o un incremento en la excitabilidad del sistema. De tal modo que una estrategia terapéutica con atractivos resultados para el TLP es la EMT.

Lo anterior deriva de estudios realizados en pacientes con diagnóstico de TLP en los que se ha identificado como un posible mecanismo de la EMT a la activación de los receptores GABAérgicos corticales (31, 32,33).

La evidencia antes descrita permitió proponer el uso de técnicas de intervención para la modificación de algunas alteraciones presentes en áreas fronto-limbicas, que gracias a la proximidad de dichas áreas hacia la superficie cortical, estas son accesibles para la EMT.

Estudios realizados con estimulación magnética y con terapia electroconvulsiva han revelado que la estimulación de la corteza prefrontal dorso lateral afecta el proceso de la toma de decisiones (34). Por lo que de manera teórica se planteó que la EMT podría modificar algunos procesos anormales en el TLP. En el mismo sentido se ha propuesto que la mejoría en la sintomatología reportada por los estudios tiene que ver con una optimización en la regulación de los sistemas “top-down” cortico subcorticales de los pacientes, sobretodo en relación al control de la agresividad (35).

Entre los pocos estudios que existen, el trabajo de Caihol y colaboradores se realizó con cinco pacientes que tenían diagnóstico de TLP. En ese trabajo se comparó el efecto de EMT *versus* la estimulación simulada. y se aplicaron 10 sesiones de alta frecuencia sobre la corteza dorso lateral prefrontal. Se evaluaron diversas variables demográficas, así como la severidad del trastorno aplicando la herramienta de medición clínica “Borderline Personality Disorder Severity (BPDSI)”. Los resultados mostraron una mejoría en los ítems del BPDSI relacionados con la inestabilidad afectiva y el enojo, así como una mejoría clínica reportada por los pacientes (34). El diseño aplicado en este estudio fue el primer acercamiento reportado para el uso terapéutico de la EMT en pacientes con diagnóstico de TLP (34).

Otro reporte del uso de la EMT como terapéutica en el TLP encontró una mejoría en un paciente de 22 años que fue valorado con instrumentos clinimétricos y de imagen funcional. La elección de dicha intervención se sustenta en hallazgos previos, en donde resaltan la disfunción de los diversos circuitos prefrontales (dorso lateral, ventromedial y orbito frontal), así como la disfunción de la amígdala (36). El estudio reportó un mejoramiento significativo en relación a los ítems de depresión, impulsividad y afecto negativo de los instrumentos clinimétricos utilizados (37).

Con base en lo anterior es posible considerar a la EMT como una estrategia terapéutica posible de neuromodulación a través de la estimulación no invasiva en los pacientes con el diagnóstico de TLP. Sin embargo, los efectos que dicha intervención

tiene a nivel molecular, expresión proteica y posibles mecanismos celulares asociados a la mejoría no han sido abordados hasta el momento.

### **Neurobiología del Trastorno Límite de Personalidad.**

De manera general los estudios llevados a cabo en gemelos determinan una concordancia del 35% en mono cigotos y 7% en di cigotos, (69)

Otro de los datos que se ha reportado sobre las características neurobiológicas propias de la población con TLP, es que existen alteraciones en relación a la presencia del alelo corto de la región promotora del transportador de serotonina, siendo asociado dicho isomorfismo a la presencia del rasgo de impulsividad relacionado con el TLP. (70, 71)

La neuroplasticidad de los pacientes con TLP también presenta ciertas particularidades. En un estudio llevado a cabo con el objetivo directo de evaluar la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés) relaciono dicho factor con los portadores del receptor de serotonina 1B. Determinando así que la presencia de un haplotipo específico del receptor (196A) resultaba protector para la conducta agresiva e impulsiva en las pacientes con TLP (72)

Desde el modelo conceptual de Siever y David, diversos de los síntomas específicos observado en el TLP tendrían una relación con un sistema neurotransmisor particular, siendo que síntomas como la desregulación afectiva y la impulsividad se relacionan con transmisión colinérgica, serotoninérgica y noradrenérgica; los síntomas psicóticos transitorios con alteraciones en el tono dopaminérgico. (73)

Otro sistema de neurotransmisión que se ha hipotetizado podría dar explicación a diversos problemas en el cuadro psicopatológico del TLP es el sistema glutamatérgico, a través de su receptor tipo NMDA (N-metil-D-aspartato). Influyendo en los mecanismos de neuroplasticidad dicho receptor regula la actividad límbica de diversas áreas como hipocampo, amígdala y corteza anterior del cíngulo, así como la corteza prefrontal. Las consecuencias clínicas de dichas están relacionadas con el déficit en la memoria, cognición social, desregulación emocional y alteraciones psicóticas transitorias. (74)

### **Neurogénesis, epitelio olfatorio y expresión proteica.**

La generación de neuronas en el cerebro es un mecanismo de neuroplasticidad que puede ser modulado por diversas intervenciones terapéuticas. Es posible que este proceso se encuentre afectado en algunas enfermedades neuropsiquiátricas. Estudios

preclínicos realizados en roedores demostraron el surgimiento de nuevas neuronas en el hipocampo cuya función está relacionada con la cognición. Sin embargo, también existen evidencias de la existencia de la neurogénesis en adultos humanos, aunque la significancia funcional de dicho proceso en el humano no se ha determinado y se ha sugerido un papel similar al encontrado en los estudios preclínicos (41).

A lo largo de la vida de un mamífero las nuevas neuronas se producen y se integran tanto al área hipocámpica como al bulbo olfatorio, que han demostrado ser las dos áreas con una actividad neurogénica constitutiva y se ha demostrado que dichas neuronas “recién nacidas” han incrementado la plasticidad sináptica del sistema por un periodo de tiempo ilimitado posterior a su diferenciación (42).

Otra región en la que también se lleva a cabo el proceso neurogénico, pero externa al sistema nervioso central, es el epitelio olfatorio que es un tejido pseudoestratificado columnar, el cual contiene cuatro tipos celulares: los receptores ciliados de la olfacción, que son básicamente neuronas especializadas, celular microviliares, células de sustancia y la capa basal celular. Todas estas células con excepción de las basales se encuentran hacia la superficie del tejido.

La técnica para la obtención de tejido intacto del epitelio olfatorio en los humanos fue diseñada en 1982 por Lovell (43). En la actualidad es viable la obtención de tejido útil para experimentación con un raspado nasal con un hisopo, lo cual facilita su obtención y generaliza su uso. Las molestias generadas por la obtención por raspado son dolor, irritación nasal y posible epistaxis, las cuales son dificultades manejadas de manera sencilla a nivel médico y sin complicaciones graves (44).

Debido a la dificultad para el estudio de los procesos que ocurren in vivo en las regiones hipocámpicas del cerebro humano, el epitelio olfatorio se postula como una región indirecta que al ser evaluada nos podría arrojar datos de los mecanismos celulares y moleculares que ocurren en las alteraciones neuroplásticas con las que cursan las enfermedades neuropsiquiátricas.

La utilización del análisis del epitelio olfatorio para valorar la respuesta terapéutica a las intervenciones está siendo utilizada cada vez de manera más frecuente en las neurociencias. Así existen análisis de epitelio olfatorio con variaciones en la expresión proteica por ejemplo en relación a los astrocitos y neuronas, valorando proteínas moduladores de la excitotoxicidad como la EAAT2/GLT-1 que es un canal de aminoácidos excitatorios, en la cual un incremento en su expresión se asoció a una disminución en la excitotoxicidad. Además, se reportó la expresión de marcadores

neuronales como subtipos de receptores glutamatergicos, factores de crecimiento neural y neurotransmisores como el glutamato y el GABA. (45). Aunado a lo anterior, el estudio de los factores secretados por las células troncales del epitelio olfatorio pueden ser una estrategia de análisis para la valoración de las modificaciones a nivel molecular y celular con la intención de la búsqueda de marcadores que indiquen la progresión o el efecto de las intervenciones terapéuticas.

### **Microarreglos de anticuerpos.**

El estudio de los cambios en la expresión de proteínas ha sido importante para la búsqueda de biomarcadores de algunas enfermedades (38). Lo anterior se debe a que las células del organismo tienen la capacidad de secretar diversas proteínas entre las que se encuentran factores tróficos, los cuales pueden cambiar dependiendo de la condición del individuo a partir del cual derivan esas células.

Una de las estrategias que tienen gran aplicación es la utilización de microarreglos de anticuerpos. El origen del diseño de esta técnica surgió a finales de los años 80, cuando los científicos Stephen Fodor, Michael Pirrung, Leighton Read y Luber Stryer desarrollaron una técnica para la determinación y cuantificación de ADN en una muestra. (38)

La ventaja de dicha técnica sobre las existentes es la alta densidad de integración del material biológico que se puede inmovilizar, es decir, la posibilidad del análisis simultáneo de miles de genes. En la actualidad la técnica de microarreglos se utiliza para la expresión génica, detección de mutaciones o polimorfismos, secuenciación genética, seguimiento terapéutico, medicina preventiva, tamizajes y toxicología de medicamentos; las aplicaciones de la técnica cada vez son mayores, pudiendo aplicarse en diversos protocolos dependiendo del objetivo a analizar (38).

A la fecha también existen diversos microarreglos con anticuerpos específicos que permiten monitorear la presencia y la cuantificación de diversas moléculas de secreción. Uno de estos microarreglos utiliza como base membranas de plástico que contienen los anticuerpos y un sistema para el marcado de las proteínas con biotina, seguido de la reacción de quimioluminiscencia y la captura de la señal con un fotodocumentador para su posterior análisis semicuantitativo. Con este tipo de microarreglos es posible la tipificación de la expresión de más de 525 proteínas (40) en muestras de controles o pacientes con diagnóstico de trastorno límite de la personalidad.

### **Utilización del epitelio olfatorio para la evaluación de la Neurogénesis.**

La generación de información concerniente al marco biológico específico de la expresividad de las células del epitelio olfatorio es vital para su utilización como un recurso viable en el diseño de las investigaciones.

¿Por qué elegir este epitelio? Bien, pues la posibilidad de estudio, en relación a la accesibilidad del tejido neural, en específico, las células troncales del SNC, lo pone como un eje central, con una posibilidad de desarrollo real; tan es así, que se han estudiado como posibles marcadores biológicos proteínas relacionadas con los astrocitos, como GFAP, marcadores de crecimiento neural, polimorfismos del receptor de glutamato, así como neurotransmisores como el glutamato y GABA (74). El epitelio olfatorio tiene una actividad neurogénica clara, siendo la segunda zona del cerebro, después del hipocampo, en donde se generan nuevas neuronas de forma recurrente en el cerebro adulto, siendo incluso el decremento en este fenómeno asociado a procesos de envejecimiento (75).

Un ejemplo del uso del epitelio olfatorio como un tejido viable para el estudio de la neurogénesis lo tenemos en lo realizado por Satter et al (76), en donde evaluaron la expresión de un transportador de glutamato conocido como EAAT2, influido por el tianfenicol, comparando las células de biopsias de tejido en ratones y humanos, encontrando un incremento en la expresión en ambas especies.

Por lo anterior el epitelio olfatorio resulta un candidato ideal para análisis y caracterizaciones de los cambios en la expresión de las células troncales inducidos por alguna intervención.

### **Planteamiento del problema.**

En diversos estudios se ha demostrado la utilidad de la EMTr para inducir modificaciones conductuales asociadas a disfunciones de la corteza prefrontal de pacientes con diagnóstico de TLP. Debido a que esta región es susceptible a modificaciones causadas por la EMT se ha propuesto que ésta última puede ser una opción terapéutica para las pacientes que presentan este trastorno. Sin embargo, el mecanismo de acción a través del cual la estimulación magnética transcraneal ejerce sus efectos no se conoce. En ese sentido, se ha propuesto que puede actuar a nivel de la regulación genética, molecular, proteica, así como a través de la inducción de la plasticidad y metaplasticidad, sin conocerse de manera específica el entorno biológico



que rodea a la patología y los posibles cambios a nivel celular inducidos por las distintas intervenciones terapéuticas.

### **Justificación.**

El estudio de los posibles efectos biológicos que pueda tener la EMTr es relevante ya que puede servir de base para el desarrollo de protocolos orientados a dilucidar las condiciones moleculares de respuesta a intervenciones mínimamente invasivas y con un potencial de mejoría.

De igual forma la definición de los cambios en un sentido específico de reestructuración celular que son influenciados por las proteínas de secreción evaluadas con microarreglos de anticuerpos, podría generar conocimiento acerca de los cambios en las proteínas de secreción en pacientes con diagnóstico de TLP, y cómo estos perfiles proteicos podrían tener una aplicación futura como biomarcadores y ser modificados por las diferentes opciones terapéuticas.

Si bien es cierto que células derivadas de diferentes fuentes han sido utilizadas para monitorear los cambios inducidos por diversas intervenciones farmacológicas algunas de ellas no muestran cambios relacionados con las alteraciones a nivel central. En ese sentido una de las fuentes de material biológico que ha ganado relevancia es el epitelio olfatorio, ya que en él existe regeneración neuronal a partir de células troncales que son importante para la formación de neuronas olfativas, pero también para inducir regeneración neuronal en otras regiones del cerebro.

Con base en lo anterior, el uso de las células troncales del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de TLP para evaluar los cambios en sus proteínas de secreción y para conocer si estos perfiles proteicos son modificados por la EMTr podría permitir establecer una relación de los beneficios de ésta intervención para inducir cambios a nivel plástico, proteico y mejoras clínicas del paciente.

### **Hipótesis.**

#### **Hipótesis nula**

No existe un patrón de expresión modificado por las intervenciones.

#### **Hipótesis alterna**

Existen diferencias en la expresión proteica en las células troncales del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de TLP inducidas por la EMTR.

## **Materiales y métodos.**

### Diseño del estudio

La presente investigación es un ensayo clínico abierto, naturalístico ya que el control de los fármacos quedó a cargo del médico tratante de cada paciente, siendo mantenidas las dosis de los psicofármacos durante las tres semanas correspondientes al tiempo considerado en la intervención., es prospectivo, longitudinal, comparativo y analítico.

### Población y muestra

La población de estudio fueron pacientes con diagnóstico de TLP atendidos en el Instituto Nacional de Psiquiatría que aceptaron y firmaron el consentimiento informado. Se contó con dos grupos, el primero de ellos con pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y que recibieron EMTr en el área de la corteza prefrontal dorso lateral izquierda por un total de 15 sesiones a una frecuencia de 5Hz. El segundo grupo fueron de pacientes con los mismos criterios de inclusión en donde se mantuvo únicamente el manejo del psicofarmacológico elegido por su médico tratante en la consulta externa, sin modificar las dosis del mismo o agregar manejos durante las 3 semanas, correspondientes al tiempo que se tomó en dar las 15 sesiones del primer grupo. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del INPRFM (Ref: CEI/C/012/2016, # folio 00818)

### **Criterios de selección.**

#### **Criterios de inclusión.**

Pacientes de género masculino o femenino.

Pacientes con edad entre 18 y 60 años.

Pacientes con diagnóstico de Trastorno Límite de Personalidad con base en los criterios categóricos del DSM-V.

Pacientes sin otras comorbilidades médicas.

Pacientes que acepten participar en el estudio y firmar el consentimiento informado.

#### **Criterios de exclusión**

Pacientes fuera del rango de edad.

Pacientes en los que se diagnostique otra condición médica.

Pacientes con contraindicaciones para recibir estimulación magnética transcraneal.

Pacientes con diagnóstico clínico de discapacidad intelectual.

Pacientes o familiares que rechacen colaborar en el estudio, de acuerdo a lo expuesto en el consentimiento informado.

### **Criterios de eliminación**

Pacientes en los que la toma de muestra de células de mucosa olfatoria no sea satisfactoria para los análisis moleculares definidos.

Pacientes a los que durante el ciclo de sesiones de estimulación magnética transcraneal presenten efectos adversos suficientes para suspender dicha intervención.

Pacientes que decidan suspender su participación en el estudio en cualquier momento del mismo.

### **Procedimientos**

Los pacientes y los controles fueron seleccionados de los servicios de Preconsulta, consulta externa y clínica de TLP con base en los criterios de inclusión ya descritos. Posterior a la identificación de un posible participante se le explicó la naturaleza del protocolo, exponiendo los beneficios y riesgos asociados a los distintos procedimientos del mismo, proporcionando el consentimiento informado para su lectura, revisión y posterior firma.

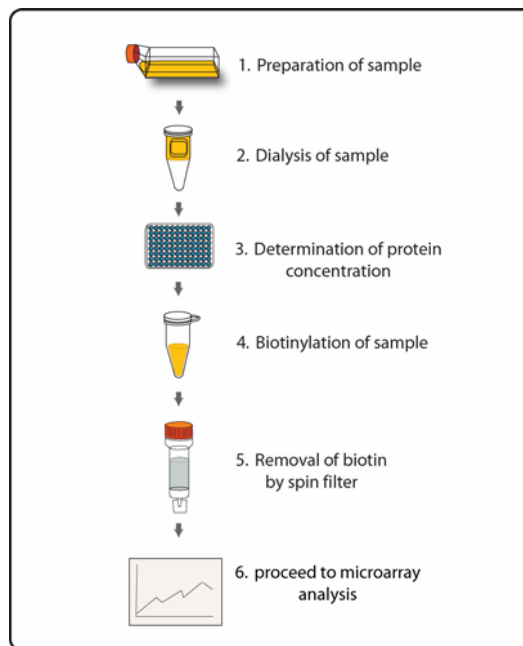
En caso de la aceptación a participar en el protocolo se procedió a la realización de un electroencefalograma en el departamento de neurofisiología del Instituto Nacional de Psiquiatría a cargo del Dr Jorge Julio González Olvera, quien confirmaba la ausencia de algún dato sugerente de anormalidad en el mismo.

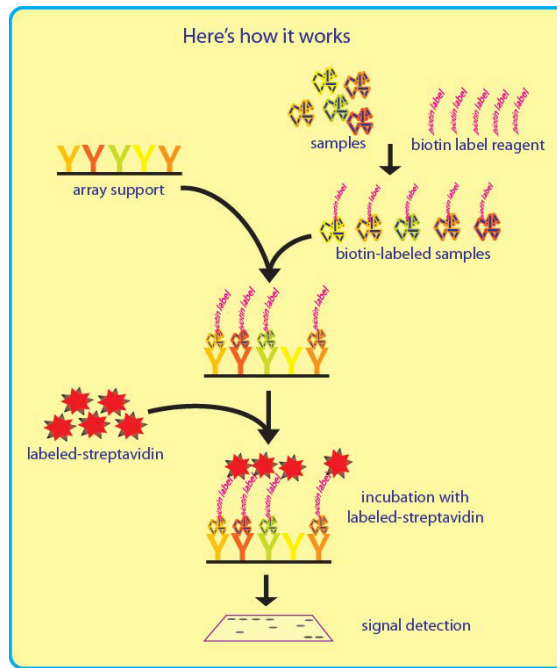
Posterior a esto se realizó la toma de la muestra de células de la mucosa olfatoria por raspado con un hisopo, dicho procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio de Neurogénesis de la Subdirección de Investigaciones Clínicas, a cargo del doctor Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez, dichas células se procesaron, mantuvieron y congelaron de acuerdo a lo reportado recientemente (Franco et al. 2017; Ortiz-López L et al 2017). Los factores solubles liberados por las células troncales del epitelio olfatorio de los participantes se procesaron siguiendo las especificaciones y

recomendaciones del fabricante del microarreglo seleccionado para la presente investigación L-series Human Antibody Array 507 (L-507)

El arreglo L-507 permite detectar de manera simultánea hasta 507 proteínas de diversas familias entre las que se encuentran citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, factores angiogenicos, factores neurotróficos, proteasas, receptores solubles y proteínas solubles para la adhesión celular. El procedimiento consiste en primer lugar con la preparación de la muestra para fijar los grupos amino de las proteínas seguido de un paso de biotilación.

