



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE MEDICINA
FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Posgrado

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS ASOCIADAS CON LA NEUROGÉNESIS EN
PACIENTES CON TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR QUE RECIBIERON
TRATAMIENTO CON ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL REPETITIVA
APLICADA EN LA CORTEZA PREFRONTAL DORSOLATERAL IZQUIERDA.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRÍA

PRESENTA

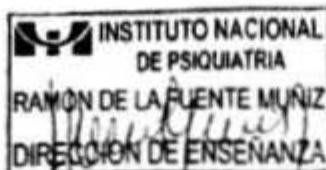
ALAN PATRICK DAVALOS GUZMÁN

Tutor Metodológico

Dr GERARDO BERNABE RAMIREZ RODRIGUEZ

Tutor Teórico

Dr. JORGE JULIO GONZALEZ OLVERA



Ciudad Universitaria, 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

1. Antecedentes

1.1	Trastorno depresivo mayor.....	4
1.2	Epidemiología del trastorno depresivo mayor.....	6
1.3	Costos sociales y económicos del trastorno depresivo mayor...	6
1.4	Patogénesis de la depresión.....	7
1.5	Neurogénesis en el hipocampo adulto.....	11
1.6	Biomarcadores de neurogénesis.....	12

2. Marco teórico

2.1	Neurogénesis en trastorno depresivo mayor.....	13
2.2	Neurogénesis en el epitelio olfatorio.....	14
2.3	Estimulación magnética transcraneal.....	15
2.4	Estimulación magnética transcraneal en trastorno depresivo mayor.....	16

3. Planteamiento del problema.....

4. Justificación.....

5. Preguntas de investigación.....

6. Hipótesis.....

7. Objetivos.....

8. Material y Métodos

8.1	Tipo y diseño de estudio.....	20
-----	-------------------------------	----

8.2	Tamaño de la muestra y población a estudiar.....	20
8.3	Criterios de inclusión para participantes.	21
8.4	Criterios de exclusión para participantes.....	21
8.5	Criterios de eliminación.....	22
8.6	Variables.....	22
8.7	Escalas de medición.....	23
8.8	Procedimiento.....	25
8.9	Protocolo de Estimulación magnética transcraneal.....	26
8.10	Obtención de muestra de mucosa olfatoria.....	27
8.11	Análisis de la muestra por el método de microarreglos.....	28
8.12	Flujograma.....	29
8.13	Análisis estadístico.....	30
8.14	Aspectos éticos y financieros.....	31
9.	Resultados	
9.1	Resultados de la muestra y características demográficas.....	33
9.2	Resultados de clinimetría.....	36
9.3	Resultados del análisis de las muestras de epitelio olfatorio por el método de microarreglos.....	40
10.	Discusión.	45
11.	Conclusiones.	48
12.	Referencias.	49

1 Antecedentes.

1.1 Trastorno depresivo mayor

El trastorno depresivo mayor es un padecimiento asociado a altas tasas de incapacidad a nivel mundial, lo que lo convierte en uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (1). El Manual del DSM-5 de la Asociación Psiquiátrica Americana define a el trastorno depresivo mayor como un patrón constante de ánimo triste y disminución en el interés o el placer en casi todas las actividades, los cuales se han presentado la mayor parte del tiempo durante 2 semanas, acompañados de tres o más síntomas que incluyan: Alteraciones en el apetito, con disminución o aumento que condicionen un cambio de 5% del peso corporal en un mes. Alteraciones en el sueño, con insomnio o hipersomnias, presentes casi todos los días. Agitación psicomotora o por el contrario retraso psicomotor. Disminución marcada en la energía. Pensamientos de minusvalía o de culpa excesiva presentes casi todos los días. Disminución en la concentración o la capacidad de tomar decisiones. Pensamientos de muerte, que involucren ideas suicidas recurrentes con o sin un plan estructurado. Además estos síntomas causan un malestar y disfunción significativa en el sujeto y no se deben al efecto de alguna sustancia u otra afección médica (2).

Pueden encontrarse descripciones sobre el fenómeno de la depresión desde la cultura griega clásica, Hipócrates, utilizando como marco la teoría de los humores, la atribuyó a un desequilibrio ocasionado por un exceso de bilis negra, de ahí que empezara a conocerse con el nombre de melancolía (μελαγ: melán, negro; χολη: kholé, bilis). En la Grecia del siglo I los clínicos entre quienes estaba Galeno, postularon que las variaciones en el temperamento de los individuos predisponen a algunas personas a experimentar más intensamente la tristeza o el miedo. Sin embargo, se pensó que estas variaciones estaban dentro de un rango normal de respuestas razonablemente proporcionadas que no representaban un trastorno. De este modo, los trastornos depresivos diferían de las reacciones normales, ya que o bien se presentaban en ausencia de situaciones que normalmente producían tristeza o eran de magnitud o duración desproporcionada en relación con sus factores desencadenantes (3).

En el siglo XVIII el Dr. Richard Blackmore, médico de Guillermo III de Inglaterra acuña el término depresión para referirse a un estado de "*profunda tristeza y melancolía*". Después del renacimiento médicos como Thomas Willis y posteriormente William Cullen asociaron la depresión como una consecuencia de alteraciones en el cerebro.

Actualmente gracias a los avances en las neurociencias y en la farmacología se ha obtenido una mejor comprensión sobre los mecanismos detrás de la sintomatología depresiva (3).