Posteriormente, las proteínas biotiladas se adicionaron a los microarreglos y las membranas se incubaron con un conjugado de estreptavidina. Finalmente, se adicionó un sustrato para generar una señal quimio luminiscente que fué detectada en un foto documentador. Las imágenes se transfirieron a un analizador de imágenes (ImageJ) originando datos numéricos en relación a la densidad óptica del pozo analizado correspondiente a cada una de las proteínas.





**Figura 1. Representación grafica de la metodología seguida en el procesamiento de los factores solubles obtenidos de las células troncales del epitelio olfatorio.. Imagen obtenida del manual de procedimiento del L-series Human Antibody Array 507 de RayBiotech Incorporation.**

Finalmente, los resultados fueron analizados, procesando la información visual obtenida por el ImageJ de manera individual, realizando los cálculos numéricos de las densidades ópticas obtenidas de igual forma por el programa de procesamiento que se utilizó (40).

El procedimiento para la obtención de las células de los pacientes con diagnóstico de TLP se realizó tomando una primera muestra de células troncales neurales del epitelio olfatorio. Una vez que se logró obtener la muestra biológica entonces se procedió a iniciar las sesiones de EMTr a 5 Hz con un total de 15 sesiones por paciente. La EMTr se inició después de haber determinado el umbral motor. Para el grupo dos (control) también se realizó una primer toma de células troncales, una vez que confirmamos que la obtención de la muestra biológica fue exitosa, entonces se comenzó a contar el tiempo transcurrido con psicofármacos únicamente, considerando las tres semanas que tardaría el grupo 1 en completar las 15 sesiones de EMTr.

La aplicación de las sesiones de EMTr propuesta se llevó a cabo en el área de estimulación magnética transcraneal a cargo del doctor Jorge Julio González Olvera, bajo la supervisión de personal asignado a dicha área. Una vez terminadas las sesiones de estimulación (grupo 1) o después de que transcurrieron tres semanas con farmacoterapia (grupo 2), se tomó la segunda muestra del epitelio olfatorio realizando

nuevamente el procedimiento necesario para la preparación de las células en el laboratorio de Neurogénesis a cargo del doctor Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez.

#### **Proceso de obtención y procesamiento de la muestra de mucosa olfatoria.**

Inicialmente al participante se le realizara un lavado nasal con solución isotónica, procediendo a la limpieza personal de las fosas nasales con papel desechable. Posteriormente, con el objetivo de la obtención de las células, se realizara un cepillado del área turbinada nasal.

Las células obtenidas en el cepillo se colocaran en una solución amortiguadora de fosfatos. La preparación se centrifugara a baja velocidad (3000xg) por 5 minutos. Las células obtenidas serán suspendidas en un medio suplementado con: 2% de suplemento B27, antibióticos, factores de crecimiento (EGF y FGF, 20 ng/ml) siendo cultivadas en cajas de plástico.

Al alcanzar una confluencia del 75%, lo que toma un estimado de 2 semanas, las células serán desprendidas del medio con tripsina 0.025% y EDTA, transfiriéndose en una botella de cultivo.

Una vez culminado dicho proceso las células serán colocadas en cajas de plástico y 48 hrs después se colectara el medio de cultivo, con los factores solubles para su análisis con el chip de microarreglo (L-507)

A todos los participantes antes y después de las intervenciones, según estuvieran distribuidos en los grupos, se les aplicaron las escalas Hamilton depresión, Hamilton de ansiedad, "Borderline Evaluation of Severity over Time" (BEST) y la escala de Impresión Clínica Global para TLP (ICG-TLP), con el objetivo secundario de analizar clínicamente la respuesta a ambas opciones terapéuticas.

#### **Escalas Clinimétricas.**

##### **Escala Hamilton de Depresión.**

La escala de Hamilton para depresión (HAM-D por sus siglas en inglés) es un instrumento clinimétrico ampliamente utilizado, estandarizado de aplicación por el clínico, el cual tiene el objetivo de evaluar la gravedad de la depresión en pacientes que presentan dicho diagnóstico. Fue escrito hacia finales de 1950 por Max Hamilton, en la Universidad de Leeds.

Cuenta de un total de 21 ítems, de los cuales los primeros 17 son cuantificados para el puntaje total. Con una puntuación que va de 0 a 4 por ítem. Los puntos de corte son: 0-7 normal, 8-16 sugerente de depresión leve, 17-23 moderado y 24 en adelante como grave.

En los estudios realizados dicho instrumento ha demostrado una buena consistencia interna y confiabilidad inter evaluador (77)

### **Escala de Hamilton para Ansiedad (HAM-A)**

Esta escala se desarrolló en 1959, siendo una de las primeras existentes para la evaluación de síntomas de ansiedad y su gravedad. Dicha escala se continua utilizando hasta la fecha actual, siendo en muchos de los casos el Gold standard con la que se comparan las escalas desarrolladas recientemente.

Es una escala basada en un cuestionario realizado por el clínico. Se compone de 15 elementos sintomatológicamente basados, tanto desde el punto de vista psicológico como somático, comprendiendo: humor ansioso, tensión (con incremento en respuesta de sobresalto, fatigabilidad) miedos (incluidos a la oscuridad, extraños, etc.) insomnio, alteraciones cognitivas (problemas de memoria o concentración), animo depresivo, síntomas somáticos (dolor, rigidez, bruxismo), datos sensoperceptuales (tinnitus, visión borrosa), síntomas cardiovasculares (taquicardia, palpitaciones), síntomas respiratorios (opresión torácica o disnea), síntomas gastrointestinales (síndrome de colon irritable), síntomas genitourinarios (tenesmo, pujo, disminución en la libido), síntomas autonómicos (boca seca, cefaleas) y por último la conducta observada por el clínico en la entrevista (inquietud, perseverancia, etc.)

Cada uno de los ítems antes comentados se califica de 0 (ausente) a 4 (intenso). Una calificación de >17 se considera como ansiedad leve, 25-30 se considera de moderada a grave. (78)

Maier et al, evaluaron la validez y confiabilidad de la escala demostrando que tanto la escala global como su subescalas tiene suficiente validez y confiabilidad, además de una razonable confiabilidad interevaluador y confiabilidad temporal (79).

### **Borderline Evaluation of Severity over Time (BEST).**

Esta escala fue desarrollo como uno de los objetivos del System Training ofr Emotional Predictability and Problem Solving (STEPPS), el cual es un programa que surgió a mediados de la década de los 90's, como unas estrategias para el manejo ambulatorio de los pacientes con TLP. La escala se compone de 15 ítems, organizados en tres subescalas. Todos los ítems están distribuidos en una escala de tipo Likert. Los

primeros 8 ítems corresponden a la primer subescala (A) correspondiente a pensamientos y sentimientos; dentro de esta subescala se evalúa la reactividad emocional, alteraciones en la identidad, relaciones inestables, paranoia, sensación de vacío y pensamientos suicidas. Los siguientes 4 ítems comprenden la subescala B, sobre comportamientos negativos, como por ejemplo las autolesiones; los ítems en esta escala son calificados de 1 (nada/muy poco) a 5 (extremo). Los últimos 3 ítems corresponden a la subescala C, sobre conductas positivas, estos son calificados de 5 (casi siempre) a 1 (casi nunca). Las subescalas A y B fueron tomadas de los criterios diagnóstico del DSM-IV (80).

Para obtener la calificación total se suman los valores independientes de las subescalas A y B, sustrayendo el puntaje de la subescala C. Se agrega un factor de corrección de 15 al puntaje final que va desde 12 (mejor) hasta 72 (peor).

Los estudios han probado que dicha escala tiene una buena consistencia temporal, excelente consistencia interna, excelente validez de discriminación. Además de que las calificaciones obtenidas por el BEST fueron los indicadores más robustos de la gravedad del TLP. (78)

### **Escala de Impresión Clínica Global para TLP (ICG-TLP)**

Este instrumento es una adaptación de la Escala de impresión Clínica Global, la cual está diseñada para evaluar la severidad, sobre todo después de una intervención en diferentes padecimientos, la cual ha sido adecuada para los pacientes con TLP. Cuenta con 10 ítems en los que se consideran 9 dominios psicopatológicos del TLP además de un puntaje global.

En la escala se consideran dos formatos, el primero para evaluar la severidad y el segundo para evaluar la mejoría posterior a la intervención.

En los estudios dicha escala demostró una adecuada validez y confiabilidad con una alpha de Cronbach de 0.85 y 0.89 respectivamente, además de una sensibilidad al cambio; logrando explicar hasta el 67% de la varianza del fenómeno clínico (81)

### **Análisis estadístico.**

Se llevó a cabo un análisis estadístico por estadística descriptiva y aplicando un ANOVA de medidas repetidas utilizando el programa SPSS. Además se realizaron pruebas de ANOVA con la fórmula de Greenhouse-Geisser para poder determinar la magnitud del efecto de la variable analizada reportada como Eta al cuadrado parcial ( $\eta^2_p$ ). También, se realizó un análisis comparativo de la expresión proteica reportada



en los microarreglos por cada paciente previo a la intervención y posterior a esta. La significancia estadística se consideró con un valor de  $p \leq 0.05$ .

### **Aspectos éticos, financieros y de bioseguridad.**

Todos los participantes incluidos en este estudio firmaron una carta de consentimiento, en la que se les explicaron los posibles riesgos asociados a la intervenciones, los beneficios y objetivos de la investigación (documentos presentes en el apartado de anexos).

La toma de la muestra, el manejo, resguardo y procesamiento de las células se llevó a cabo en el laboratorio de Neurogénesis, que cuenta con el equipo necesario y personal capacitado. Este laboratorio cuenta con el apoyo institucional para la adquisición de los insumos requeridos para el desarrollo del proyecto. Los insumos utilizados para el análisis por microarreglos se adquirieron a través del financiamiento otorgado (262307) al doctor Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez por el fondo sectorial de Investigación en salud y seguridad social (FONSEC SALUD) del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT).

### **Resultados.**

Los resultados del presente trabajo derivan de 13 participantes del grupo I a los que se les aplicó la EMTr en la corteza prefrontal dorsolateral izquierda a 5 Hz. Este primer grupo se comparó con la muestra de cinco participantes control, quienes sólo fueron manejados con psicofármacos. Del total de pacientes se contó con únicamente un participante varón, siendo el resto de la población de estudio femenina.

#### **Efecto del tratamiento e intervención reflejado en las escalas clinimétricas.**

Los pacientes del grupo I, fueron manejados con medicamentos psicofarmacológicos (Tabla 1) más la aplicación de la EMTr en la corteza prefrontal dorsolateral izquierda a 5 Hz, con un total de 15 sesiones repartidas a lo largo de 3 semanas (5 sesiones por semana), mientras que los pacientes controles (grupo 2) solo fueron manejados con psicofármacos. (tabla 1)

| Grupo | Paciente | Tratamiento farmacológico   |
|-------|----------|---|
| 1     | 1        | Fluoxetina 40 mg/día, Metformina 1700 mg/día                        |
| 1     | 2        | Fluoxetina 60 mg/día  |
| 1     | 3        | Escitalopram 20 mg/día  |
| 1     | 4        | Citalopram 30 mg/día, Topiramato 100 mg/día, Mirtazapina 7.5 mg/día |
| 1     | 5        | Escitalopram 10 mg/día, Pregabalina 150 mg/día                      |
| 1     | 6        | Citalopram 30 mg/día  |
| 1     | 7        | Fluoxetina 60 mg/día  |
| 1     | 8        | Fluoxetina 50 mg/día  |
| 1     | 9        | Sertralina 50 mg/día, Topiramato 12.5 mg/día                        |
| 1     | 10       | Citalopram 30 mg/día, Quetiapina 50 mg/día, Melatonina 3 mg/día     |
| 1     | 11       | Citalopram 30 mg/día, Topiramato 50 mg/día, Quetiapina 12.5 mg/día  |
| 1     | 12       | Fluoxetina 20 mg/día  |
| 1     | 13       | Fluoxetina 20 mg/día  |
| 2     | 1        | Sertralina 100 mg/día   |
| 2     | 2        | Fluoxetina 50 mg/día, Hidroxicina 10 mg/día                         |
| 2     | 3        | Citalopram 30 mg/día, Pregabalina 150 mg/día                        |
| 2     | 4        | Fluoxetina 30 mg/día  |
| 2     | 5        | Fluoxetina 40 mg/día, quetiapina 25 mg/día                          |

**Tabla 1. Manejo farmacológico de los participantes.**

#### **Borderline Evaluation of Severity over Time (BEST).**

Se realizó el análisis para cada uno de las áreas de la escala BEST total, pensamientos y sentimientos, conductas negativas y conductas positivas. De igual forma realizando las comparaciones tomando en cuenta como variables la diferencia entre las mediciones en el tiempo y el grupo (con o sin la EMTr).

Para el análisis de la puntuación total del BEST, el resultado del grupo 1 previo a la intervención fue de 48.8 puntos. Este puntaje disminuyó a 25.92 posterior a la EMTr lo que indica que la EMTr disminuyó en un 33.88% el puntaje total del BEST. En cambio, el grupo 2 tuvo un valor inicial de 39.20 y un valor final de 30.4, lo que indica que la intervención farmacológica logra una disminución del 22.44% en el puntaje total del BEST. El valor correspondiente a la significancia calculada para la diferencia entre grupos mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.009$ ), mientras que la  $\eta^2_p$  para dicha área, considerando la interacción entre los grupos fue de 0.356.

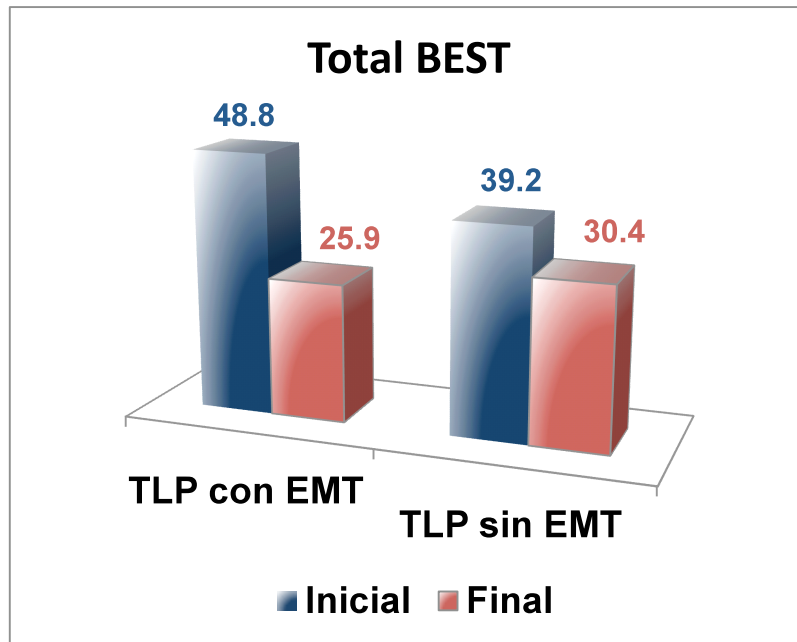


Figura 2. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del puntaje total del BEST.

En relación a los **pensamientos y sentimientos evaluados en el BEST** el grupo 1, previo a la intervención, tuvo un valor de 30.38. Sin embargo, después de la EMTr dicho puntaje disminuyó a 17.38, lo que indica una disminución del 42.79% en el puntaje para pensamientos y sentimientos en el BEST. En cambio, el grupo 2 presentó un puntaje inicial de 25.60, mientras que la intervención farmacológica logró disminuir de manera discreta el puntaje inicial alcanzando un valor de 20.60, que indica una disminución del 19.53%. El valor correspondiente a la significancia calculada para la diferencia entre grupos fue estadísticamente significativa ( $p=0.020$ ) y la  $\eta^2_p$  para dicha área, considerando la interacción entre los grupos fue de 0.293

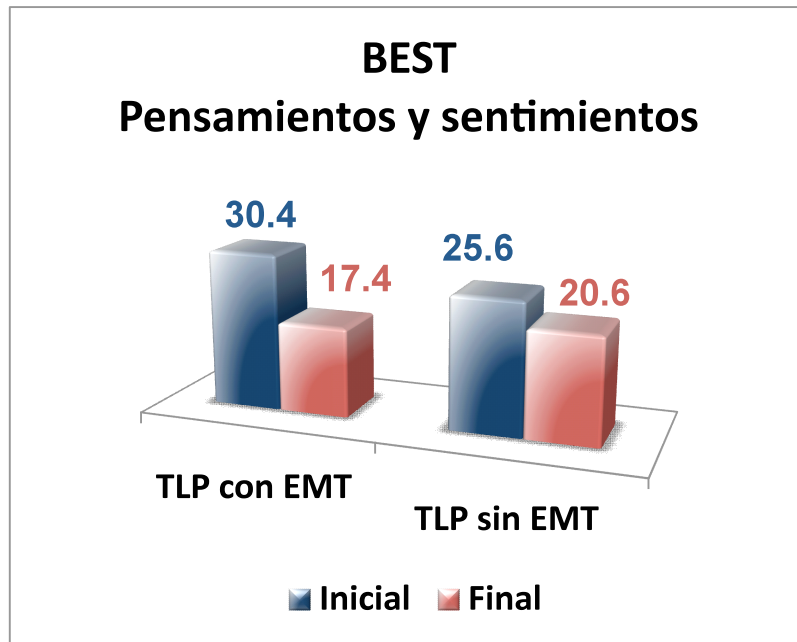


Figura 3. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: Pensamientos y sentimientos de la escala BEST.

Para las **conductas negativas** los resultados mostraron que en el grupo I el valor previo a la intervención fue de 12.69, valor que disminuyó a 6.46 después de la EMTr en un 49.09%. Mientras que el grupo control presentó un valor de 9.40 previo al tratamiento farmacológico y un valor posterior de 7.40, lo que indica que la intervención farmacológica disminuye en un 21.27%. Sin embargo, el análisis de la significancia solo mostró una tendencia, sin resultar significancia estadística al realizar la comparación entre los grupos ( $p=0.073$ ). La  $\eta^2p$ , considerando la interacción entre los grupos fue de 0.187

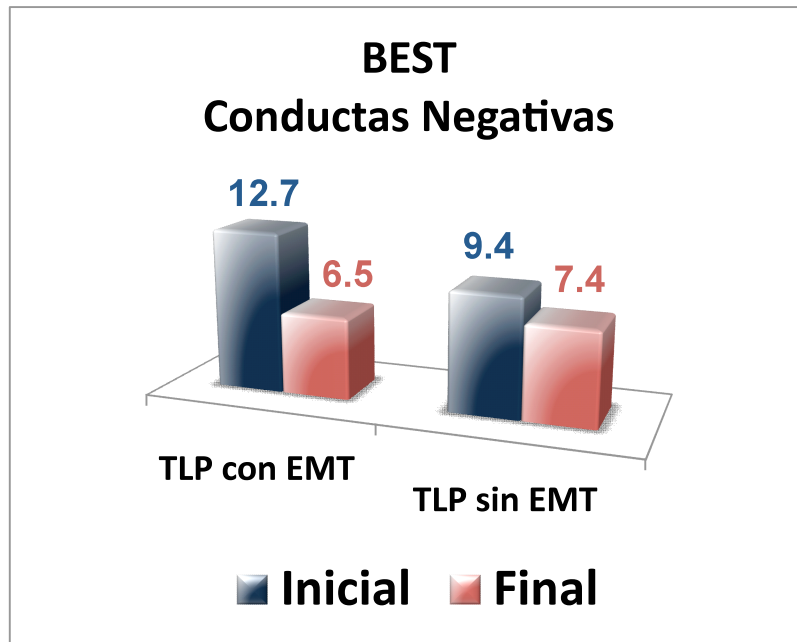


Figura 4. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: Conductas negativas de la escala BEST.

Para las conductas positivas los resultados fueron:

En el grupo I el valor previo a la intervención fue de 9.23, siendo el valor en la evaluación posterior de 12.15. El grupo control presentó un valor previo de 10.8 y un valor posterior de 12. En el análisis de la significancia no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p=0.208$ ). La  $\eta^2_p$ , en la interacción entre los grupos fue de 0.097

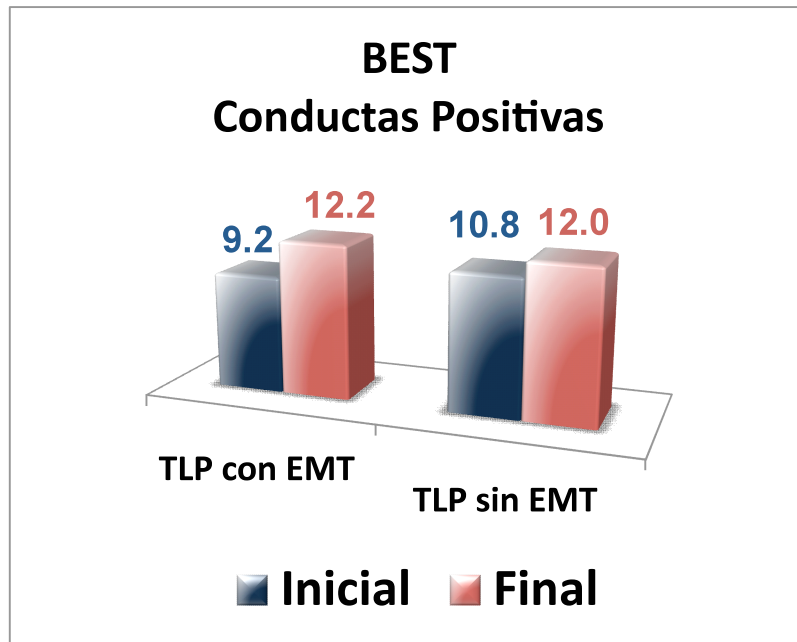
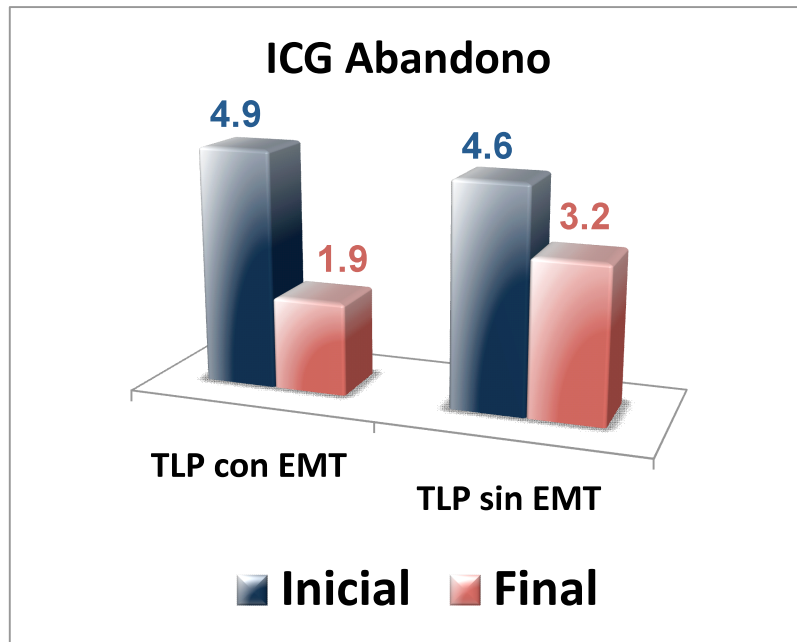


Figura 5. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: Conductas positivas de la escala BEST.

#### **Impresión Clínica Global (ICG).**

Se llevó a cabo el análisis de cada uno de los ítems considerados en dicha clinimetría, comparando los valores entre ambos grupos.

En relación al ítem de abandono: El grupo I tuvo un resultado previo de 4.92, con un valor posterior de 1.92. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.60, con un valor posterior de 3.20. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p = 0.023$ ). La  $\eta^2_{pi}$  fue de 0.285, para la interacción entre grupos.



**Figura 6. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: Conductas negativas de la escala BEST.**

En relación al ítem de impulsividad, el grupo I tuvo un resultado previo de 5.3, con un valor posterior de 1.0. El grupo control tuvo un resultado previo de 5.2, con un valor posterior de 3.2. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p = 0.000$ ). La  $\eta^2p$  para dicha área, considerando la interacción entre los grupos fue de 0.641, siendo el valor más alto entre los ítems, en dicha cuestión.

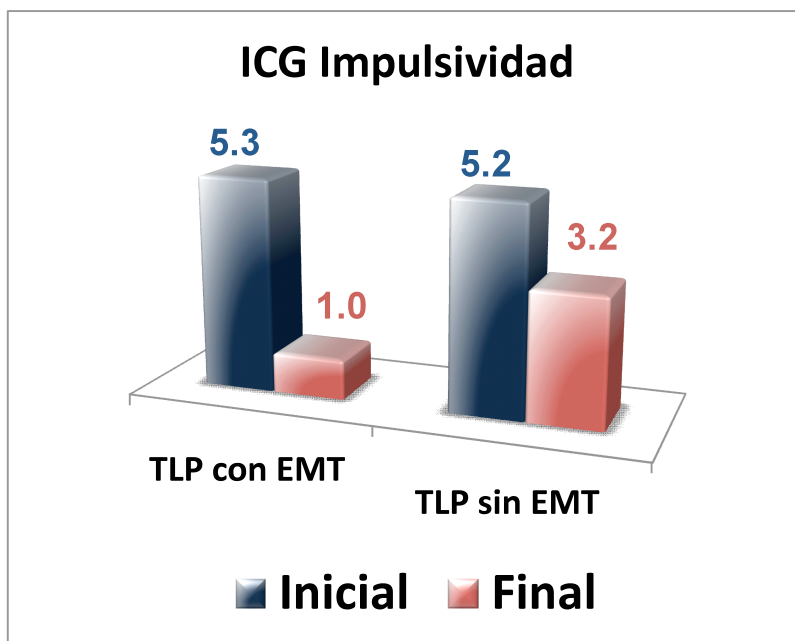
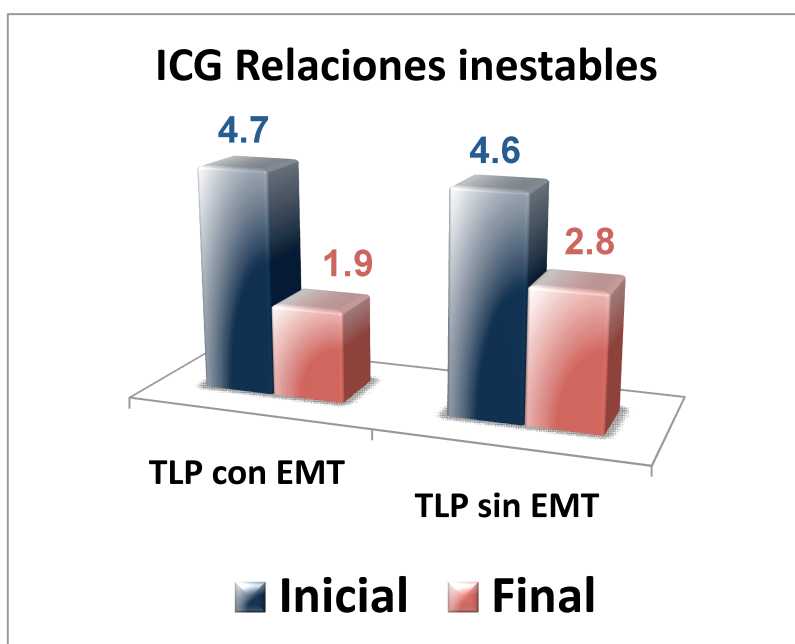


Figura 7. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: impulsividad de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).

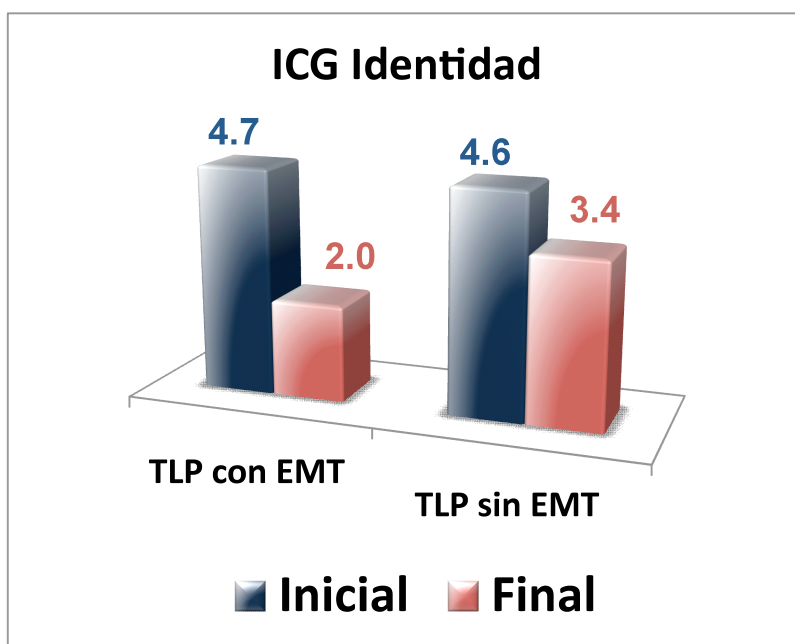
En relación al ítem de relaciones inestables, el grupo I tuvo un resultado previo de 4.7, con un valor posterior de 1.9. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.6, con un valor posterior de 2.8. El análisis de la significancia no reveló diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p = .191$ ). La  $\eta^2p$  fue de 0.104.





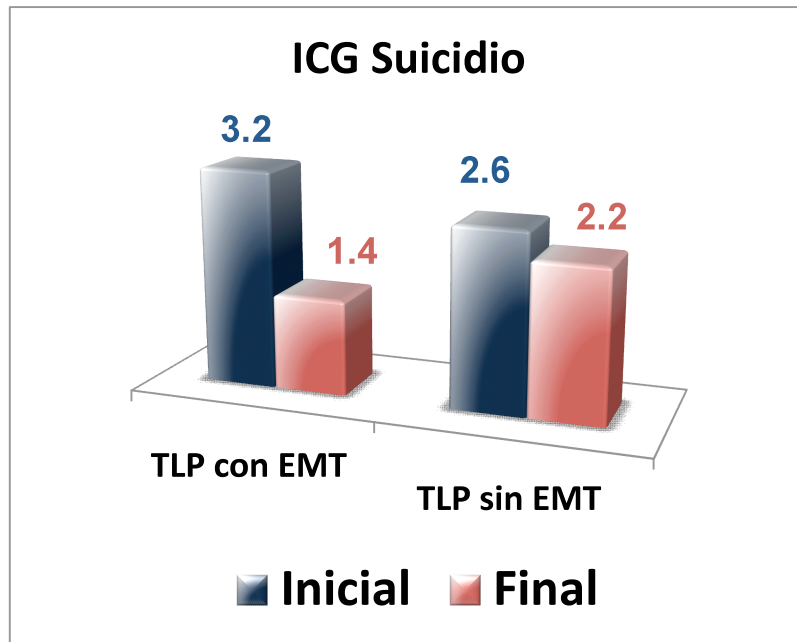
**Figura 8. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: Relaciones inestables de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

En relación al ítem de identidad el grupo I tuvo un resultado previo de 4.7, con un valor posterior de 2.0. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.6, con un valor posterior de 3.4. El análisis de la significancia encontró únicamente una tendencia asociada a la EMTr ( $p = .053$ ). La  $\eta^2p$  para la interacción entre los grupos fue de 0.214.



**Figura 9. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: identidad de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

En relación al ítem de suicidio, el grupo I tuvo un resultado previo de 3.2, con un valor posterior de 1.4. El grupo control tuvo un resultado previo de 2.6, con un valor posterior de 2.2. El análisis de la significancia no reveló diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p = .109$ ). La  $\eta^2p$  fue de 0.153.



**Figura 10. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: suicidio de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

En relación al ítem de inestabilidad afectiva, el grupo I tuvo un resultado previo de 5.0, con un valor posterior de 1.3. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.6, con un valor posterior de 3.0. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p=0.001$ ). La  $\eta^2p$  para dicha área, fue de 0.497 al comparar los grupos, la segunda en orden descendente para la magnitud del efecto.

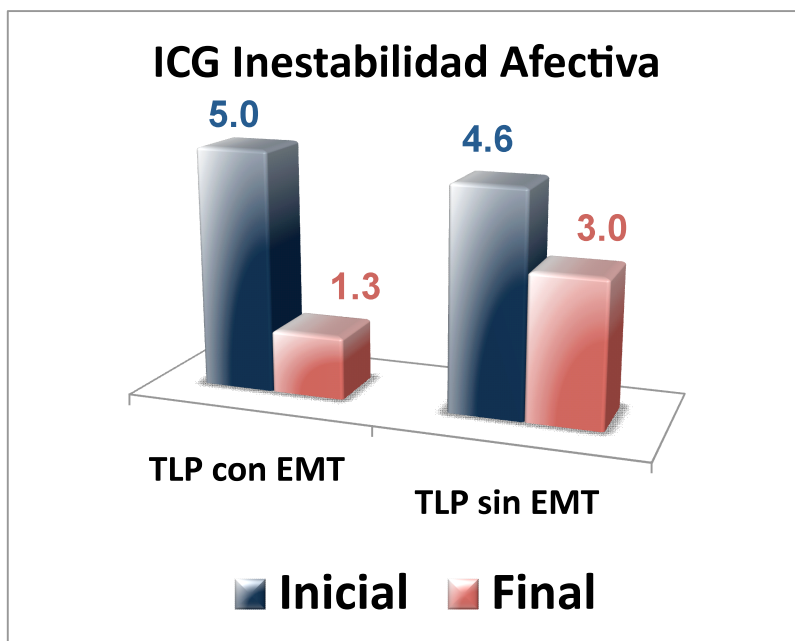
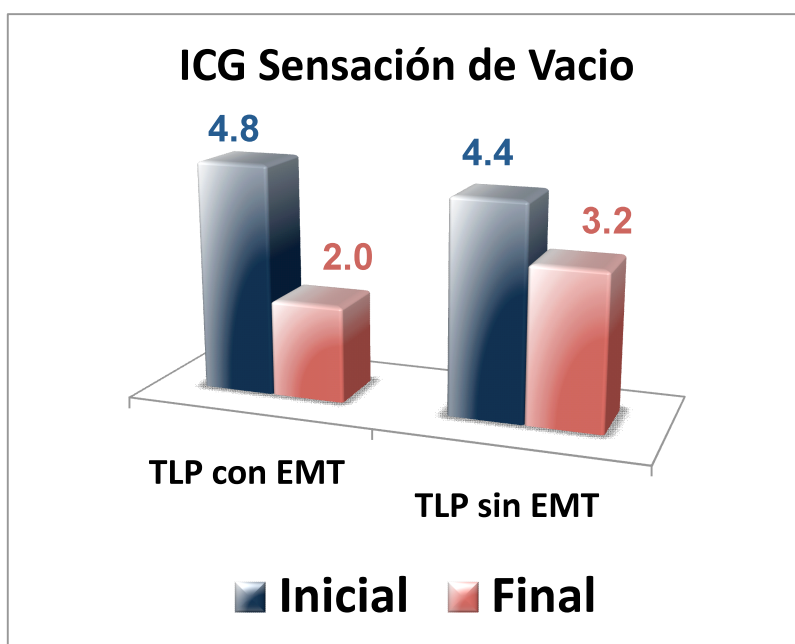


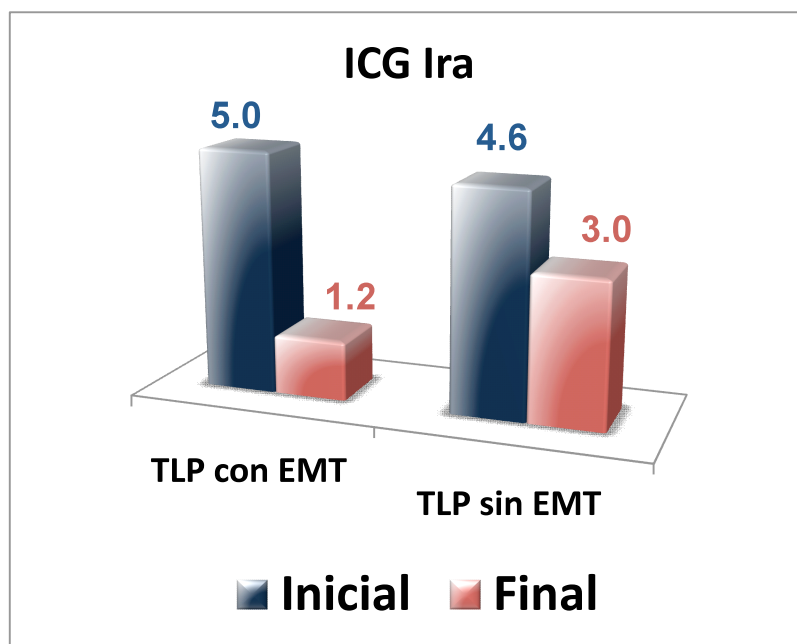
Figura 11. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: inestabilidad afectiva de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).

En relación al ítem de sensación de vacío, el grupo 1 tuvo un resultado previo de 4.8, con un valor posterior de 2.0. El grupo 2 tuvo un resultado previo de 4.4, con un valor posterior de 3.2. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p = .030$ ). La  $\eta^2p$  fue de 0.262



**Figura 12. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: sensación de vacío de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

En relación al ítem de ira, el grupo I tuvo un resultado previo de 5.0, con un valor posterior de 1.23. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.60, con un valor posterior de 3.0. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p=0.008$ ). La  $\eta^2p$  para dicha área, considerando la interacción entre los grupos fue de 0.365, la tercera en importancia de los valores de la magnitud.



**Figura 13. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: ira de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

En relación al ítem de ideación paranoide, el grupo I tuvo un resultado previo de 4.5, con un valor posterior de 2.0. El grupo control tuvo un resultado previo de 4.0, con un valor posterior de 3.4. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p=0.011$ ). La  $\eta^2p$  fue de 0.339.

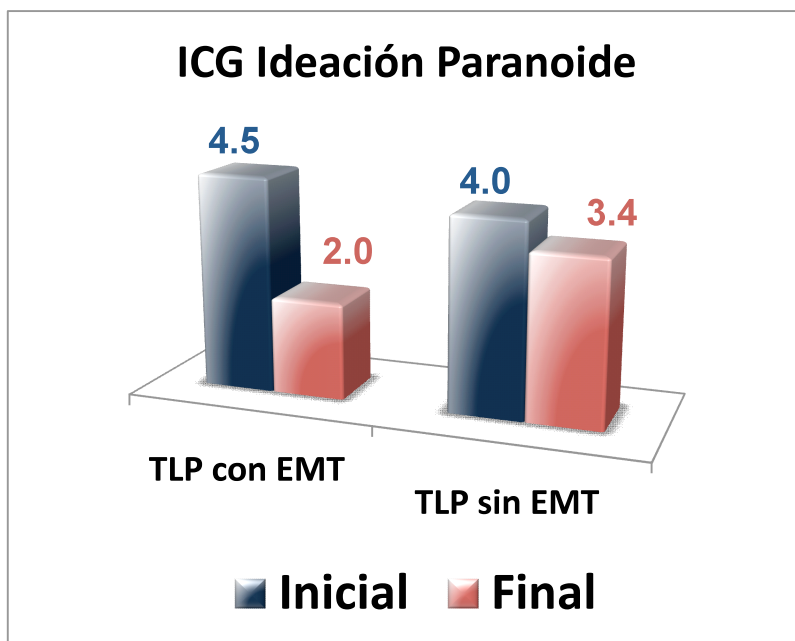
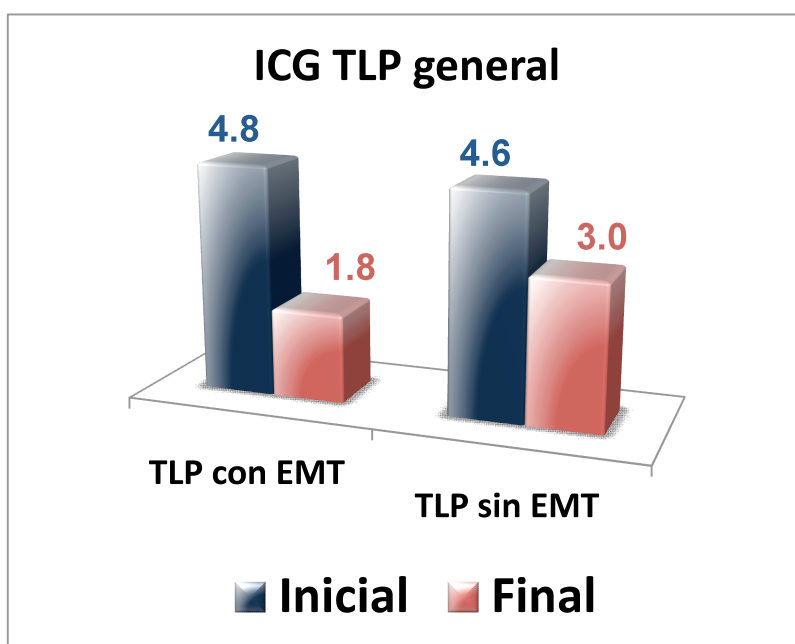


Figura 14. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: ideación paranoide de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).