1.2 Epidemiología del trastorno depresivo mayor.

A nivel mundial, encuestas comunitarias representativas en 14 países reportaron que la depresión tiene una prevalencia de 12%, en países desarrollados de Europa y en Estados Unidos de América la prevalencia es de 18%, en países en vías de desarrollo como México y Brasil se estima una prevalencia del 9% (4). Respecto al género se estima que la depresión es 2 veces más frecuente en mujeres que en hombres (5).

En México se ha reportado una prevalencia a lo largo de la vida de depresión de 3.3% en la población general, en los pacientes que acuden a primer nivel de atención se encuentra una prevalencia del 10% y en pacientes hospitalizados una prevalencia del 15% (6).

1.3 Costos sociales y económicos del trastorno depresivo mayor.

Debido a la alta prevalencia de la depresión así como a la disfunción social y laboral que puede desencadenar en los individuos, presenta un gran impacto económico y social. En 2010 en Estados Unidos se estimó una pérdida de 210 mil millones de dólares como consecuencia del trastorno depresivo mayor presente en aproximadamente 15 millones de habitantes.

El 50% de este costo económico se asoció a ausentismo laboral y menor productividad, 45% se atribuyó a costos directos para el tratamiento de la enfermedad y 5% a costos asociados a suicidios en personas con depresión (7).

1.4 Patogénesis de la depresión

Actualmente se considera que la depresión es una entidad multifactorial, que presenta diversos factores de riesgo neurobiológicos y psicosociales (8).

Factores genéticos: Hasta la actualidad no se han identificado genes específicos que contribuyan a la vulnerabilidad para el desarrollo de la depresión, se considera que la interacción gen-ambiente puede tener mayor asociación en esta entidad, esto en base a que múltiples estudios genéticos, incluyendo análisis de polimorfismo de un solo nucleótido, análisis de genes únicos y estudios de asociación a nivel genómico no han generado hallazgos contundentes y replicables que identifiquen genes específicos que se relacionen con un riesgo de desarrollar trastorno depresivo mayor (9).

Se han propuesto factores epigenéticos en la fisiopatología de la depresión, un estudio que examinó 6 pares de gemelos monozigóticos que fueron discordantes para una historia de por vida de un trastorno de ansiedad o depresión.

El estudio mostró que las mayores diferencias de metilación entre los gemelos se encontraron en genes previamente asociados con trastornos neuropsiquiátricos, incluyendo la depresión, entre ellos *CACNA1C*, *IGF2* y *MAPK11* (10). También se han identificado genes que se asocian a una mejor respuesta a antidepresivos, entre ellos se encuentran el 5-HTTLPR, BDNF y TPH1 (11).

Alteraciones en Neurotransmisores: Una de las primeras teorías que intentaron explicar alteraciones funcionales a nivel cerebral en la depresión es la teoría de las monoaminas, que propone una deficiencia funcional de las principales monoaminas en la corteza cerebral (serotonina, dopamina y noradrenalina), además se ve alterada la función del glutamato y Acido gamma-aminobutirico (GABA) (12). Actualmente se considera que esta dinámica es más compleja, al estar también implicadas cascadas intracelulares desencadenadas por las monoaminas, que tienen un papel en la génesis de la depresión y en la respuesta al tratamiento (13).

Alteraciones neuroendocrinas: Se ha encontrado también una producción aumentada de hormona liberadora de corticotropina e hipercortisolemia, lo que conlleva a disminución en la neurogénesis y atrofia hipocampal ante la secreción excesiva de glucocorticoides por tiempos prolongados (14).

Alteraciones Neuroanatómicas: Existe evidencia de una menor densidad y número de neuronas y de células de la glía en la corteza prefrontal y la corteza occipital, además de un menor volumen del hipocampo y un aumento en el tamaño de los ventrículos cerebrales, además de una disminución del flujo sanguíneo y del metabolismo en la corteza prefrontal, tálamo y ganglios basales (15). Existen hallazgos sobre anomalías en la conectividad en la depresión, entre los cuales se encuentra una hiperconectividad dentro de la red neuronal por defecto, que se ha propuesto estar implicada en pensamientos auto-referenciales. También se ha encontrado hipoconectividad dentro de la red frontoparietal, además de un desbalance en la conectividad entre los sistemas de control y regiones implicadas en la dirección de la atención entre estímulos externos y el medio interno, hallazgos que apoyan modelos teóricos en los que la depresión se caracteriza por la tendencia a la rumiación o repetición de pensamientos negativos (16).

Factores inflamatorios: hay un aumento de biomarcadores inflamatorios a nivel periférico, como proteína C reactiva, Factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 6 en pacientes con depresión en comparación con controles. También se ha asociado el aumento de marcadores inflamatorios con una disminución en la respuesta al tratamiento antidepresivo (17).

Sin embargo no está claro que el aumento de factores inflamatorios a nivel periférico refleje un aumento de los mismos en el sistema nervioso central (18). La hipótesis de que la inflamación puede estar asociada con la depresión también es apoyada por resultados positivos en ensayos clínicos aleatorizados de fármacos anti-inflamatorios en pacientes deprimidos (19).

Factores psicológicos: Existen muy diversas aproximaciones sobre la génesis de la depresión en el área de la psicología, los cognitivistas postulan que presentan más riesgo de desarrollarla los individuos con distorsiones cognitivas (20), También existen modelos en los cuales los patrones de personalidad pueden contribuir a la aparición y el curso de la depresión a través de una variedad de vías, en lo cual están implicados rasgos mal adaptativos (21), modelos en los cuales el neuroticismo se presenta otro factor de riesgo, este consiste en una inestabilidad emocional, con tendencia a la ansiedad y la culpa. En las teorías psicodinámicas se asocia a una pérdida, ya sea de un objeto externo o de parte del propio Self (22).