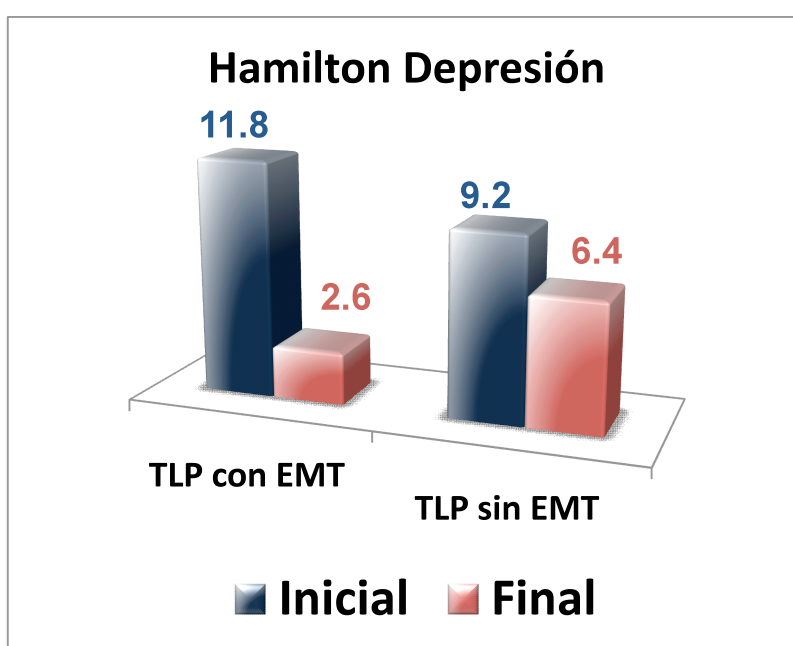
En relación a la valoración general del trastorno límite de personalidad, el grupo 1 tuvo un resultado previo de 4.8, con un valor posterior de 1.8. El grupo 2 tuvo un resultado previo de 4.6, con un valor posterior de 3.0. El análisis de la significancia si encontró diferencias estadísticamente significativas asociadas a la EMTr ( $p=0.017$ ). La  $\eta^2_p$  fue de 0.309.



**Figura 15. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo del ítem: TLP general de la escala de Impresión Clínica Global (ICG).**

### **Hamilton de depresión**

El grupo I tuvo un resultado previo de 11.8, con un valor posterior de 2.6. El grupo control tuvo un resultado previo de 9.2, con un valor posterior de 6.4. El análisis de la significancia resultó con una tendencia, pero sin demostrar diferencia estadísticamente significativa entre grupos ( $p=0.65$ ). La  $\eta^2p$  fue de 0.197 en la interacción entre los grupos.



**Figura 16. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo de la escala Hamilton de depresión.**

### **Hamilton de Ansiedad**

El grupo I tuvo un resultado previo de 10.6, con un valor posterior de 2.0. El grupo control tuvo un resultado previo de 8.4, con un valor posterior de 4.2. El análisis de la significancia resultó con una tendencia, pero sin demostrar diferencia estadísticamente significativa entre grupos ( $p=0.54$ ). La  $\eta^2p$ , considerando la interacción entre los grupos, fue de 0.213.

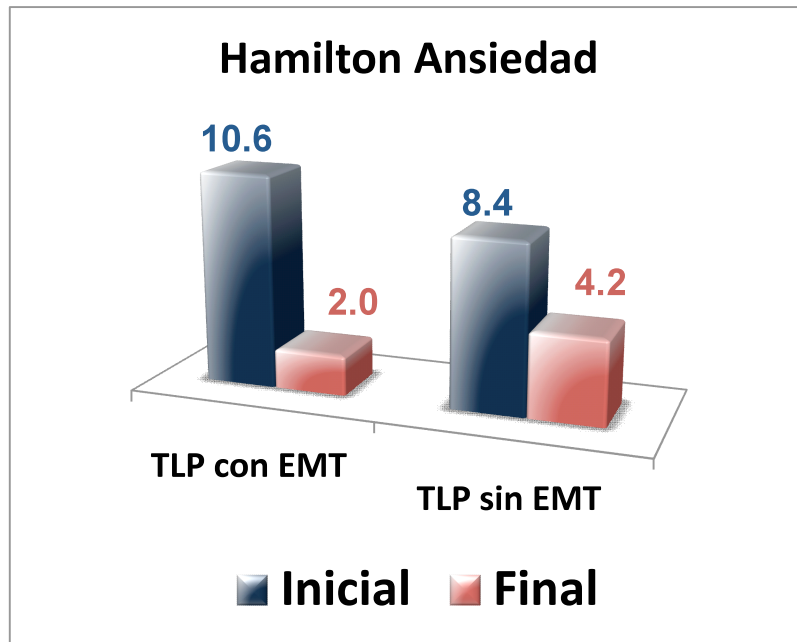
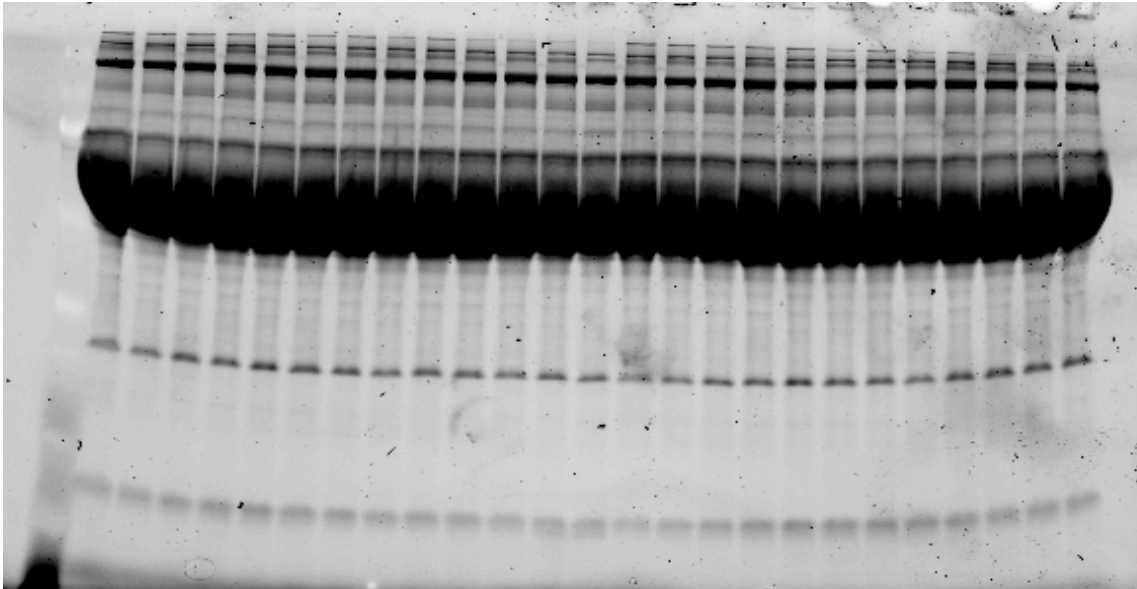


Figura 17. Gráfica con resultados de las diferencias por grupo de la escala Hamilton de ansiedad.

**Microarreglos y procesamiento de las proteínas de secreción de las células del epitelio olfatorio: Abordaje cualitativo.**

Para el análisis de las proteínas secretadas por las células troncales del epitelio olfatorio de los participantes antes y después de la intervención farmacológica sola o más la EMTr, primero que se realizó una separación de las proteínas por electroforesis con la intención de verificar la presencia de las proteínas en cada una de las muestras obtenidas. La separación electroforética de las proteínas reveló la presencia de proteínas de secreción de diversos tamaños moleculares en todos los casos.

T T T T T T T T T C T T T T T T T T T  
L L L L L L L L L T L L L L L L L L L L L L L

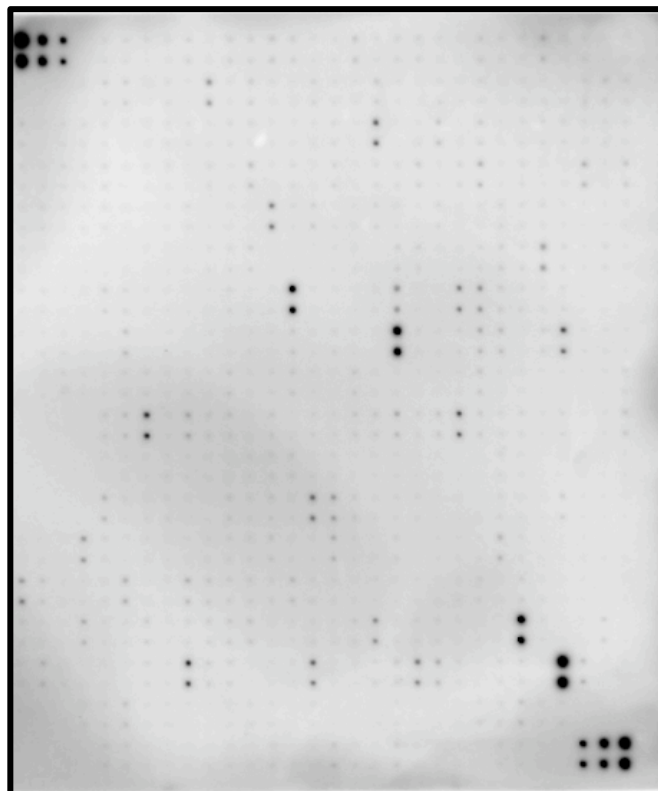


**Figura 18. Separación de las proteínas secretadas por las células troncales del epitelio olfatorio de participantes con diagnóstico de Trastorno Límite de la Personalidad (TLP).** De izquierda a derecha aparecen las muestras por duplicado de tres participantes del grupo I (TLP2, 8 y 9), seguido de las muestras de tres participantes del grupo 2 (TLP12, 13 y 21) antes y después de la intervención. Además, en la parte media del gel se incluyó una muestra del medio de cultivo utilizado para mantener a las células troncales del epitelio olfatorio.

Posteriormente, se realizó la hibridación de las proteínas secretadas por las células troncales del epitelio olfatorio en las membranas de plástico de los microarreglos de anticuerpos. Con la intención de descartar falsos positivos causados por el medio de crecimiento usado por las células, se decidió hibridar muestras del medio de crecimiento celular pero sin haber estado expuesto a las células troncales con un microarreglo de anticuerpos (Figura 19). Además, se realizaron las hibridaciones de los medios de crecimiento con los que se cultivaron las células troncales aisladas del epitelio olfatorio de los participantes con diagnóstico de TLP antes y después de la intervención (Figura 20). La comparación de las imágenes de ambos microarreglos muestran una mayor cantidad de proteínas de secreción en los medios que estuvieron en contacto con las células del epitelio olfatorio. Un comportamiento similar se puede observar en las reconstrucciones tridimensionales que muestran la altura de los picos



de cada uno de los pozos del microarreglo. Las densidades ópticas de cada una de éstas proteínas se muestran en el anexo número XX.



**Figura 19. Microarreglo hibridado con el medio de crecimiento usado para las células troncales del epitelio olfatorio.**

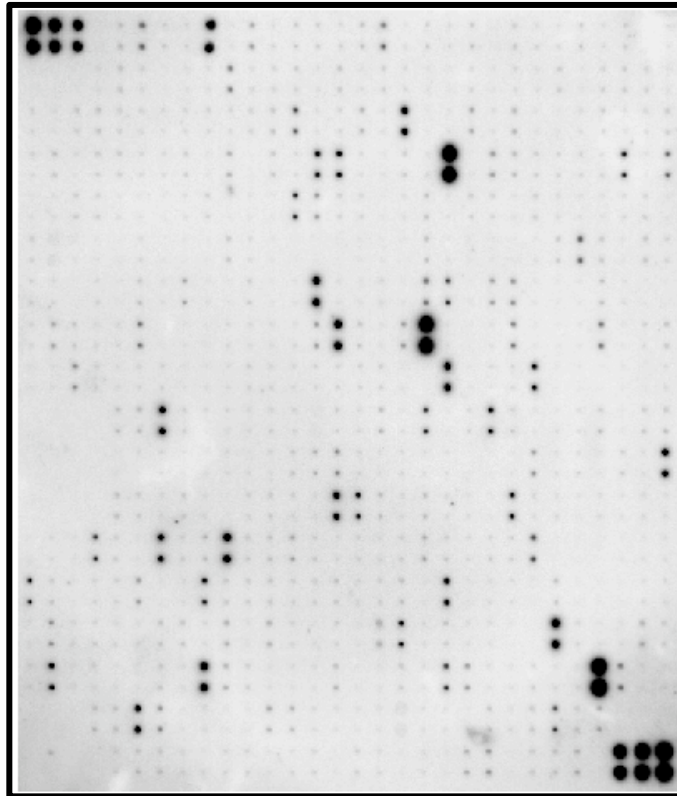
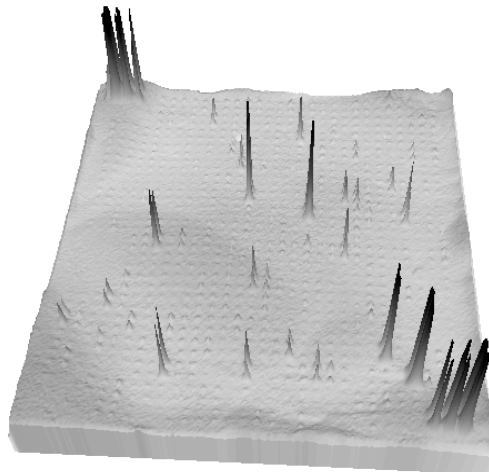
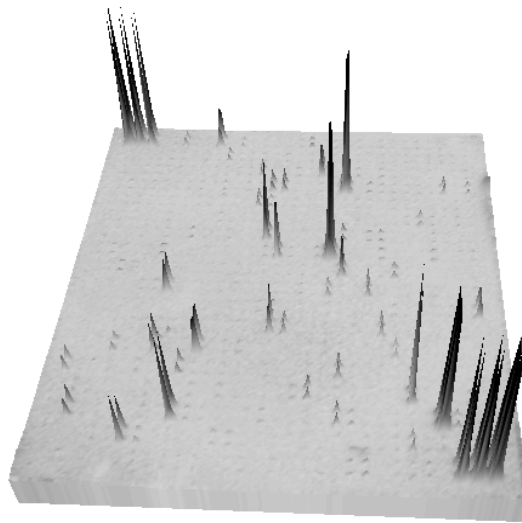


Figura 20. Microarreglo hibridado con el medio de crecimiento usado para las células troncales del epitelio olfatorio del participante TLP-2..

CTL 2SFB crop



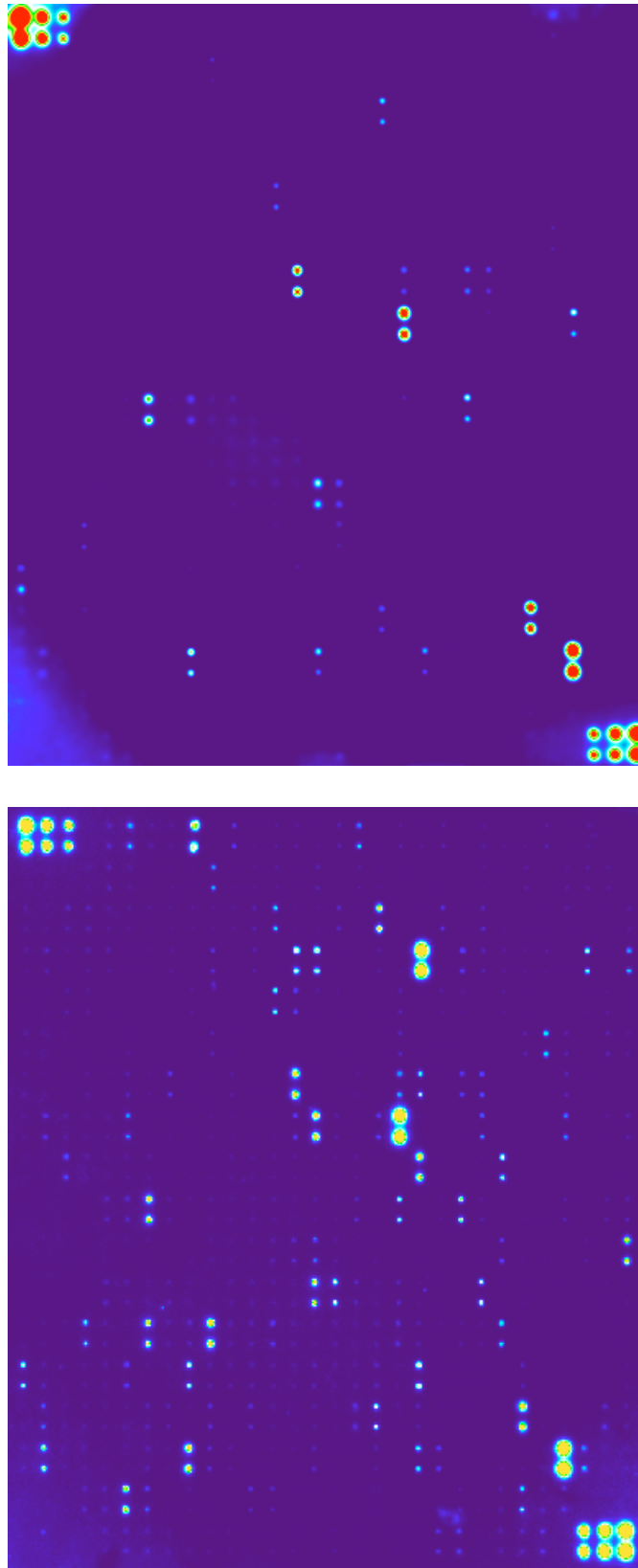
tip2Mp1 507array\_3 mejor crop-3D



**Figura 21. Representación tridimensional de los micrarreglos presentados en las figuras 19 y 20.**

En el panel superior se muestra el microrreglo hibridado con el medio de crecimiento que no estuvo en contacto con las células troncales del epitelio olfatorio. El panel inferior muestra la representación tridimensional del microrreglo del participante TLP-2..

Además, las imágenes se procesaron para obtener mapas de calor con base en la expresión de las proteínas para poder realizar el análisis e interpretación adecuada. Las imágenes representativas se muestran en la figura XX.



**Figura 22. Mapas de calor.** Proteínas contenidas en el medio de crecimiento (panel superior) o en el medio de crecimiento de las células troncales del epitelio olfatorio del participante TLP-2 (panel inferior)..