Factores sociales: Principalmente se han descrito como factores de riesgo, ser receptor de críticas y violencia por parte de familiares y de pareja, escasas relaciones sociales y depresión en una persona cercana ya sea en familiares, pareja o amigos (23).

- **Estados depresivos secundarios a otra enfermedad médica o a medicamentos:** Enfermedad de Parkinson, Epilepsia, enfermedad de Alzheimer, enfermedades cerebrovasculares, traumatismos craneoencefálicos, Isquemia coronaria, Diabetes Mellitus e hipotiroidismo. Como medicamentos se han asociado los glucocorticoides y el uso de interferón (24).

1.5 Neurogénesis en el hipocampo adulto

A partir de las observaciones de científicos como Ramón y Cajal, durante décadas existió el dogma de que el conteo de las neuronas individuales permanece estable a lo largo de los años y no se llevaba a cabo formación de nuevas neuronas en la vida adulta. Durante la segunda mitad del siglo XX por medio de técnicas de microscopía electrónica en estudios post-mortem, se ha visualizado división celular en población neuronal en la zona subventricular de los ventrículos laterales y en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo (25).

En 1998 Erikson demostró que la neurogénesis se lleva a cabo también en el cerebro adulto del humano (26). Este proceso se lleva a cabo por células madre y por los precursores neuronales que se encuentran en estado quiescente relativo y pueden activarse por estímulos internos o externos (27). Posteriormente Spalding y colaboradores por medio de análisis de carbono 14 en habitantes de zonas afectadas por radiación de pruebas nucleares durante la guerra fría, describieron que cerca de 700 nuevas neuronas se agregan diariamente en el hipocampo (28).

1.6 Biomarcadores de neurogénesis

Un biomarcador es una característica que es medida objetivamente y sirve como indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o de respuesta a intervenciones terapéuticas. Durante los últimos años se han buscado biomarcadores de respuesta terapéutica para padecimientos del sistema nervioso central, sin embargo existe dificultad en su obtención debido a la poca disponibilidad de muestras de tejido apropiadas. Por lo cual se ha recurrido a buscar biomarcadores en tejidos periféricos o biomarcadores del sistema nervioso central fácilmente accesibles (29). Diversos biomarcadores se pueden utilizar en procesos inmunohistoquímicos para identificar tipos celulares en modelos animales, entre estos biomarcadores se encuentran: PCNA, Ki67, MCM2, Sox2, Pax6, EAAT1 y EAAT2 (27).

Sin embargo, en el ser humano la falta de biomarcadores del proceso de neurogénesis que se puedan utilizar en la práctica clínica es una limitante para descubrir nuevos métodos de diagnóstico y respuesta al tratamiento en padecimientos del sistema nervioso central. Con este fin se ha realizado la búsqueda de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo y en sangre periférica, los cuales son fácilmente accesibles, pero hasta la fecha se han identificado pocos factores que sirvan como candidatos a este fin (30).

2 Marco teórico.

2.1 Neurogénesis en trastorno depresivo mayor.

Boldrini y colaboradores describieron que en los sujetos con depresión hay un 50% de disminución en la proliferación de neuronas del hipocampo en comparación con el grupo control, sin embargo no se consideró significativo el resultado por una muestra insuficiente. Sin embargo en los sujetos con depresión que recibieron tratamiento se encontró un aumento en la proliferación celular y en el número total de células troncales en el hipocampo en comparación con sujetos que no recibieron medicación, cabe destacar que el aumento en la proporción de neurogénesis en estos casos fue más pronunciado en la parte anterior del giro dentado, que está involucrada en la afectividad y en la regulación neuroendocrina (31).

2.2 Neurogénesis en el epitelio olfatorio.

Una estrategia prometedora es identificar biomarcadores que se expresen en la mucosa olfatoria, donde se han visto marcadores de astrocitos como GFAP, marcadores neuronales y subtipos de receptor de glutamato, receptores de factor de crecimiento neuronal, así como neurotransmisores como GABA y glutamato (32). El epitelio olfatorio es una zona neurogénica en la que al igual que en el hipocampo la generación de neuronas ocurre de manera constitutiva durante la etapa adulta presentando un decline marcado durante el envejecimiento. Al igual que en el hipocampo, la formación de neuronas en el epitelio olfatorio ocurre a partir de células troncales/precursoras. De tal modo que en esta región, externa al cerebro, también ocurren cambios neuroplásticos entre los que se encuentra la neurogénesis (33). En un estudio reciente de Sattler y colaboradores emplearon tianfenicol, un fármaco con efecto conocido de aumentar la expresión del transportador de glutamato EAAT2, posteriormente por medio de análisis por inmunofluorescencia en biopsias de mucosa olfatoria de ratones y en humanos que recibieron el medicamento, encontraron un aumento en la expresión de EAAT2 como respuesta al tratamiento en ambos grupos (34), razón por la cual se ha propuesto al epitelio olfatorio como una zona en la cual se puede monitorear los efectos benéficos de intervenciones farmacológicas.