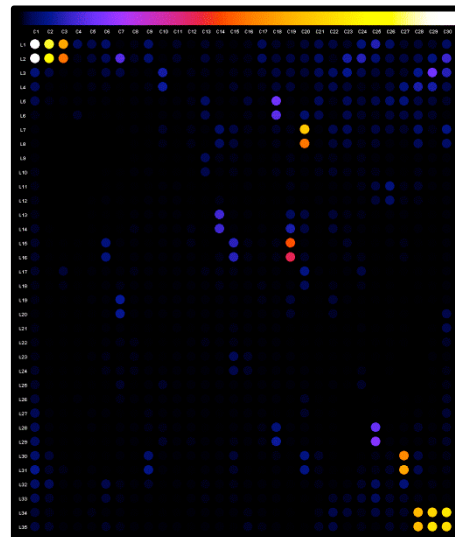
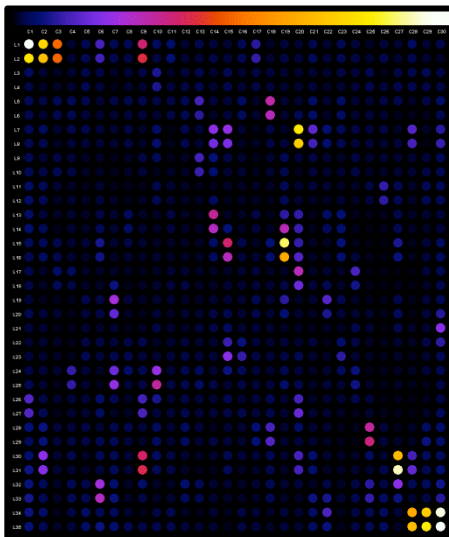
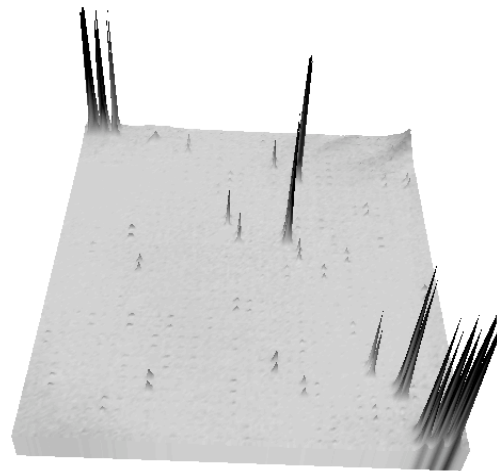
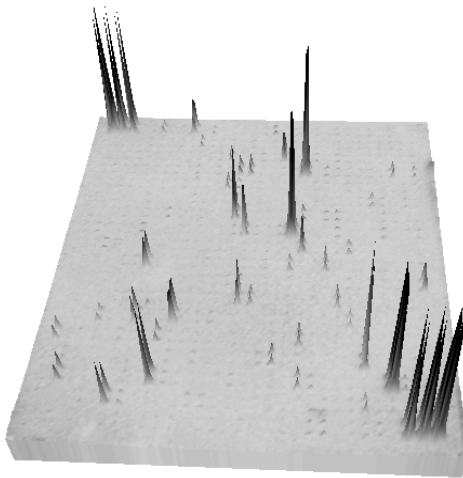
Al final de la obtención de las imágenes de los arreglos de todos los participantes se procedió a realizar tanto la reconstrucción tridimensional, como el mapa de calor de cada uno de los microarreglos que se muestran a continuación.

**GRUPO 1: Pacientes que recibieron estimulación magnética transcraneal repetitiva.**

**TLP-2 M1**

ANTES

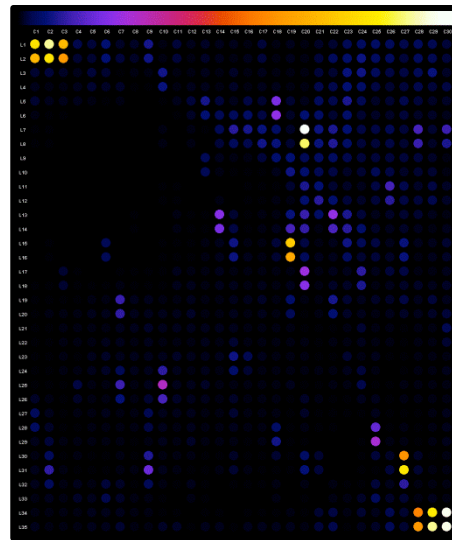
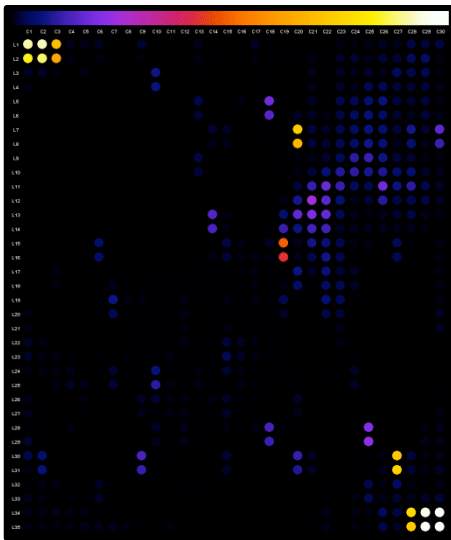
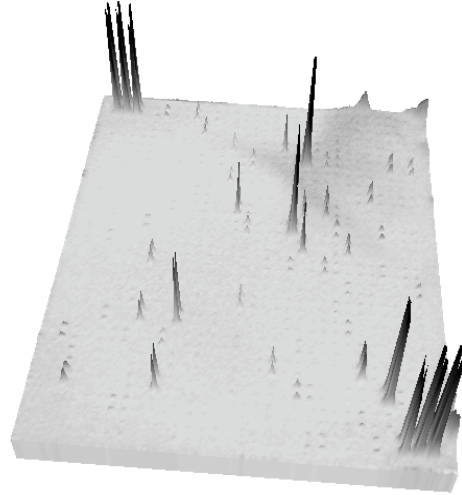
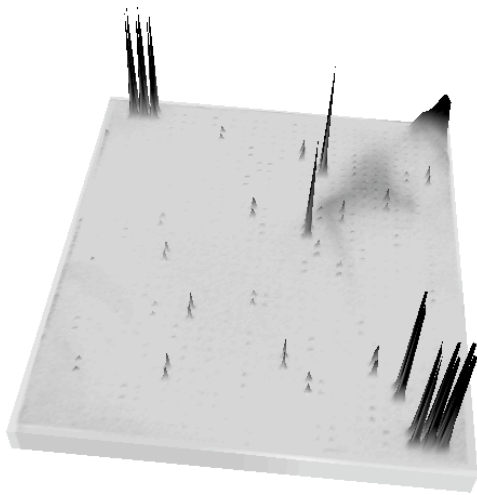
DESPUES



# TLP-8 M1

ANTES

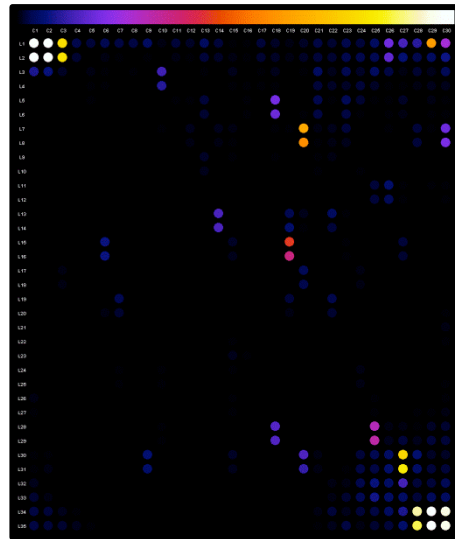
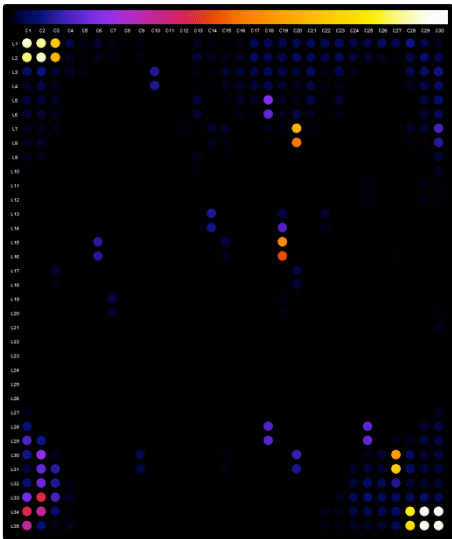
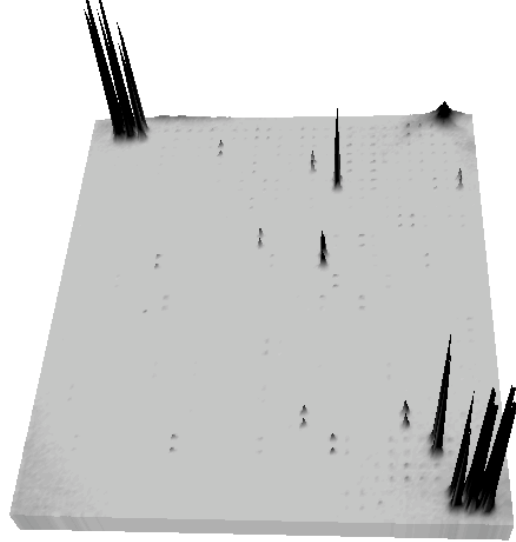
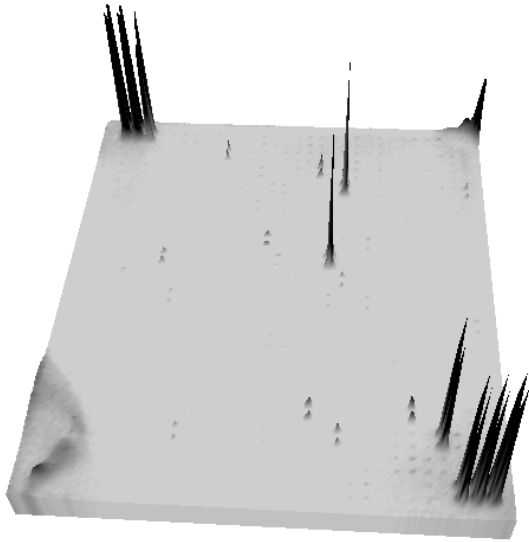
DESPUES



# TLP-9 H1

ANTES

DESPUES

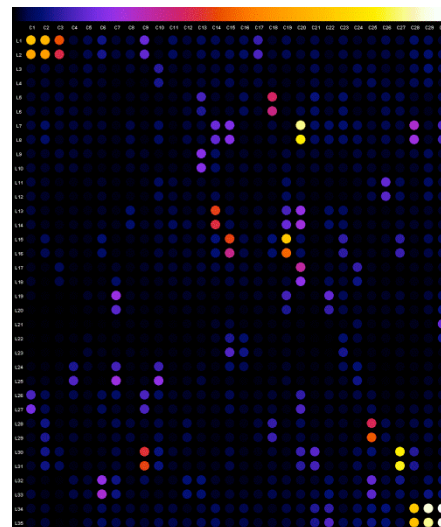
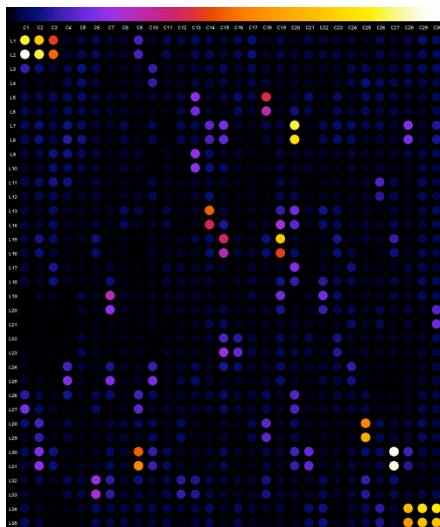
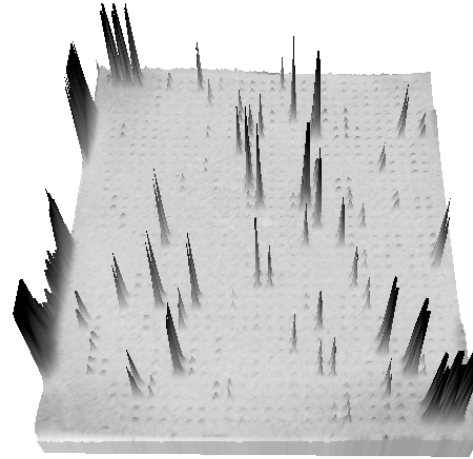
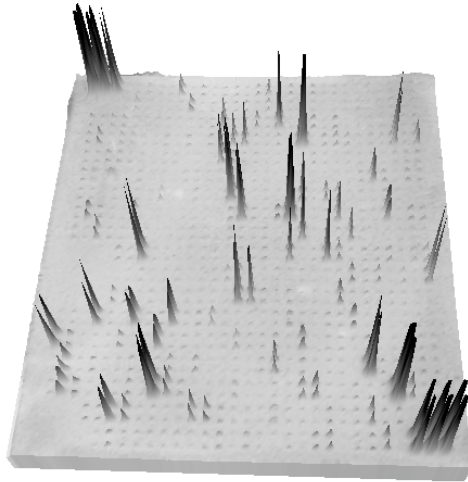


**GRUPO 2: Pacientes que recibieron únicamente psicofármacos.**

**TLP-12 M1**

ANTES

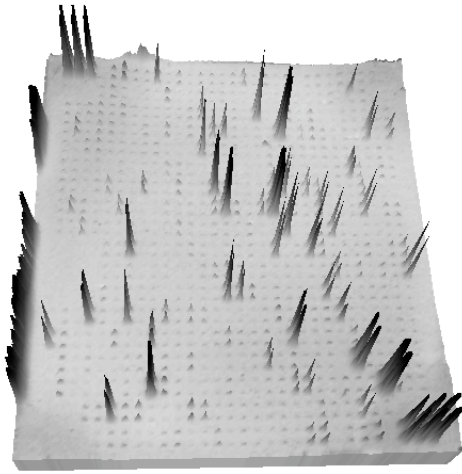
DESPUES



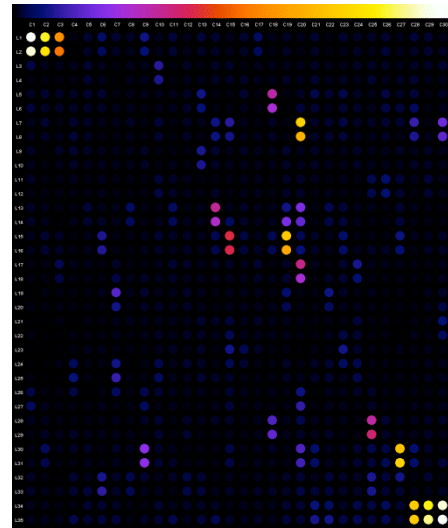
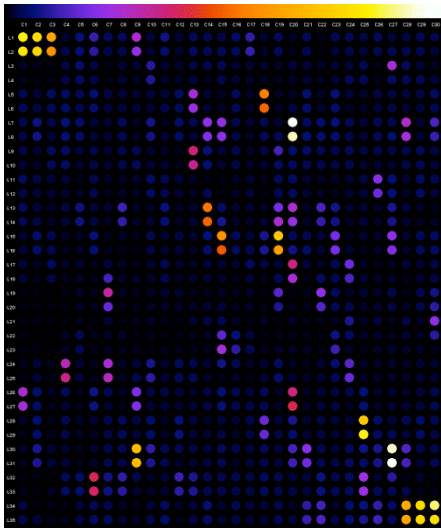
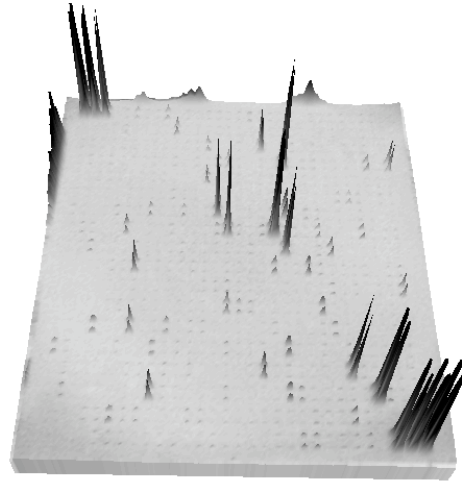


# TLP-13 M1

ANTES

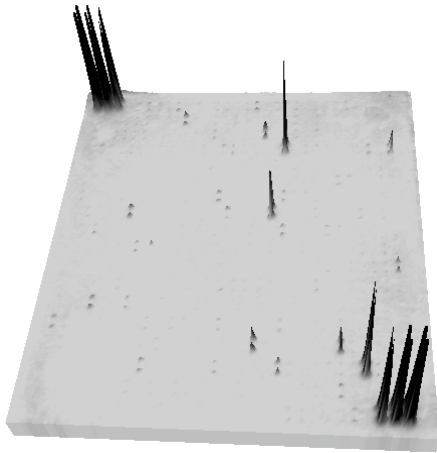


DESPUES

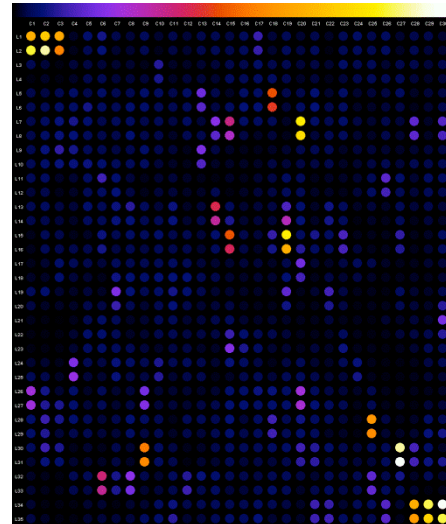
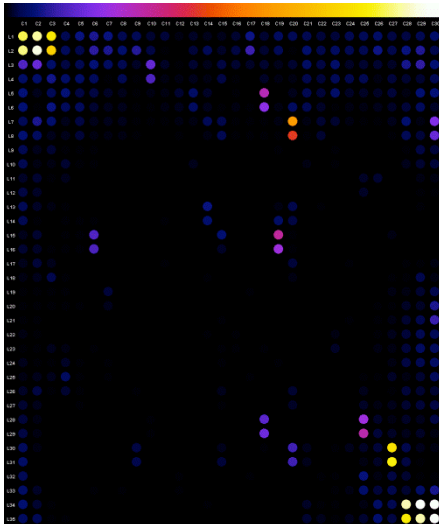
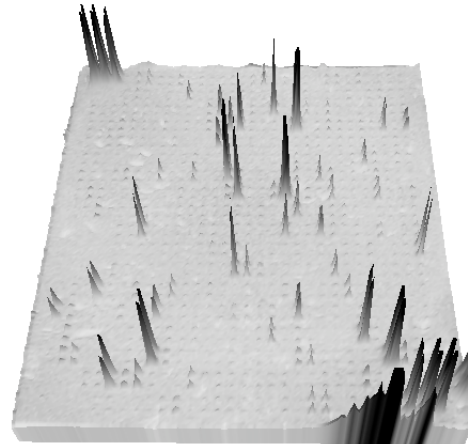


## TLP-21 M1

ANTES



DESPUES



### Microarreglos y procesamiento de las células de epitelio olfatorio

La cuantificación de la densidad correspondiente a cada proteína en los mapas de calor se realizó con el programa ImageJ , programa de análisis de imágenes libre desarrollado por el National Institute of Health. Es importante resaltar que no es posible traducir dichas unidades de densidad óptica en concentraciones de proteína.. Los valores numéricos correspondientes a cada una de las proteínas identificadas con los microarreglos L-507 se agregaron en los apartados de los anexos del presente documento.

El análisis de los microarreglos arrojó un total de 6 proteínas, en las cuales los cambios asociados a la intervención propuesta (EMTr) son más significativos, desde el

punto de vista cualitativo y semicuantitativo. En la siguiente tabla se reportan los diferenciales totales numéricos en densidades ópticas, el número correspondiente a la proteína en el microarreglo L-507, el nombre de la proteína, así como la dirección del cambio en la expresión; esto para cada uno de los pacientes.

| <b>GRUPO 1</b>     |                |                        |                       |                        |                       |                        |                       |
|--------------------|----------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Proteína           | # <sup>a</sup> | TLP-2                  |                       | TLP-8                  |                       | TLP-9                  |                       |
|                    |                | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. |
| CSK                | 78             | 5071                   | Disminución           | 29                     | Disminución           | 71                     | Incremento            |
| EDA-A2             | 110            | 2939                   | Disminución           | 893                    | Disminución           | 471                    | Incremento            |
| IGF-BP rp1/IGF-BP7 | 229            | 12405                  | Disminución           | 521                    | Incremento            | 2156                   | Incremento            |
| sFRP-4             | 445            | 8350                   | Disminución           | 3723                   | Disminución           | 2235                   | Disminución           |
| Trombospondina 1   | 477            | 13290                  | Disminución           | 4588                   | Disminución           | 2750                   | Disminución           |
| SPARC              | 459            | 8819                   | Disminución           | 230                    | Disminución           | 509                    | Disminución           |

<sup>a</sup>Número de referencia en el pozo del L-507.