2.3 Estimulación magnética transcraneal

La Estimulación Magnética Transcraneal es una técnica neurofisiológica que permite la inducción de corriente eléctrica en el cerebro. Barker y colaboradores en 1984 desarrollaron un estimulador capaz de despolarizar neuronas en la corteza cerebral, con lo cual activando vías corticoespinales lograron inducir movimientos en el área contralateral del cuerpo (35). Desde entonces se ha utilizado para el estudio de la excitabilidad cortical y en el mapeo de funciones cerebrales corticales, gracias a su capacidad de activar o interferir en funciones cerebrales ha permitido establecer relaciones causales entre actividad cerebral y comportamiento y no simplemente correlaciones, como se obtienen con otras técnicas neurofisiológicas o de neuroimagen. Además, cuando se aplica de forma repetitiva es capaz de modular la actividad cerebral en la región cortical afectada más allá de la duración de la estimulación misma, lo que permite explorar aplicaciones terapéuticas (36).

2.4 Estimulación magnética transcraneal en trastorno depresivo mayor

La estimulación magnética transcraneal se comenzó a utilizar como tratamiento de la depresión en la década de los noventa, la técnica consistía en aplicar impulsos individuales en el vertex, con lo cual se obtenía una respuesta terapéutica mínima. Poco después, ante el hallazgo de que existía una disminución en la actividad en la corteza prefrontal dorsolateral izquierda, se modificó la técnica aplicando en dicha área pulsos repetitivos de alta frecuencia, con periodos de tratamiento de aproximadamente 6 semanas de duración, esta técnica continúa vigente en la actualidad y con ella se ha encontrado respuesta clínica (37).

3 Planteamiento del problema.

El trastorno depresivo mayor es uno de los trastornos psiquiátricos que causan mayor disfunción social y económica, siendo uno de los padecimientos que originan mayores índices de discapacidad, debido a esto es importante indagar sobre la fisiopatología, así como en las bases biológicas sobre las que actúan las diversas modalidades terapéuticas y en el desarrollo de marcadores que ayuden al estudio de la respuesta al tratamiento.

4 Justificación.

Hasta el momento existe evidencia sobre la eficacia del tratamiento por estimulación magnética transcraneal en el trastorno depresivo mayor, sin embargo no se han dilucidado los mecanismos implicados en esta respuesta, debido a la presencia de una disminución en el proceso de neurogénesis en el trastorno depresivo mayor es importante estudiar si existe relación entre la respuesta antidepressiva al tratamiento con estimulación magnética transcraneal con una normalización en el proceso de neurogénesis, la cual ocurra con cambios en proteínas de secreción que puedan servir, en un futuro, como biomarcadores de este trastorno.

5 Preguntas de investigación.

1. Los pacientes con trastorno depresivo mayor que reciban estimulación magnética transcraneal repetitiva a 5 Hz aplicada sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda ¿presentarán elevación de factores relacionados con neurogénesis en la mucosa olfatoria en relación con el grupo control que recibió inhibidores selectivos de recaptura de serotonina únicamente?
2. ¿El aumento en la detección de factores relacionados con la neurogénesis tendrá correlación con mayor respuesta al tratamiento con estimulación magnética transcraneal?

6 Hipótesis.

1. La estimulación magnética transcraneal repetitiva a 5 Hz, aplicada sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda, tendrá efecto sobre el aumento en la detección de factores relacionados con neurogénesis en comparación con el grupo que no recibió el tratamiento y solo recibió inhibidores selectivos de recaptura de serotonina.
2. Un aumento en la detección de factores relacionados con neurogénesis se correlacionará con mayores índices de respuesta por valoración clínicométrica por medio de la escala de Hamilton para evaluar severidad de depresión y del Inventario de Beck de depresión.

7 Objetivos

7.1 Objetivo general:

Determinar si por medio de muestras de la mucosa olfatoria es posible detectar factores relacionados con neurogénesis como respuesta al tratamiento por estimulación magnética transcraneal aplicada sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda repetitiva a 5 Hz.

7.2 Objetivos particulares:

- Evaluar el efecto de la estimulación magnética transcraneal repetitiva a 5 Hz, aplicada sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda, sobre el aumento en la detección de factores relacionados con neurogénesis por medio de microarreglos de anticuerpos en comparación con un grupo control que recibió inhibidores selectivos de recaptura de serotonina únicamente.
- Evaluar si un mayor índice de respuesta antidepresiva al tratamiento con estimulación magnética transcraneal repetitiva a 5 Hz, aplicada sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda, se asocia a una mayor detección de factores relacionados con neurogénesis.

8 Material y método.

8.1 Tipo y diseño de estudio

- Estudio de casos y controles
- Será un estudio analítico, longitudinal, prospectivo y experimental.

8.2 Tamaño de la muestra y población a estudiar.

En este proyecto se incluyeron a pacientes con diagnóstico de trastorno depresivo mayor que fueron reclutados del servicio de consulta externa del Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente". Se empleó un muestreo de tipo no-probabilístico de tipo intencional, con el objetivo de obtener casos representativos que reúnan las características de interés a estudiar. El tamaño de la muestra fue determinada por análisis de potencia usando el tamaño del efecto estimado previamente por Klein y col. (38) y Pascual-Leone y cols. (39) (de diferencias en respuesta entre grupos de EMTr, 90% de potencia, y una significancia de $p < .05$ a una sola cola), donde es necesario una $n=10$ sujetos por grupo (curso) de estimulación, se ha estimado que grupos de 10 participantes por curso de estimulación han sido suficientes para mantener potencia estadística (40). Los individuos serán distribuidos en 2 grupos, en donde uno recibirá tratamiento con estimulación magnética transcraneal repetitiva y un grupo control que recibirá tratamiento farmacológico con inhibidores selectivos de recaptura de serotonina.

8.3 Criterios de inclusión para participantes.

Pacientes de ambos sexos, de 18 a 60 años de edad, que sean pacientes subsecuentes y con número de expediente en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente; con diagnóstico principal de Trastorno depresivo mayor de acuerdo a los criterios del DSM 5; así como la valoración de un clínico experto, que estén en un primer episodio de depresión o no hayan tenido un episodio depresivo mayor en los últimos 2 años, que no presenten resistencia farmacológica al tratamiento antidepresivo y que acepten firmar carta de consentimiento informado.

8.4 Criterios de exclusión para participantes.

Sujetos con riesgo suicida, que estén en tratamiento con fármacos antidepresivos que no sean de la familia de los inhibidores selectivos de recaptura de serotonina, fármacos anti cólicos, que tengan antecedentes de traumatismo craneoencefálico con pérdida de estado de conciencia, objetos metálicos intracraneales o placas metálicas en cráneo, que padezcan enfermedades medicas no controladas (hipertensión, diabetes, enfermedades reumáticas); pacientes con síntomas psicóticos, trastornos afectivos bipolares, trastorno limite de personalidad y dependencia a sustancias, así como pacientes con cualquier tipo de enfermedad neurológica.

8.5 Criterios de eliminación.

- Pacientes que no completen el estudio por molestias relacionadas a la aplicación de EMTr o a las pruebas clinimétricas
- Pacientes que no asistan a dos sesiones de evaluación de forma consecutiva, que deseen abandonar el estudio por voluntad propia;
- En el caso de ser mujeres, que se embaracen durante el periodo de realización del estudio.
- Pacientes que tras la realización de registro electroencefalográfico se identifique la presencia de actividad paroxística o alguna anomalía electroencefalográfica.

8.6 Variables.

Variable	Clasificación	Medición
	SOCIO DEMOGRAFICAS	
Genero	Catógica	Femenino/Masculino
Edad	Dimensional	Años
Escolaridad	Dimensional	Años
	CLINICAS	
Gravedad de Trastorno depresivo mayor.	Dimensional	Puntaje de Escala de Hamilton de depresión e Inventario de Beck de depresión
Expresión proteica por microarreglos	Dimensional	Densidades ópticas

8.7 Escalas de medición.

Escala de depresión de Hamilton de 21 elementos

La escala de depresión de Hamilton fue publicada en 1960 por Max Hamilton y ha recibido varias revisiones durante los años siguientes (41). Desde entonces ha sido una de las escalas más utilizadas a nivel mundial para evaluar objetivamente los síntomas de depresión en el adulto. Las versiones más ampliamente aceptadas cuentan con 17 y 21 ítems, El puntaje de gravedad se basa en los primeros 17 ítems, mientras que los últimos 4 brindan información clínica adicional que orientan a diferentes subtipos de depresión (42). La escala se aplica por un profesional capacitado después de que el paciente haya recibido el diagnóstico clínico de depresión, 8 preguntas se puntúan con valores de 0 a 5 mientras que 9 preguntas se puntúan de 0 a 2, para la evaluación los puntajes de cada pregunta son sumados. Las puntuaciones de 0-7 se consideran normales, 8-16 sugieren depresión leve, 17-23 depresión moderada y puntuaciones mayores de 24 son indicativas de depresión grave (42). La escala cuenta con una buena consistencia interna, con un alfa de Cronbach entre 0,76 y 0,92. El coeficiente de correlación intraclase es de 0,92. La confiabilidad interevaluador oscila entre 0,65 y 0,9. Su correlación con otros instrumentos de valoración de la depresión como la Escala de

Depresión de Montgomery-Asberg o el Inventario de Sintomatología de Bech oscila entre 0,8 y 0,9. Es muy sensible al cambio terapéutico (43).

Inventario de depresión de Beck

El inventario de depresión de Beck se ha posicionado como una de las pruebas clinimétricas más utilizadas para evaluar la depresión. La segunda edición elaborada en 1996 para reflejar mejor los cambios en el DSM IV (44), es la más aceptada y consiste en un cuestionario auto aplicable de 21 elementos, cada uno de los cuales se puntúa de 0 a 3, para la calificación se procede a sumar la puntuación de todos los elementos. La interpretación se realiza en base a los siguientes puntos de corte: 0-13 se considera rango mínimo, 14-19 sintomatología leve, 20-28 moderada y 29-63 grave (45). Al igual que la escala de Hamilton de depresión, el inventario de depresión de Beck ayuda a cuantificar la gravedad de los síntomas depresivos. Al ser una escala autoaplicable cuenta con algunas ventajas respecto a las escalas aplicadas por el clínico, ya que es necesario menos tiempo para elaborarla, no requiere personal capacitado, y su administración y el proceso de puntuación parecen estar más estandarizados, sin embargo como en todos los cuestionarios autoaplicables es recomendable la evaluación clínica para corroborar la información (46). La consistencia interna se considera buena, con un alfa de Cronbach que oscila de 0,92 a 0,94.

Respecto a la validez concurrente, el inventario de depresión de Beck mostró puntuaciones de correlación de 0.73 con la escala de Hamilton de depresión (47)

8.8 Procedimiento.

Los participantes fueron referidos por sus médicos tratantes en base a los criterios de inclusión y exclusión de la muestra, los cuales fueron corroborados por el investigador de forma previa a la evaluación inicial del protocolo. A los participantes que cumplieron con los criterios de selección se les explicó el estudio y se les solicitó su firma para la carta de consentimiento informado. Los participantes se dividieron en 2 grupos de forma no aleatorizada de acuerdo a disponibilidad de tiempo, a ambos grupos se les aplicó la escala de Hamilton de depresión y el Inventario de depresión de Beck previo a realizar la intervención, posteriormente a ambos grupos se les realizó una toma de muestra de epitelio olfatorio mediante cepillado la cual fue posteriormente procesada como se detalla más adelante. Los participantes del grupo experimental recibieron tratamiento en monoterapia con estimulación magnética transcranial repetitiva (EMTr) aplicada sobre la región correspondiente a la corteza prefrontal dorsolateral izquierda. Los participantes del grupo control recibieron tratamiento farmacológico con antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS) en monoterapia. En ambos grupos se realizó una segunda medición con la escala de Hamilton de

Depresión y el inventario de depresión de Beck, además de una segunda muestra de epitelio olfatorio, en el grupo experimental se realizó la segunda medición al finalizar 20 sesiones de EMTr, en el grupo control se realizó la segunda medición después de 8 a 12 semanas de tratamiento con ISRS.