\*Reportado en las densidades ópticas, para datos específicos ver tablas en anexos.

| <b>GRUPO 2</b>     |                |                        |                       |                        |                       |                        |                       |
|--------------------|----------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Proteína           | # <sup>a</sup> | TLP-12                 |                       | TLP-13                 |                       | TLP-21                 |                       |
|                    |                | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. | Diferencial numérico*. | Dirección del cambio. |
| CSK                | 78             | 991                    | Incremento            | 2287                   | Disminución           | 2435                   | Incremento            |
| EDA-A2             | 110            | 2357                   | Incremento            | 117                    | Disminución           | 2567                   | Incremento            |
| IGF-BP rp1/IGF-BP7 | 229            | 1738                   | Incremento            | 3668                   | Incremento            | 5899                   | Incremento            |
| sFRP-4             | 445            | 1874                   | Disminución           | 5036                   | Disminución           | 4077                   | Incremento            |
| Trombospondina 1   | 477            | 611                    | Disminución           | 69                     | Incremento            | 1007                   | Disminución           |

<sup>a</sup>Número de referencia en el pozo del L-507.

\*Reportado en las densidades ópticas, para datos específicos ver tablas en anexos.

| <b>Comparación de la dirección del cambio en la expresión proteica entre grupos.</b> |         |       |       |         |        |        |
|--|---------|-------|-------|---------|--------|--------|
|  | GRUPO 1 |       |       | GRUPO 2 |        |        |
|  | TLP-2   | TLP-8 | TLP-9 | TLP-12  | TLP-13 | TLP-21 |
| <b>CSK</b>   | ↓       | ↓     | ↑     | ↑       | ↓      | ↑      |
| <b>EDA-A2</b>  | ↓       | ↓     | ↑     | ↑       | ↓      | ↑      |
| <b>IGF-BP rp1/IGF-BP7</b>  | ↓       | ↑     | ↑     | ↑       | ↑      | ↑      |
| <b>sFRP-4</b>  | ↓       | ↓     | ↓     | ↓       | ↓      | ↑      |
| <b>Trombospondina 1</b>  | ↓       | ↓     | ↓     | ↓       | ↑      | ↓      |
| <b>SPARC</b>   | ↓       | ↓     | ↓     | ↓       | ↓      | ↑      |

### **Discusión.**

En los pacientes con trastorno límite de personalidad una de las características que que destaca es la falta de inhibición en su conducta, asociado a una alta impulsividad y pobre control de la expresión de estas respuestas (47). Debido a lo anterior entre los objetivos terapéuticos con éstos pacientes se encuentra el control de la conducta y la disminución de la impulsividad.

A la fecha se han reportado algunos abordajes de EMTr en diversos síndromes neuropsiquiátricos. Estos desde una perspectiva de la severidad de los síntomas, gravedad y consecuencias de la impulsividad, problemas en funciones ejecutivas, pero sobretodo relacionadas con la planeación. Sin embargo la información al respecto aun es poca y las conclusiones a las que se pueden llegar son limitadas (52).

Aún y a pesar de esas limitaciones, la EMTr es una estrategia para el tratamiento de los pacientes con diagnóstico de TLP. Lo anterior se basa en que diversos estudios han reportado efectos benéficos con la EMTr, por ejemplo en el estudio realizado en el 2012 por Kim y cols (51) se aplicó un protocolo de estimulación por 5 sesiones a 5 Hz en la corteza prefrontal dorso lateral izquierda, frecuencia y área utilizada en la presente investigación. En ese estudio se. encontró que dicha intervención provocaba

un disminución en los tiempos de respuesta, significando una mejoría en los procesos de control inhibitorio. Otro estudio es el de por Arbabi y cols (7) quienes aplicaron 10 sesiones de 5 HZ en la corteza prefrontal dorso lateral izquierda a una paciente, encontrando disminución en las escalas de severidad y depresión aplicadas. Aunque el trabajo de Arbabi y cols (7) es un reporte de caso ejemplifica perfectamente la necesidad de incrementar la información respecto a los beneficios de la EMTr.

En el presente estudio se le aplicaron a los pacientes escalas de severidad de síntomas, la ICG (Impresión Clínica Global) y el BEST (Borderline Evaluation of Severity over Time), además de las escalas de Hamilton para depresión y ansiedad.

En relación a los resultados del BEST se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con la EMTr y los que recibieron únicamente psicofármacos, esto en las áreas de pensamientos y sentimientos, así como en la calificación global, con una tendencia estadística hacia la mejoría de las conductas negativas y sin significancia para las conductas positivas. Los resultados de la ICG nos muestran que la significancia estadística fue para los ítems de: abandono, impulsividad, inestabilidad afectiva, sensación de vacío, ira, ideación paranoide y la calificación global; tendencia estadística para Identidad y sin significancia para relaciones inestables y suicidio.

También es necesario resaltar tres resultados del ANOVA en relación a la magnitud del efecto (Eta cuadrada parcia;  $\eta^2_p$ ). La  $\eta^2_p$  para impulsividad fue de 0.641, inestabilidad afectiva de 0.497 y la de la ira de 0.365. La influencia de estos tres ítems para explicar la varianza del fenómeno es muy alta. Si consideramos los antecedentes de la presente investigación, sobretodo en relación al efecto de la EMTr sobre la impulsividad y la mejoría del control inhibitorio, tenemos una explicación coincidente con la mejoría en estas áreas, representada por los resultados y sobre todo por la magnitud del efecto de esos ítems.

Las variaciones en relación a los puntajes de las escalas de Hamilton para depresión y ansiedad solo mostraron tendencias sin significancia estadística mostrando magnitudes de efecto pequeñas en relación a la explicación de la varianza. Lo anterior nos hace pensar que precisamente la mejoría observada en los pacientes y el perfil sobre el que podemos incidir a través de la EMTr tiene que ver con una mejoría en la regulación de las respuestas, promoviendo un mejor control inhibitorio. Si bien los resultados antes comentados orientan hacia esa dirección, dicho análisis fue un objetivo secundario en el diseño del presente estudio.

Por otro lado el estudio de los cambios en las proteínas de secreción de las células troncales obtenidas de los pacientes con diagnóstico de TLP arrojaron resultados interesante. Estudios previos han utilizado diversos abordajes experimentales tratando de describir el sustrato neurobiológico que subyace al TLP encontrando alteraciones en la metilación anómala de algunos genes (48), problemas en la señalización mediada por segundos mensajeros y la regulación inmune (49), así como alteraciones en mediadores de crecimiento neural (50). Todos ellos han sido evaluados en sangre periférica. Sin embargo el entorno biológico particular dentro del SNC se desconoce, así como los posibles efectos de las intervenciones sobre dichas variables. Aunado a esto es posible que entre los beneficios de la EMTr se encuentre la modulación de procesos plásticos destacando, pero no siendo el único, la neurogénesis a partir de células troncales (41).

Por lo anterior en el presente estudio también se planteó iniciar la exploración de dicho entorno, evaluando los posibles cambios en la expresión de proteínas de las células troncales de origen neural del epitelio olfatorio inducidos por la EMTr, células que si bien no reflejan la funcionalidad del sistema nervioso central, si permiten modelar el proceso neurogénico in vitro y estudiar los mecanismos implícitos en la generación de neuronas, como ejemplo de neuroplasticidad. Con el método de exploración utilizado en la presente investigación, se encontraron cambios interesante en seis proteínas, que si bien es importante mencionar que existen otros, estas son las que mostraron mayor magnitud en los diferenciales de las densidades ópticas.

#### **C-Src Tyrosine Kinase (CSK) # 78 del L-507.**

Esta proteína tiene una importante función de regulación sobre el crecimiento celular, diferenciación, migración celular y respuesta inmune. Se encarga de la fosforilación de los residuos de tirosina localizados en la terminación C de las cinasas Src (SFKs) incluyendo a las familias LKC, SRC, KCK, FYN o YES1. En la fosforilación de la parte final, la familia Src se engancha en una interacción intramolecular con las fosfotirosina y el dominio SH2 lo que resulta en una conformación molecular inhibida. Esto en última instancia va a suprimir la señalización, a través de diversos receptores, incluido el receptor de células T y B, manteniendo la conformación de inhibición sobre ellos. (54). La proteína utiliza como cofactor para su acción al magnesio y manganeso.

La CSK es una proteína involucrada en múltiples funciones, a través de los mecanismos ya mencionado, algunos de los procesos en los que se encuentra son: respuesta inmune adaptativa, organización de uniones intracelulares, desarrollo del

tejido del SNC, diferenciación celular, respuesta celular a hormonas peptídicas, respuesta inmune innata, inhibición de producción de IL-6 y regulación de distintas citoquinas, inhibición de la actividad de las quinasas, diferenciación oligodendrocítica, regulación de proliferación celular, coestimulación de células T, entre otras. Las funciones antes comentadas son las relacionadas con el SNC, que considero pueden jugar un papel en la descripción del entorno neurobiológico generado por la intervención, existen otras funciones relacionadas con otros sistemas, las cuales no fueron comentadas en el presente documento.

La participación de esta proteína en el metabolismo de la tirosina, la cual cumple funciones centrales en la síntesis de catecolaminas (adrenalina, dopamina y noradrenalina) a nivel cerebral, como precursor de estas, y de igual forma en su papel en el proceso de mielinización (48,49) es sugerente de un posible papel regulador asociado a la intervención, en el caso de la presente investigación asociado tanto a la EMTr como al manejo con psicofármacos. Obteniendo de manera general valores de densidad óptica más elevados en el grupo 2 (psicofármacos), pero mostrando una tendencia al cambio posterior a la intervención en ambos grupos. Por otro lado una de las funciones tiene relación con la regulación en distintas direcciones de la función inmunitaria del organismo; lo cual pudiera sugerir un posible mecanismo biológico relacionado con la inflamación, esto ha sido estudiado y demostrado en diversas condiciones psicopatológicas hasta el momento, en trastornos afectivos, tanto depresión como trastorno bipolar (56), esquizofrenia (57), entre otras; así que ¿por qué no pensar que también los trastornos de personalidad pudieran estar involucrados?

#### **EDA-A2: Ectodisplasia-A # 110 del L-507.**

Esta proteína es una citocina que está involucrada en la señalización del epitelio y el mesénquima durante la morfogénesis de órganos ectodérmicos, además de funcionar como un ligando activador del dominio de muerte a través de los receptores EDAR y EDA2R (59). Dichas funciones están relacionadas en procesos de diferenciación celular, adhesión de la matriz celular, regulación de expresión de diversos genes, respuesta inmune, pigmentación, favorecedor de regulación de factor NF-kappaB, además de regulación de la vía del TNF (factor de necrosis tumoral). (59,60)

Además del importante papel en la organogénesis, nuevamente tenemos una proteína involucrada de manera estrecha en los procesos de diferenciación celular, adhesión celular y regulación de procesos inmunitarios, en la cual se evidencian cambios

significativos en relación a las densidades ópticas, en ambos grupos, siendo ligeramente mayor en los pacientes que recibieron EMTr.

**IGF-BPrp1 / IGFBP7: Proteína de unión 1 con el factor de crecimiento insulínico #229 del L-507.**

La función central de esta proteína es la prolongar la vida media del factor de crecimiento insulínico (IGF) y se ha demostrado que tanto inhibe como estimula los efectos de IGF en los cultivos celulares. Altera la interacción del IGF con sus receptores de superficie celular, favoreciendo así la migración celular. (61) Algunos de los procesos en los que se ha relacionado son el envejecimiento, regulación de la vía del IGF, inhibición de la vía de señalización de Wnt, favorecer del crecimiento celular y regeneración tisular. (62,63)

A través de los mecanismos ya comentado esta proteína tiene un papel en diversos mecanismos de migración, crecimiento y diferenciación celular. En la presente investigación ambos grupos mostraron una tendencia a incrementar la producción de esta proteína sin importar la intervención seleccionada, siendo de las proteínas reportadas en el presente documento la que tuvo los valores más altos en densidades ópticas de manera general.

**sFRP-4 : Soluble frizzled-related protein. #445 del L-507.**

Esta proteína funciona como moduladora de la vía Wnt, siendo la segunda de ellas que aparece relacionado con esta vía, en esta investigación. Tienen un papel significativo en la regulación del crecimiento y diferenciación; además de tener un papel en la regulación de la apoptosis durante la ovulación y en la morfología uterina. (64).

**Trombospondina-1 #477 del L-507.**

Es una glicoproteína de adhesión, encargada de mediar la interacción entre célula-célula y célula-matriz. Tiene un papel en procesos de dendritogenesis. Además a través de su ligando con el CD36 tiene propiedades antiangiogénicas, además de modular la respuesta asociada al estrés.

Como bien se puede suponer de la descripción general de su función la cantidad de los procesos biológicos en los que está relacionada es inmensa, entre algunos de ellos destacan, respuesta conductual al dolor, adhesión celular, migración celular, respuesta inmune tanto aguda como crónica, respuesta celular al calor, regulación de la vía del TNF, respuesta inflamatoria, respuesta celular a los factores de crecimiento celular, organización de la matriz extracelular, inhibición de procesos apoptóticos, migración y



diferenciación de células endoteliales, regulación de diversas vías de fibrinogenesis y fibrinólisis, inhibición de la producción de IL-12, favorecedor de quimiotaxis, respuesta a mediadores hormonales, entre otras. (65,66)

De manera general dicha proteína regula las moléculas de adhesión celular, favoreciendo cualquier proceso de migración celular, además de regular por vía de citoquinas procesos inflamatorios, más allá de la pura migración, siendo muy relevante en la respuesta aguda y crónica inflamatoria.

Las funciones de esta proteína, poniéndolas en el contexto relacional con lo ya descrito, nos dan una idea de la importancia que puede tener que las intervenciones, tanto la EMTr como los psicofármacos, en la regulación de procesos celulares, que en último grado tendrán una repercusión en la orquestación de una respuesta organizada hacia los estímulos recibidos por el SNC.

#### **SPARC # 459 del L-507.**

Su función parece tener que ver con la regulación del crecimiento celular, a través de la interacción entre la matriz extracelular y las citoquinas. Une calcio, cobre, distintos tipos de colágeno, albumina, trombospondina y membranas celulares. Algunos de los procesos biológicos en los que se ha relacionado son: mediador de respuesta celular a estímulos de factores de crecimiento, inhibición de angiogénesis, inhibición de proliferación endotelial, favorecedor de migración de células endoteliales, cicatrización y diversos procesos de organogénesis (corazón, hueso, oído interno y pulmón) (67).

#### **Conclusiones.**

Desde el punto de vista de la atención clínica de los pacientes, concordante con lo reportado por investigaciones previas, la EMTr a 5 Hz sobre la corteza dorsolateral izquierda tiene un efecto directo sobre la regulación de la impulsividad, inestabilidad afectiva y expresiones conductuales de ira, además de generar cambios significativos en la severidad de los síntomas asociados al TLP. Sin embargo, dichas conclusiones derivan de un objetivo secundario de la presente investigación, ya que el objetivo central de la misma fue caracterizar los cambios en la secreción de proteínas de las células troncales de origen neural del epitelio olfatorio asociados a la EMTr, comparada con psicofármacos. Es importante resaltar el método seleccionado no nos permite la obtención de resultados cuantitativos, por lo que los valores numéricos reportados a lo largo del documento, y como ya fue resaltado previamente, son densidades ópticas; esto con el objetivo de tener una aproximación semicuantitativa y así poder identificar más fácilmente las variaciones en la expresión proteica en las

celulares troncales neurales del epitelio olfatorio de los participantes con diagnóstico de TLP. La razón de haber usado células troncales neurales del epitelio olfatorio radicó en que a partir de éstas se lleva a cabo la generación de neuronas en el epitelio olfatorio, de tal modo que permite estudiar in vitro el proceso de generación de neuronas, la influencia de los factores solubles sobre el microambiente pro-neurogénico, así como de los mecanismos que pueden estar alterados en trastornos psiquiátricos, con la limitante de no poder estudiar funciones neuronales específicas del sistema nervioso central. En ese sentido, las proteínas identificadas en esta investigación tienen que ver básicamente con procesos de crecimiento, migración y diferenciación celular eventos que se encuentran implícitos en el proceso neurogénico tanto en el hipocampo, como en el epitelio olfatorio.

Finalmente, los resultados del presente trabajo sugieren que ambas intervenciones tanto la farmacológica, como la EMTr modifican de manera particular el entorno biológico del individuo, ejemplo de ello son los cambios observados en el perfil de secreción de las células troncales de origen neural del epitelio olfatorio. Sin embargo, la significancia de esto en el contexto de la neurogénesis y del TLP es necesario estudiar para entender como la EMTr puede inducir cambios neuroplásticos que sean regulados por los factores solubles producidos por las células troncales.

### **Limitaciones**

La presente investigación se llevó a cabo en una muestra pequeña, por lo que las características individuales de cada participante pueden jugar un papel central en la expresión proteica y por lo tanto en los posibles efectos de las intervenciones. Por lo anterior para poder concluir de manera más certera es necesario la ampliación de la muestra y la validación de la presencia o ausencia de marcadores proteicos específicos de TLP de las células troncales de origen neural del epitelio olfatorio.

La muestra consistió primordialmente de pacientes de género femenino, y si bien es cierto que el TLP es más prevalente en esta población es importante considerar el efecto del género sobre los posibles resultados, debido a que en la presente investigación únicamente hubo un participante varón, y asociado al tamaño de la muestra, no se puede establecer una línea de análisis en relación al género.

Actualmente la EMTr no es una opción terapéutica aprobada por la Agencia Federal de Alimentos y Drogas de Estados Unidos (FDA por sus siglas en Inglés) para el manejo del TLP, por lo que la muestra considerada en el grupo 1 también recibía

manejo psicofarmacológico, esto por las consideraciones éticas pertinentes. Sería importante poder evaluar el efecto de la EMTr como monoterapia en las variaciones de la expresión de las proteínas.

### **Futuras perspectivas.**

Considero que la presente investigación sienta el precedente del uso de estrategias metodológicas que permitan evaluar los posibles efectos de intervenciones terapéuticas a nivel neuroplástico y orientado a la búsqueda de marcadores específicos en los que es necesario aplicar otros abordajes metodológicos para poder obtener información relacionada con el entorno neurobiológico de estos pacientes y las modificaciones inducidas por las diversas opciones terapéuticas, llevando así a una mejor comprensión del fenómeno mental y sus variantes patológicas.

### **Agradecimientos.**

A mis compañeros y amigos residentes del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, quienes me ayudaron de manera esencial en diversos pasos en la elaboración de la presente investigación.

A mis tutores, el Dr. Jorge González y el Dr. Gerardo Ramírez, por toda su paciencia y atención logrando un aprendizaje dinámico y la culminación de este proyecto.

A todo el personal del laboratorio de Neurogenesis del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, con especial atención para Leonardo Ortiz López, quien estuvo a cargo de la obtención de las muestras de las células, su preparación en los medios y el procesamiento de las mismas, sin su cordial ayuda el presente trabajo no hubiera sido posible.

Al ingeniero José Francisco Cortes quien con su paciencia y experiencia me ayudó con el análisis estadístico de los resultados.

A mi mamá y hermano, Mercedes y Diego, quienes a lo largo de mi desarrollo como persona y profesional me han motivado para nunca detener mi crecimiento.

A mi pareja de vida, Ceci, quien me recuerda lo realmente importante en cada paso que damos.