8.9 Protocolo de Estimulación magnética transcraneal repetitiva.

Para la estimulación magnética transcraneal se utilizó un estimulador rápido Dantec Magpro, equipado con una bobina en forma de 8, de 50mm de diámetro interno, en las instalaciones del INPRF. Se realizó en un área con el equipo y personal necesarios para atender cualquier evento convulsivo que se pudiera presentar.

Cada participante del grupo experimental recibió 20 sesiones de tratamiento, recibiendo de 4 a 5 sesiones por semana, con una duración total del tratamiento de 4 a 5 semanas. Se llevó a cabo un registro diario de los parámetros de estimulación, así como probables molestias y observaciones generales.

En cada sesión, se estableció el umbral motor en cada paciente con el método visual, estimulando la región motora primaria izquierda (M1) con pulsos simples y observándose el movimiento del abductor corto del pulgar contralateral a la región motora.

La estimulación se otorgó a una frecuencia de 5 Hz al 100% del umbral motor de cada paciente y en cada sesión se aplicaron 30 trenes de 10 segundos de duración separados por pausas de 10 segundos entre cada tren.

8.10 Obtención de muestra de mucosa olfatoria

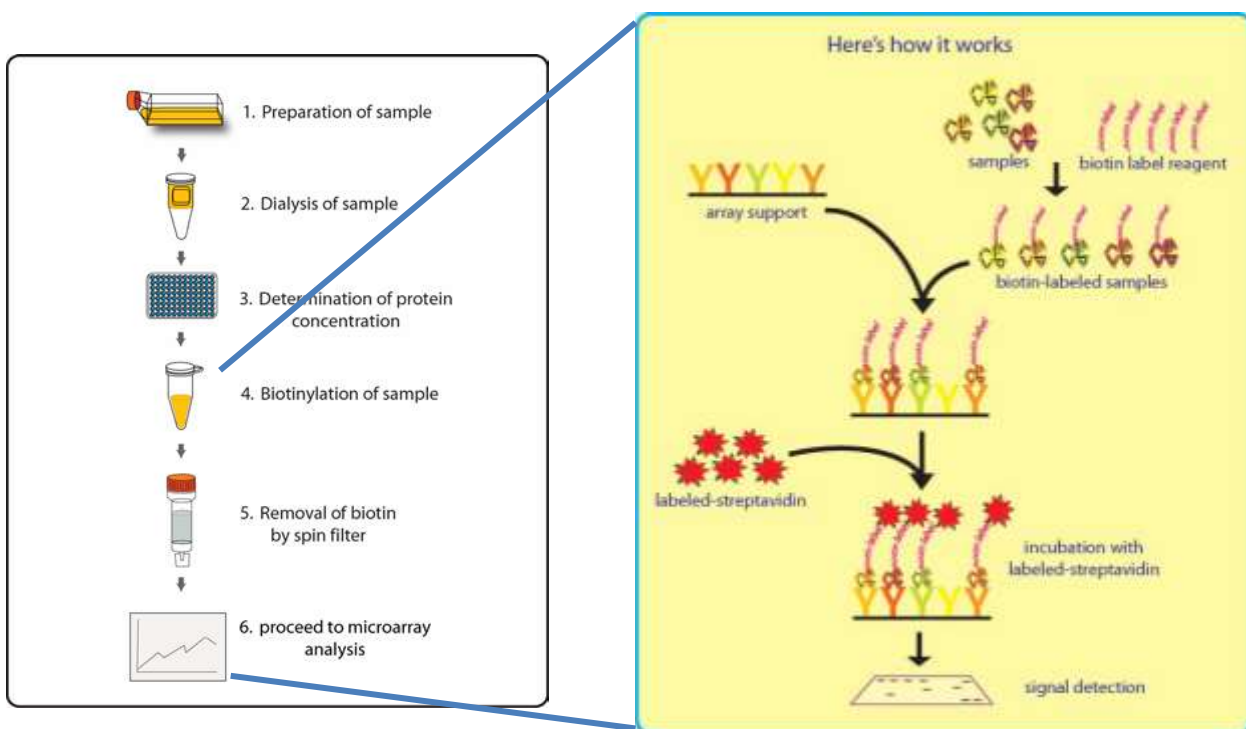
Las células del epitelio olfatorio se obtendrán de acuerdo a lo que reportamos recientemente (48). Al participante se le hará un lavado nasal con una solución isotónica, seguido de la limpieza de las fosas nasales con papel desechable para aplicar un anestésico local. Posteriormente, las células del epitelio olfatorio se obtendrán realizando un cepillado del área turbinada. Las células contenidas en el cepillo serán recuperadas en una solución amortiguadora de fosfatos (SAF) contenida en un tubo cónico. Todas las células se recuperarán por centrifugación a baja velocidad (3000xg) durante 5 minutos. Finalmente, las células serán resuspendidas en medio neurobasal suplementado con 2% de suplemento B27, antibióticos y en presencia de factores de crecimiento (EGF y FGF, 20 ng/ml de cada uno) para ser cultivadas en cajas de plástico. Una vez que se alcance el 75% de confluencia, aproximadamente en 2 semanas, las células del epitelio olfatorio serán desprendidas con tripsina 0.025% y EDTA para ser transferidas a botellas de cultivo.