## Referencias.

1. Transcranial magnetic stimulation in clinical psychiatry, edited by Mark S George and Robert H. Belmaker American Psychiatry Publishing 2007, reprinted 2010.
2. Roth Y, Amir A, Levkovitz Y, Zangen A. Three-dimensional distribution of the electric field induced in the brain by transcranial magnetic stimulation using figure 8 and deep h-coils. *J Clin Neurophysiol* 2007;24:31–8.
3. Zangen A, Roth Y, Voller B, Hallett M. Transcranial magnetic stimulation of deep brain regions: evidence for efficacy of the H-coil. *Clin Neurophysiol* 2005;116:775–9
4. Peterchev AV, Jalinous R, Lisanby SH. A transcranial magnetic stimulator inducing near-rectangular pulses with controllable pulse width (cTMS). *IEEE Trans Biomed Eng* 2008;55:257–66.
5. Di Lazzaro V, Pilato F, Dileone M, Profice P, Oliviero A, Mazzone P, et al. The physiological basis of the effects of intermittent theta burst stimulation of the human motor cortex. *J Physiol* 2008;586:4481–7.
6. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron* 2005;45:201–6.
7. Gentner R, Wankerl K, Reinsberger C, Zeller D, Classen J. Depression of human corticospinal excitability induced by magnetic theta-burst stimulation: evidence of rapid polarity-reversing metaplasticity. *Cer Cortex* 2008;19:2053–6.
8. Iezzi E, Conte A, Suppa A, Agostino R, Dinapoli L, Scontrini A, et al. Phasic voluntary movements reverse the aftereffects of subsequent theta-burst stimulation in humans. *J Neurophysiol* 2008;100:2070–6.
9. Rossi S., Hallet M., Rossini P. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clinical Neurophysiology* 120 (2009) 2008–2039
10. Ruohonen J, Ilmoniemi RJ. Physical principles for transcranial magnetic stimulation. In: Pascual-Leone A, Davey NJ, Rothwell J, Wassermann EM, Puri BK, editors. *Handbook of transcranial magnetic stimulation*. New York: Oxford University Press; 2002.
11. Elwassif MM, Kong Q, Vazquez M, Bikson M. Bio-heat transfer model of deep brain stimulation-induced temperature changes. *J Neural Eng* 2006;3:306–15.

12. Conte A, Gilio F, Iacovelli E, Bettolo CM, Di Bonaventura C, Frasca V, et al. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on spike-and-wave discharges. *Neurosci Res* 2007;57:140–2.
13. Bockart JJ, Smith AR, Hutcheson K, Johnson K, Nahas Z, Anderson B, et al. Reducing pain and unpleasantness during repetitive transcranial magnetic stimulation. *ECT* 2008;22:259–64.
14. O’Shea J, Johansen-Berg H, Trief D, Göbel S, Rushworth MF. Functionally specific reorganization in human premotor cortex. *Neuron* 2007;54:479–90.
15. Keck ME, Sillaber I, Ebner K, Welt T, Toschi N, Kaehler ST, et al. Acute transcranial magnetic stimulation of frontal brain regions selectively modulates the release of vasopressin, biogenic amines and amino acids in the rat brain. *Eur J Neurosci* 2000;12:3713–20.
16. Michael N, Gössling M, Reutemann M, Kersting A, Heindel W, Arolt V, et al. Metabolic changes after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) of the left prefrontal cortex: a Sham-controlled proton magnetic resonance spectroscopy (1H MRS) study of healthy brain. *Eur J Neurosci* 2003;17:2462–8. selected pre-stimulus pattern. *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 2004;12:144–51.
17. Hausmann A, Marksteiner J, Hinterhuber H, Humpel C. Magnetic stimulation induces neuronal c-fos via tetrodotoxin-sensitive sodium channels in organotypic cortex brain slices of the rat. *Neurosci Lett* 2001;310:105–8
18. McCloskey MS, Phan KL, Coccaro EF (2005): Neuroimaging and personality disorders. *Curr Psychiatry Rep* 7:65–72.
19. Minzenberg MJ, Fan J, New AS, Tang CY, Siever LJ (2008): Frontolimbic structural changes in borderline personality disorder. *J Psychiatr Res* 42:727–733.
20. Lyoo IK, Han MH, Cho DY (1998): A brain MRI study in subjects with borderline personality disorder. *J Affect Disord* 50:235–243.
21. Tebartz van Elst L, Hesslinger B, Thiel T, Geiger E, Haegele K, Lemieux L, et al. (2003): Frontolimbic brain abnormalities in patients with borderline personality disorder: A volumetric magnetic resonance imaging study. *Biol Psychiatry* 54:163–171.
22. Johnson PA, Hurley RA, Benkelfat C, Herpertz SC, Taber KH (2003): Understanding emotion regulation in borderline personality disorder: Contributions of neuroimaging. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15:397- 402.

23. De La Fuente JM, Goldman S, Stanus E, Vizuete C, Morlan I, Bobes J, et al. (1997): Brain glucose metabolism in borderline personality disorder. *J Psychiatr Res* 31:531–541.
24. Soloff PH, Meltzer CC, Greer PJ, Constantine D, Kelly TM (2000): A fenfluramine-activated FDG-PET study of borderline personality disorder. *Biol Psychiatry* 47:540–547.
25. Soloff PH, Meltzer CC, Becker C, Greer PJ, Kelly TM, Constantine D (2003): Impulsivity and prefrontal hypometabolism in borderline personality disorder. *Psychiatry Res* 123:153–163.
26. Leichsenring, F., Leibing, E., Kruse, J., New, A.S., Leweke, F., 2011. Borderline personality disorder. *Lancet* 377 (9759), 74–84.
27. Schmahl, C., Bremner, J.D., 2006. Neuroimaging in borderline personality disorder. *Journal of Psychiatric Research* 40 (5), 419–427.
28. Stein, D.J., 2009. Borderline personality disorder: toward integration. *CNS Spectrum* 14 (7), 352–356.
29. Salavert, J., Gasol, M., Vieta, E., Cervantes, A., Trampal, C., Gispert, J.D., 2011. Fronto-limbic dysfunction in borderline personality disorder: a 18F-FDG positron emission tomography study. *Journal of Affective Disorders* 131 (1–3), 260–267.
30. Ruocco, A.C., Medaglia, J.D., Ayaz, H., Chute, D.L., 2010. Abnormal prefrontal cortical response during affective processing in borderline personality disorder. *Psychiatry Research* 182 (2), 117–122.
31. Ziemann U, Lonnecker S, Steinhoff BJ, Paulus W (1996): Effects of antiepileptic drugs on motor cortex excitability in humans: A transcranial magnetic stimulation study. *Ann Neurol* 40:367–378.
32. Werhahn KJ, Kunesch E, Noachtar S, Benecke R, Classen J (1999): Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol* 517:591–597.
33. Siebner HR, Dressnandt J, Auer C, Conrad B (1998): Continuous intrathecal baclofen infusions induced a marked increase of the transcranially evoked silent period in a patient with generalized dystonia. *Muscle Nerve* 21:1209–1212. Psychologie Verlags Union.
34. L. Caihol, et al. Borderline personality disorder and rTMS: A pilot trial. *Psychiatry Research* 216 (2014) 155–157

35. Siever, L.J., 2008. Neurobiology of aggression and violence. *American Journal of Psychiatry* 165 (4), 429–442.
36. Tebartz van Elst, L., Hesslinger, B., Thiel, T., Geiger, E., Haegele, K., Lemieux, L., Lieb, K., Bohus, M., Hennig, J., Ebert, D., 2003. Frontolimbic brain abnormalities in patients with borderline personality disorder: a volumetric magnetic resonance imaging study. *Biological Psychiatry* 54 (2) 163–171.
37. Coccaro, E.F., Sripada, C.S., Yanowitch, R.N., Phan, K.L., 2011. Cortico limbic function in impulsive aggressive behavior. *Biological Psychiatry*, 69(12)1153–1159
38. Lopez M., Mallorquin P, Vega M. Microarrays y Biochips de ADN, Informe de Vigilancia Tecnológico. Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica, Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid, Octubre 2002.
39. Moreno V., Sole X. Uso de chips de ADN (microarrays) en medicina: fundamentos técnicos y procedimientos básicos para el análisis estadístico de resultados. *Med Clin (Barc)* 2004;122(Supl I):73-9.
40. Ray Biotech L-series: Label-Based Antibody Arrays manual.
41. Spalding. K. Bergmann O. Et al. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell*. 2013 June 6; 153(6): 1219–1227
42. Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H. A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron*. 2007; 54:559–566.
43. Lovell M.a, Jafek B. Et al. Biopsy of human olfactory mucosa: an instrument and a technique. *Arch. Otol.* 108, 247-249
44. Jafek B., Murrow R. Et al. Biopsies of human olfactory epithelium. *Chem. Senses* 21: 623-628, 2002.
45. Sattler, R., et al., Human nasal olfactory epithelium as a dynamic marker for CNS therapy development, *Exp. Neurol.* (2011)
46. Machii K, Cohen D, Ramos-Estebanez C, Pascual-Leone A. Safety of rTMS to non-motor cortical areas in healthy participants and patients. *Clin Neurophysiol* 2006;117:455–71.

47. Jacob, G., Zvonik, K., Kamphausen, S., Sebastian, A., Maier, S., Philipsen, A. Tüscher, O. (2013). Emotional modulation of motor response inhibition in women with borderline personality disorder: an fMRI study. *J Psychiatry Neurosci*, 38 (3), 164-172
  
48. Teschler S., Gotthardt J., Dammann L., Dammann R. Aberrant DNA Methylation of rDNA and PRIMA1 in Borderline Personality Disorder. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 67
  
49. Schmahl C, Arvaston L, Tamm JA, Bohus M, Abdourahman A, et al. (2013) Gene Expression Profiles in Relation to Tension and Dissociation in Borderline Personality Disorder. *PLoS ONE* 8(8): e70787. doi:10.1371/journal.pone.0070787
  
50. S. Wagner, O. Baskaya , N. Dahmen, K. Lieb and A. Tadi. Modulatory role of the brain-derived neurotrophic factor Val66 Met polymorphism on the effects of serious life events on impulsive aggression in borderline personality disorder. *Genes, Brain and Behavior* (2010) 9:97–102
  
51. Kim, S et al (2012). Effects of five daily high-frequency rTMS on Stroop task performance in aging individuals. *Neuroscience Research*, 74, 256-260.
  
52. Zaman, R. (2014). Role of transcranial magnetic stimulation (TMS & rTMS) in investigation and possible treatment of impulsivity in neuropsychiatric disorders with ADHD and Borderline personality disorder as examples. *Psychiatria Danubina*, 26 (1), 347-350.
  
53. Arbabi, M, et al. (2013). High frequency TMS for the management of borderline personality disorder: a case report. *Asian Journal of Psychiatry*, 6, 614-617.
  
54. Bergman M., Mustelin T., et al . The human p50csk tyrosine kinase phosphorylates p56lck at Tyr-505 and down regulates its catalytic activity. *EMBO J.* 11:2919-2924(1992)
  
55. Sun G., Budde R.J. Expression, purification, and initial characterization of human Yes protein tyrosine kinase from a bacterial expression system. *Arch. Biochem. Biophys.* 345:135-142(1997)
  
56. Sayana P., Colpo GD., et al. A systematic review of evidence for the role of inflammatory biomarkers in bipolar patients. *J Psychiatr Res.* 2017 Mar 29;92:160-182. doi: 10.1016/j.jpsychires.2017.03.018.
  
57. Fischer EK, Drago A. A molecular pathway analysis stresses the role of inflammation and oxidative stress towards cognition in schizophrenia. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017 May 5. doi: 10.1007/s00702-017-1730-y.



58. Chirinos DA, Murdock KW, et al Depressive symptom profiles, cardio-metabolic risk and inflammation: Results from the MIDUS study. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Apr 29;82:17-25. doi: 10.1016/j.psyneuen.2017.04.011.
59. Shen W., Wang Y., et al Functional study of ectodysplasin-a mutations causing non-syndromic tooth agenesis. *PLoS ONE* 11:E0154884-E0154884(2016)
60. Yan M., Wang L.-C., et al Two-amino acid molecular switch in an epithelial morphogen that regulates binding to two distinct receptors. *Science* 290:523-527(2000)
61. Sala A., Capaldi S., et al. Structure and properties of the C-terminal domain of insulin-like growth factor-binding protein-1 isolated from human amniotic fluid. *J. Biol. Chem.* 280:29812-29819(2005)
62. Brewer M.T., Stetler G.L., et al Cloning, characterization, and expression of a human insulin-like growth factor binding protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 152:1289-1297(1988)
63. Arenas E. Wnt signaling in midbrain dopaminergic neuron development and regenerative medicine for Parkinson's disease. *J Mol Cell Biol* 6:42-53(2014)
64. Berndt T., Craig T.A., et al Secreted frizzled-related protein 4 is a potent tumor-derived phosphaturic agent. *J. Clin. Invest.* 112:785-794(2003)
65. Isenberg J.S., Jia Y., et al. Thrombospondin-1 inhibits nitric oxide signaling via CD36 by inhibiting myristic acid uptake. *J. Biol. Chem.* 282:15404-15415(2007)
66. Adams J.C. Thrombospondin-1. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29:861-865(1997)
67. Sasaki T., Hohenester E., Gohring W., Timpl R. Crystal structure and mapping by site-directed mutagenesis of the collagen-binding epitope of an activated form of BM-40/SPARC/osteonectin. *EMBO J.* 17:1625-1634(1998)
68. Terzi L, Martino F. et al. Aggressive behavior and self-harm in Borderline Personality Disorder: The role of impulsivity and emotion dysregulation in a sample of outpatients. *Psychiatry Research* , Volume 249 , 321 – 326

69. Torgersen S, Lygren S, et al. A twin study of personality disorders. *Compr Psychiatry* 2000; 41: 416-25.70. Guendelman S. , Garay L, Miño V. Neurobiología del trastorno de personalidad límite. *Rev Med Chile* 2014; 142: 204-210.

71. Wagner S, Başkaya O, et al. Modulatory role of the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism on the effects of serious life events on impulsive aggression in borderline personality disorder. *Genes Brain Behav* 2010; 9 (1): 97-102.

72. Siever LJ, David KL. A Psycho Biological Perspective on the Personality Disorders. *Am J Psychiatry* 1991; 148 (12): 1647-58.

73. Grosjean B, Tsai GE. NMDA neurotransmission as a critical mediator of borderline personality disorder. *J Psychiatry Neurosci* 2007; 32: 103-15.74. Thukral V., Chikaraishi D,m Hunter D., et al. Expression of non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptor subunits in th olfactory epithelium. *Neuroscience* 1997, 79, 411-424

75. Morel GR, León ML, Uriarte M, Reggiani PC, Goya RG Therapeutic potential of IGF-I on hippocampal neurogenesis and function during aging. *Neurogenesis (Austin)*. 2016 Dec 20;4(1):e1259709. doi: 10.1080/23262133.2016.1259709.

76. Sattler R, Coddington L, Sawa A, et al. Human nasal olfactory epithelium as a dynamic marker for CNS therapy development. *Exp Neurol*. 2011, Dec; 232 (2):203-11

77.- Trajković G, Starčević V, Latas M, Leštarević M, Ille T, Bukumirić Z, et al. Reliability of the Hamilton Rating Scale for Depression: a meta-analysis over a period of 49 years. *Psychiatry Res*. 2011;189(1):1–9. doi: 10.1016/j. psychres.2010.12.007

78. Hamilton M. The assessment of anxiety states by rating. *Br. J Med Psychol* 1959;32:50–55.

79. Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *J Affect Disord* 1988;14:61–68.

80. Pfohl B., Blum N. , Don St. John, et al. Reliability and Validity of the Borderline Evaluation of Severity Over Time (BEST): a sel-rated scaffe to measure severity and change un persons with borderline personality disorder. *J Pers Disord*. 2009 June ; 23(3): 281–293. doi:10.1521/pedi.2009.23.3.281.

81. Perez V1, Barrachina J, Soler J, et al. The clinical global impression scale for borderline personality disorder patients (CGI-BPD): a scale sensible to detect changes. *Actas Esp Psiquiatr.* 2007 Jul-Aug;35(4):229-35.



## Carta de consentimiento informado para pacientes

Nombre del estudio: Cambios en la expresión proteica inducidos por la estimulación magnética transcraneal en las células del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de Trastorno Límite de Personalidad valorados con microarreglos.

Investigadores: Dr. Francisco Javier Vegas Rodríguez, Dr. Jorge Julio González Olvera, Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez

Dirección: Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"; Calzada México-Xochimilco # 101, Colonia Huipulco, Delegación Tlalpan, Teléfono: 4160-5000

Lo invitamos a tomar parte en un estudio de investigación en el Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz". En caso de entender alguno de los puntos expuestos en este documento, por favor, siéntase libre de preguntar todo aquello que no entienda.

Justificación y objetivos de la Investigación: El trastorno límite de personalidad (TLP) es una condición en donde pueden existir déficits en la toma de decisiones, el control de los impulsos, la forma en que las personas se relacionan entre sí, la capacidad para reconocer emociones; la presencia de esta sintomatología puede generar déficit en el funcionamiento diario. En estudios previos se ha demostrado que la aplicación de esta técnica conocida como estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) puede mejorar algunos de los síntomas mencionados previamente. El objetivo de este estudio es extender el conocimiento que se tiene sobre las bases biológicas de esta mejoría.

La EMTr ha sido aprobada por instituciones sanitarias de Estados Unidos de Norteamérica (FDA, Food and Drug Administration) como una intervención segura y eficaz en el manejo de diferentes condiciones psiquiátricas.

Características del estudio y procedimiento: Al decidir participar en este protocolo usted será candidato para recibir tratamiento con estimulación magnética transcraneal. El estudio contará con dos poblaciones, cada una de 10 personas, la pertenencia a alguno de los grupos se elegirá al azar; uno de ellos recibirá estimulación magnética transcraneal repetitiva activa al inicio del proyecto y el segundo grupo recibirá las sesiones una vez culminadas las del primer grupo. Dicha distribución tiene como objetivo poder comparar los resultados y ofrecer el beneficio de la mejoría asociada a la intervención a ambos grupos. Debido a que la asignación de los grupos es aleatoria, no es posible saber a cuál de ellos pertenecerá. **Este estudio se considera como una investigación (estudio) con riesgo mayor que el mínimo.**

Una vez que acepte su participación le serán programados ciertas evaluaciones, que consistirán en contestar un cuestionario y la realización de un electroencefalograma. Si en dichas evaluaciones se cumplen los requisitos será tomada una muestra de epitelio respiratorio. Dicha muestra se realiza por raspado con un hisopo en la mucosa nasal; como consecuencia del mismo algunos pacientes pueden llegar a presentar molestia durante y después de la toma así como sangrado nasal; en caso de que presente alguna molestia durante el mismo será atendido por el personal médico encargado del proyecto y en caso de ameritarlo se referirá su atención; es importante señalar que las molestias asociadas al procedimiento son mínimas y las complicaciones ocurren en pocas ocasiones. Posterior a la obtención de la muestra de mucosa nasal comenzarán las sesiones de EMTr.

Sesiones de EMTr: Usted recibirá estimulación a alta frecuencia (30 trenes de pulsos de 5 Hz, **con una duración de 10 segundos cada uno** en región frontal izquierda). El esquema de tratamiento consiste en la administración de una sesión diaria de estimulación hasta completar 15. La estimulación magnética se realiza generando un campo magnético con una bobina envuelta en un cuerpo plástico. Los pulsos magnéticos generan pequeños impulsos eléctricos que podrían causar que algunos de sus músculos superficiales se contraigan únicamente el tiempo que tarde el estímulo. Esto puede producir molestias mientras dure el estímulo, especialmente al utilizar frecuencias altas. Usualmente no es demasiado molesto y la incomodidad tiende a desaparecer en unos días. Frecuentemente no se presentan efectos colaterales molestos. Para localizar el punto en el cual se estimulará, podríamos hacer alguna marca en la superficie del cuero cabelludo con una tinta que pueda ser removida por usted cuando se lave la cabeza. El área donde recibirá el tratamiento cuenta con el equipo indispensable para cualquier emergencia médica que se pueda suscitar. Siempre durante las sesiones estará un médico y en caso de que usted presentara una crisis convulsiva durante la sesión de estimulación magnética, el médico que está capacitado para cuidar de usted y en caso de ser necesario será acompañado al servicio de atención psiquiátrica continua; dónde se le brindará la atención necesaria durante la crisis. Posteriormente le explicaremos el riesgo que implica el continuar con la EMTr, por lo que en ese caso usted quedaría eliminado inmediatamente del estudio y se canalizaría para que continúe de forma normal su atención en el INPRF.