Posteriormente, las células se pasarán a placas de plástico y 48 horas después se colectará el medio de cultivo que contendrá a los factores solubles que serán identificados y analizados con los microarreglos.

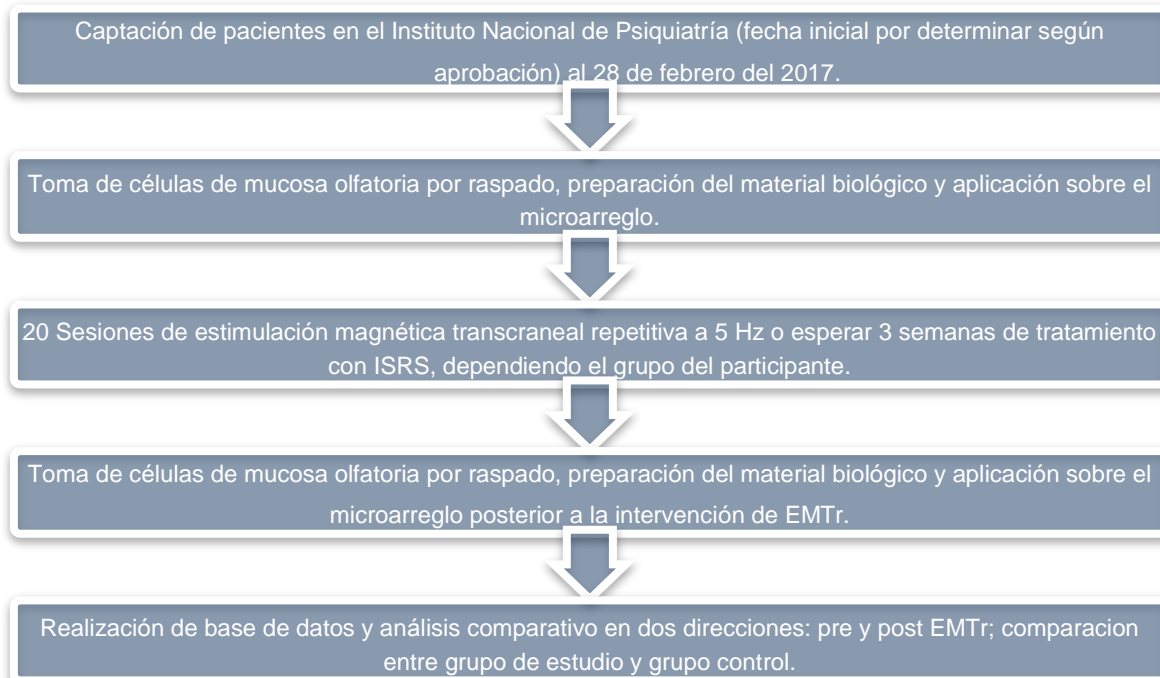
8.11 Análisis de la muestra por el método de microarreglos

Las muestras obtenidas se analizarán utilizando el método de microarreglos con detección por anticuerpos por medio del equipo RayBio® BiotinLabel-basedAntibodyArray ("L-Series") por medio del cual se pueden detectar hasta 540 factores proteicos, incluyendo citocinas, quimiocinas, adipocinas, factores de crecimiento, proteasas, receptores solubles y factores de adhesión. 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 adicionarán a los microarreglos y se incubarán con un conjugado de estreptavidina. Finalmente, se adicionará un sustrato para generar una señal quimioluminiscente que será detectada en un fotodocumentador (Figura 1). Las imágenes serán transferidas a un analizador de imágenes ("ImageJ") donde se determinaron los cambios en las densidades ópticas, los cuales se correlacionan con el grado de expresión proteica. Para determinar el grado de variación en las densidades ópticas se calculó la diferencia de los resultados post y pretratamiento, se analizaron estas variaciones para las principales proteínas relacionadas con neurogénesis

Figura 1. Método para el procesamiento de las células



8.12 Flujoograma.



8.13 Análisis estadístico.

La descripción de las características demográficas y clínicas de la muestra se realizará con frecuencias y porcentajes para las variables categóricas y con medias y desviaciones estándar para las variables continuas. Se realizará un análisis comparativo de la expresión proteica reportada en los microarreglos de cada paciente previo a la intervención y posterior a esta por medio del cálculo del *fold change* (O variaciones en el número de veces que cambia un valor) de las densidades ópticas entre cada spot, tomándose por consenso un *fold change* ≥ 2 como significativo (49). Posteriormente se compararon los resultados entre ambos grupos para identificar variaciones en la expresión posiblemente asociadas a cada intervención.

Para evaluar la respuesta clínica al tratamiento se realizará la evaluación estadística de las escalas clinimétricas se realizó con el programa SPSS 23.0 por medio de análisis de varianza de medidas repetidas, con dos niveles pre y post intervención dentro de los grupos y dos niveles para evaluar diferencias entre los grupos.