Una vez culminadas las sesiones de estimulación magnética transcraneal se hará nuevamente la recolección del material biológico de su mucosa nasal, a través del raspado con hisopo descrito previamente.

Las células obtenidas de su mucosa nasal serán transportadas al Laboratorio de Neurogenesis del Instituto Nacional de Psiquiatría a cargo del Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez, en dicho laboratorio se llevaran a cabo la medición de las proteínas de interés en el estudio. El epitelio olfatorio es considerado como una fuente de células madre/precursoras que cuando se obtienen y se mantienen in vitro se pueden evaluar algunas alteraciones que se presentan en la generación de neuronas en padecimientos neuropsiquiátricos.

En caso de que usted consienta el resguardo de su muestra de células del epitelio olfatorio, es importante que sepa que ésta muestra será codificada con números que no hacen posible la identificación del participante. El código numérico sólo será registrado en los formatos de investigación que estarán bajo resguardo del Dr. Jorge Julio González Olvera quién es el responsable del proyecto.

También es importante que usted sepa que si los resultados de esta investigación son presentados en algún foro su identidad no será revelada.

En caso de que usted no quiera que su muestra quede almacenada, esta será destruida al concluir el análisis de la neurogénesis sin que se vea afectada la atención médica que recibe en la Institución.

Una vez culminadas las sesiones de estimulación se valorará a través de un cuestionario la respuesta a la intervención.

#### Costo de las evaluaciones:

Las sesiones de evaluación clínica, electroencefalograma, toma de muestra; así como las sesiones de EMTr que sean aplicadas durante el estudio no tienen costo para usted. Si durante la evaluación clínica, el médico psiquiatra que lo evalúa para ingresar al estudio, considera necesaria la posible realización de estudios de laboratorio adicionales, por sospecha de condiciones patológicas ajenas al objeto de estudio del protocolo (por ejemplo sospecha de un cuadro de anemia), le explicará los motivos por los cuales se sugieren dichos estudios y en caso de que se soliciten usted deberá cubrir el costo de acuerdo a la clasificación socioeconómica que se le ha asignado en este instituto.

### Beneficios

1.- Aunque no sabemos el efecto preciso que tendrá la EMTr en usted, es posible que algunos síntomas que usted presenta mejoren significativamente, en particular síntomas de características depresivas.

2.- Indirectamente usted ayudará a otros pacientes al contribuir en el conocimiento sobre la naturaleza y evolución del TLP, así como incrementar la información sobre el trasfondo biológico asociado a la EMTr.

Mujeres con Posibilidad de Embarazarse: Las sesiones de EMTr podrían involucrar riesgo en caso de embarazo, por lo que si usted es mujer con la capacidad de embarazarse, deberá estar de acuerdo en prevenir el embarazo si usted decide aceptar la EMTr. Todas las pacientes fértiles, sexualmente activas deberán estar de acuerdo en usar una forma efectiva de control de natalidad, el costo del método de control de natalidad deberá ser cubierto por usted. Si planea embarazarse durante el curso del estudio o se encuentra embarazada o lactando, no deberá participar en este estudio. Esto se hace por su seguridad, ya que la exposición a los medicamentos que podrían llegar a utilizarse para el tratamiento del TLP, así como la estimulación magnética podría involucrar riesgos no previstos para usted o el embrión en caso de que se llegue a embarazar.

Confidencialidad: Toda la información clínica será manejada por medio de códigos que hacen imposible su identificación por nombre completo. La información que incluya su nombre, dirección u otros datos personales solo será registrada en el expediente del protocolo de investigación, el cual solo será consultado por los investigadores involucrados en el estudio. La información será guardada por un periodo máximo de cinco años. Si los resultados de esta investigación fueran presentados en artículos científicos, congresos o reuniones médicas y científicas, su identidad no será revelada. En caso de que los estudios o las evaluaciones llevadas a cabo durante el estudio, muestren hallazgos que se consideren de importancia para la evolución y/o tratamiento del cuadro clínico, se solicitará su autorización para ser comunicados a su médico tratante.

Riesgos y molestias: Debido a que la estimulación magnética puede inducir crisis convulsivas en aquellas personas que las han presentado previamente o que tienen riesgo de presentarlas; para que usted pueda ser incluido(a) en este estudio, se solicitará de forma indispensable que cuente con un EEG normal. Asimismo la EMTr puede ser dañina para las personas que portan objetos metálicos en la cabeza (como clipajes, placas, tornillos), en los ojos o en el cerebro (como esquirlas). También para personas con marcapaso o electrodos cardiacos. Si usted se encuentra en alguna de estas situaciones, por favor informe a su médico.

Eventos adversos: En caso de presentar cualquier evento no esperado (malestares, molestias o enfermedades) en el tiempo que dure este estudio, deberá comunicarlo al médico cuanto antes. Todos los eventos adversos relacionados o no con este tratamiento serán registrados y reportados al comité de ética de este instituto.

Participación Voluntaria / Suspensión de la Participación: Su participación en este estudio es voluntaria. Puede rehusarse a participar o suspender su participación en el estudio en cualquier momento. Por otro lado, si los médicos consideran que continuar en el estudio no es la mejor alternativa para su tratamiento clínico, será retirado del estudio en ese momento. Se le informará acerca de cualquier hallazgo significativo que surja durante el curso de esta investigación que pueda estar relacionado con su deseo de seguir formando parte del estudio. En caso de que usted no desee participar no se le negará el cuidado médico que requiera.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído la carta de consentimiento informado y entiendo de qué se trata el estudio. He hablado directamente con el responsable del estudio y ha contestado todas mis preguntas en términos que he podido entender. Puedo hacer cualquier pregunta en cualquier momento de la investigación. Recibí una copia de esta hoja de información.

**ACEPTO VOLUNTARIAMENTE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.**

Entiendo que puedo suspender mi participación en el estudio en cualquier momento sin que esto tenga consecuencias en mi relación con la institución. Mi identidad no será revelada en ninguna referencia del estudio o sus resultados. Además, recibí una copia de la carta de consentimiento.

Si tengo dudas o requiero información adicional respecto al estudio, puedo comunicarme con el Dr. Francisco Javier Vegas Rodríguez (tel. 4160-5372), consultorio número 7 del modulo C del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; o con el Dr. Jorge Julio González Olvera (tel. 4160-5349) 5352.

México D.F. a \_\_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_.

Paciente (Nombre): \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Testigo 1: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Testigo 2: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Investigador Principal \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

En caso de encontrar hallazgos durante los estudios o la realización del protocolo y que sean importancia para la evolución y/o tratamiento del cuadro clínico, autorizo al investigador a informar a mi medico tratante de dichos hallazgos

Si \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

En caso de suspender mi colaboración, autorizo que sigan utilizando mi información hasta que concluya la investigación:

Si \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

Paciente (Nombre): \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

**Carta de consentimiento informado para controles en lista de espera.**

Nombre del estudio: Cambios en la expresión proteica inducidos por la estimulación magnética transcraneal en las células del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de Trastorno Límite de Personalidad valorados con microarreglos.

Investigadores: Dr. Francisco Javier Vegas Rodríguez, Dr. Jorge Julio González Olvera, Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez



Dirección: Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"; Calzada México-Xochimilco # 101, Colonia Huipulco, Delegación Tlalpan, Teléfono: 4160-5000

Lo invitamos a tomar parte en un estudio de investigación en el Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz". En caso de entender alguno de los puntos expuestos en este documento, por favor, siéntase libre de preguntar todo aquello que no entienda.

Justificación y objetivos de la Investigación: El trastorno límite de personalidad (TLP) es una condición en donde pueden existir déficits en la toma de decisiones, el control de los impulsos, la forma en que las personas se relacionan entre sí, la capacidad para reconocer emociones; la presencia de esta sintomatología puede generar déficit en el funcionamiento diario. En estudios previos se ha demostrado que la aplicación de esta técnica conocida como estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) puede mejorar algunos de los síntomas mencionados previamente. El objetivo de este estudio es extender el conocimiento que se tiene sobre las bases biológicas de esta mejoría.

La EMTr ha sido aprobada por instituciones sanitarias de Estados Unidos de Norteamérica (FDA, Food and Drug Administration) como una intervención segura y eficaz en el manejo de diferentes condiciones psiquiátricas.

Características del estudio y procedimiento: Al decidir participar en este protocolo usted será candidato para recibir tratamiento con estimulación magnética transcraneal. El estudio contara con dos poblaciones, usted será parte de la rama de controles en lista de espera. Una vez que acepte su participación le serán programados ciertas evaluaciones, que consistirán en contestar un cuestionario y la realización de un electroencefalograma. Si en dichas evaluaciones se cumplen los requisitos será tomada una muestra de epitelio respiratorio.

Se tomara muestra de epitelio olfatorio; dicha muestra se realiza por raspado con un hisopo en la mucosa nasal; como consecuencia del mismo algunos pacientes pueden llegar a presentar molestia durante y después de la toma así como sangrado nasal; en caso de que presente alguna molestia durante el mismo será atendido por el personal médico encargado del proyecto y en caso de ameritarlo se referirá su atención; es importante señalar que las molestias asociadas al procedimiento son mínimas y las complicaciones ocurren en pocas ocasiones. Posterior a esto se esperará un periodo aproximado de 3 semanas, antes de volver a citarlo para una segunda toma de muestra biológica. Una vez culminadas ambas tomas será iniciado el proceso de las sesiones de estimulación magnética transcraneal con el objetivo de que reciba el beneficio de la misma. **Este estudio se considera como una investigación (estudio) con riesgo mayor que el mínimo.**

Sesiones de EMTr: Usted recibirá estimulación a alta frecuencia (30 trenes de pulsos de 5 Hz, **con una duración de 10 segundos cada uno** en región frontal izquierda). El esquema de tratamiento consiste en la administración de una sesión diaria de estimulación hasta completar 15. La estimulación magnética se realiza generando un campo magnético con una bobina envuelta en un cuerpo plástico. Los pulsos magnéticos generan pequeños impulsos eléctricos que podrían causar que algunos de sus músculos superficiales se contraigan únicamente el tiempo que tarde el estímulo. Esto puede producir molestias mientras dure el estímulo, especialmente al utilizar frecuencias altas. Usualmente no es demasiado molesto y la incomodidad tiende a desaparecer en unos días. Frecuentemente no se presentan efectos colaterales molestos. Para localizar el punto en el cual se estimulará, podríamos hacer alguna marca en la superficie del cuero cabelludo con una tinta que pueda ser removida por usted cuando se lave la cabeza. El área donde recibirá el tratamiento cuenta con el equipo indispensable para cualquier emergencia médica que se pueda suscitar. Siempre durante las sesiones estará un médico y en caso de que usted presentara una crisis convulsiva durante la sesión de estimulación magnética, el médico que está capacitado para cuidar de usted y en caso de ser necesario será acompañado al servicio de atención

psiquiátrica continua: dónde se le brindará la atención necesaria durante la crisis. Posteriormente le explicaremos el riesgo que implica el continuar con la EMTr, por lo que en ese caso usted quedaría eliminado inmediatamente del estudio y se canalizaría para que continúe de forma normal su atención en el INPRF.

Las células obtenidas de su mucosa nasal serán transportadas al Laboratorio de Neurogenesis del Instituto Nacional de Psiquiatría a cargo del Dr. Gerardo Bernabé Ramírez Rodríguez, en dicho laboratorio se llevaran a cabo la medición de las proteínas de interés en el estudio. El epitelio olfatorio es considerado como una fuente de células madre/precursoras que cuando se obtienen y se mantienen in vitro se pueden evaluar algunas alteraciones que se presentan en la generación de neuronas en padecimientos neuropsiquiátricos.

En caso de que usted consienta el resguardo de su muestra de células del epitelio olfatorio, es importante que sepa que ésta muestra será codificada con números que no hacen posible la identificación del participante. El código numérico sólo será registrado en los formatos de investigación que estarán bajo resguardo del Dr. Jorge Julio González Olvera quién es el responsable del proyecto.

También es importante que usted sepa que si los resultados de esta investigación son presentados en algún foro su identidad no será revelada.

En caso de que usted no quiera que su muestra quede almacenada, esta será destruida al concluir el análisis de la neurogénesis sin que se vea afectada la atención médica que recibe en la Institución.

Una vez culminadas las sesiones de estimulación se valorara a través de un cuestionario la respuesta a la intervención.

#### Costo de las evaluaciones:

Las sesiones de evaluación clínica, electroencefalograma, toma de muestra; así como las sesiones de EMTr que sean aplicadas durante el estudio no tienen costo para usted. Si durante la evaluación clínica, el médico psiquiatra que lo evalúa para ingresar al estudio, considera necesaria la posible realización de estudios de laboratorio adicionales, por sospecha de condiciones patológicas ajenas al objeto de estudio del protocolo (por ejemplo sospecha de un cuadro de anemia), le explicará los motivos por los cuales se sugieren dichos estudios y en caso de que se soliciten usted deberá cubrir el costo de acuerdo a la clasificación socioeconómica que se le ha asignado en este instituto.

#### Beneficios

1.- Aunque no sabemos el efecto preciso que tendrá la EMTr en usted, es posible que algunos síntomas que usted presenta mejoren significativamente, en particular síntomas de características depresivas.

2.- Indirectamente usted ayudará a otros pacientes al contribuir en el conocimiento sobre la naturaleza y evolución del TLP, así como incrementar la información sobre el trasfondo biológico asociado a la EMTr.

Mujeres con Posibilidad de Embarazarse: Las sesiones de EMTr podrían involucrar riesgo en caso de embarazo, por lo que si usted es mujer con la capacidad de embarazarse, deberá estar de acuerdo en prevenir el embarazo si usted decide aceptar la EMTr. Todas las pacientes fértiles, sexualmente activas deberán estar de acuerdo en usar una forma efectiva de control de natalidad, el costo del método de control de natalidad deberá ser cubierto por usted. Si planea embarazarse durante el curso del estudio o se encuentra embarazada o lactando, no deberá participar en este estudio. Esto se hace por su seguridad, ya que la exposición a los medicamentos que podrían llegar a utilizarse para el tratamiento del TLP, así

como la estimulación magnética podría involucrar riesgos no previstos para usted o el embrión en caso de que se llegue a embarazar.

Confidencialidad: Toda la información clínica será manejada por medio de códigos que hacen imposible su identificación por nombre completo. La información que incluya su nombre, dirección u otros datos personales solo será registrada en el expediente del protocolo de investigación, el cual solo será consultado por los investigadores involucrados en el estudio. La información será guardada por un periodo máximo de cinco años. Si los resultados de esta investigación fueran presentados en artículos científicos, congresos o reuniones médicas y científicas, su identidad no será revelada. En caso de que los estudios o las evaluaciones llevadas a cabo durante el estudio, muestren hallazgos que se consideren de importancia para la evolución y/o tratamiento del cuadro clínico, se solicitara su autorización para ser comunicados a su médico tratante.

Riesgos y molestias: Debido a que la estimulación magnética puede inducir crisis convulsivas en aquellas personas que las han presentado previamente o que tienen riesgo de presentarlas; para que usted pueda ser incluido(a) en este estudio, se solicitara de forma indispensable que cuente con un EEG normal. Asimismo la EMTr puede ser dañina para las personas que portan objetos metálicos en la cabeza (como clipajes, placas, tornillos), en los ojos o en el cerebro (como esquirlas). También para personas con marcapaso o electrodos cardiacos. Si usted se encuentra en alguna de estas situaciones, por favor informe a su médico.

Eventos adversos: En caso de presentar cualquier evento no esperado (malestares, molestias o enfermedades) en el tiempo que dure este estudio, deberá comunicarlo al médico cuanto antes. Todos los eventos adversos relacionados o no con este tratamiento serán registrados y reportados al comité de ética de este instituto.

Participación Voluntaria / Suspensión de la Participación: Su participación en este estudio es voluntaria. Puede rehusarse a participar o suspender su participación en el estudio en cualquier momento. Por otro lado, si los médicos consideran que continuar en el estudio no es la mejor alternativa para su tratamiento clínico, será retirado del estudio en ese momento. Se le informará acerca de cualquier hallazgo significativo que surja durante el curso de esta investigación que pueda estar relacionado con su deseo de seguir formando parte del estudio. En caso de que usted no desee participar no se le negará el cuidado médico que requiera.

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**He leído la carta de consentimiento informado y entiendo de qué se trata el estudio. He hablado directamente con el responsable del estudio y ha contestado todas mis preguntas en términos que he podido entender. Puedo hacer cualquier pregunta en cualquier momento de la investigación. Recibí una copia de esta hoja de información.**

#### **ACEPTO VOLUNTARIAMENTE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.**

**Entiendo que puedo suspender mi participación en el estudio en cualquier momento sin que esto tenga consecuencias en mi relación con la institución. Mi identidad no será revelada en ninguna referencia del estudio o sus resultados. Además, recibí una copia de la carta de consentimiento.**

Si tengo dudas o requiero información adicional respecto al estudio, puedo comunicarme con el Dr. Francisco Javier Vegas Rodríguez (tel. 4160-5372), consultorio número 7 del modulo C del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; o con el Dr. Jorge Julio González Olvera (tel. 4160-5349) 5352.

México D.F. a \_\_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_.

Paciente (Nombre): \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Testigo 1: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Testigo 2: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Investigador Principal \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

En caso de encontrar hallazgos durante los estudios o la realización del protocolo y que sean importancia para la evolución y/o tratamiento del cuadro clínico, autorizo al investigador a informar a mi medico tratante de dichos hallazgos

Si \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

En caso de suspender mi colaboración, autorizo que sigan utilizando mi información hasta que concluya la investigación:

Si \_\_\_\_\_

No \_\_\_\_\_

Paciente (Nombre): \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

### **Carta de consentimiento informado para el resguardo de muestras biológicas**

#### **Título del proyecto:**

Estimulación Magnética Transcraneal Repetitiva en trastorno límite de la personalidad: Efectos sobre las variables clínicas y los procesos de inhibición, flexibilidad cognitiva y cognición social.

#### **Título del *addendum*:**

Cambios en la expresión proteica inducidos por la estimulación magnética transcraneal en las células del epitelio olfatorio de pacientes con diagnóstico de Trastorno Límite de Personalidad valorados con microarreglos.

El epitelio olfatorio es considerado como una fuente de células madre/precursoras que cuando se obtienen y se mantienen in vitro se pueden evaluar algunas alteraciones que se presentan en la generación de neuronas en padecimientos neuropsiquiátricos.

En caso de que usted consienta el resguardo de su muestra de células del epitelio olfatorio, es importante que sepa que ésta muestra será codificada con números que no hacen posible la identificación del participante. El código numérico sólo será registrado en los

formatos de investigación que estarán bajo resguardo del Dr. Jorge Julio González Olvera quién es el responsable del proyecto.

También es importante que usted sepa que si los resultados de esta investigación son presentados en algún foro su identidad no será revelada.

En caso de aceptar el resguardo del material biológico, éste será guardado por un periodo de 5 años, en caso de requerir la utilización del mismo posterior a este tiempo se solicitara su autorización en el momento correspondiente. En caso de que usted no quiera que su muestra quede almacenada, esta será destruida al concluir el análisis; sin que se vea afectada la atención médica que recibe en la Institución.

Si tiene alguna duda favor de comunicarse al teléfono: 41605343 con el doctor Jorge Julio González Olvera.

Estoy de acuerdo en que la muestra del epitelio olfatorio sea almacenada en el laboratorio de Neurogénesis de la Subdirección de Investigaciones Clínicas durante 5 años y que sólo sea utilizada para estudios relacionados con este proyecto.

SI

NO

Firma del participante: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_