8.14 Aspectos éticos y financieros.

A Todos los participantes incluidos en este estudio se les explicó de forma detallada en qué consistió el proyecto de investigación y se les otorgó la carta de consentimiento informado en la que se explicaron los posibles riesgos asociados a la intervenciones, así como su libertad en la decisión de participar en el proyecto y/o suspender su participación en el momento en que dado el caso lo decidieran. Se solicitó a participantes leerla y se aclararon sus dudas para posteriormente solicitar su firma.

En caso de presentarse alguna complicacion asociado a las intervenciones serán manejadas por el encargado del protocolo. La obtención de las células de mucosa olfatoria se realizaran conforme a las recomendaciones definidas de la propia técnica y solo de aquellos pacientes a lo que se les hayan explicado los riesgos de las intervenciones y hayan firmado la carta de consentimiento informado.

El laboratorio de neurogenesis del INPRF cuenta con el equipo necesario y el personal capacitado para la evaluación y medición de las variables del estudio, y cuenta con 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).

Para el presente proyecto los participantes de ambos grupos recibirán tratamiento adecuado para el trastorno depresivo mayor, esto debido a que a pesar de que el grupo que reciba estimulación magnética transcraneal repetitiva no recibirá tratamiento farmacológico, de acuerdo a la evidencia el tratamiento por estimulación magnética transcraneal ha demostrado eficacia para el tratamiento del trastorno depresivo mayor, con aprobación por la U. S. Food and Drug Administration (50).

9 Resultados

9.1 Resultados de la muestra y características demográficas

Se reclutaron 20 participantes que cumplieron criterios para un primer episodio depresivo mayor, 11 participantes para el grupo con tratamiento a base de inhibidor selectivo de recaptura de serotonina (ISRS) y nueve participantes para el grupo de estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr). Del grupo de ISRS se excluyeron a cinco participantes, cuatro de ellos debido a que las células obtenidas del epitelio olfatorio no proliferaron, y ya que estos participantes ya habían iniciado el tratamiento con ISRS no se pudo obtener otra muestra. Se excluyó a un participante más del grupo de ISRS debido a que dejó de acudir a sus citas y no se le pudo contactar para continuar con el protocolo. Del grupo de EMTr se excluyeron a dos participantes, uno de ellos debido a que no se obtuvo crecimiento de las células, se excluyó a otro participante por dejar de acudir a las sesiones de EMTr y dificultad para contactarlo.

Se obtuvo una muestra de seis participantes para el grupo de ISRS y siete participantes para el grupo de EMTr. A quienes se realizó el análisis estadístico de las escalas de clinimetría. Para el análisis del epitelio olfatorio estuvieron disponibles las muestras de cuatro participantes del grupo de ISRS y de dos participantes del grupo de EMTr debido al tiempo requerido para el cultivo y preparación de las células.

De las muestras que entraron al análisis, en el grupo de EMTr (N=2), dos participantes eran del género masculino y ambos contaban con escolaridad de 12 años, la edad de los participantes fue de 38 y 27 años, con una media de 32.5 años. La duración de los síntomas depresivos fue de seis meses para un participante y dos años para el segundo, ninguno contaba con enfermedades médicas concomitantes y un participante presentaba trastorno de personalidad por evitación como comorbilidad psiquiátrica.

De los participantes del grupo de ISRS (N=4), 50% fueron de sexo femenino, el grupo contó con una media de edad de 36.7 años (D.E.= 11.1, rango de 24-54 años), la escolaridad promedio fue de 15.7 años (D.E.= 2.2, rango de 12-18 años). La duración de los síntomas depresivos fue de seis a siete meses para dos participantes, 12 meses para el tercero y tres años para el último. Respecto a padecimientos médicos concomitantes, un participante contaba con hipotiroidismo subclínico y obesidad grado I. En cuanto a comorbilidad psiquiátrica, el 100% presentaba trastorno de ansiedad generalizada, otros padecimientos concomitantes fueron, sobrecarga de cuidador (n=1), TDAH (n=1).

Respecto al tratamiento farmacológico en el grupo de ISRS, se muestra la información en la tabla 1. Solo 1 participante (sujeto 2F) del grupo de ISRS recibió tratamiento previo, en el 2014 a base de sertralina 25 mg por 6 meses.

Tabla 1. Tratamiento farmacológico en el grupo de ISRS

Grupo ISRS	Fármaco	Dosis	Semanas de Tratamiento*	Otros fármacos
Sujeto 1F	Escitalopram	10 mg	4	Clonazepam 1mg/día
Sujeto 2F	Escitalopram	10 mg	15	Clonazepam 0.3-0.6 mg/semana
Sujeto 3F	Fluoxetina	20 mg	14	Clonazepam 0.3 mg/semana
Sujeto 4F	Sertralina	50 mg	7	Ninguno

*Semanas cumplidas al momento de la 2º toma de epitelio olfatorio

En el grupo de EMTr, ambos participantes completaron 20 sesiones de EMTr previo a la segunda toma de epitelio olfatorio, un paciente contaba con consumo de sertralina 50 mg/día, cuatro días previo a la primer toma de epitelio olfatorio, suspendió el tratamiento al entrar al estudio, además de esta situación ninguno contaba con antecedentes de farmacoterapia con ISRS u otros psicofármacos previamente en su vida.

9.2 Resultados de clinimetría

Inventario de Beck de depresión

Las mediciones de las escalas de clinimetría se realizaron en la misma semana en que se tomaron las muestras de epitelio olfatorio.

Para el total de la muestra del grupo de ISRS se contó con una puntuación media en la valoración basal de 28.1 (D.E.=13.9) y una puntuación media post-intervención de 11.1 (D.E.=6.2). En el total de la muestra del grupo de EMTr se obtuvo una puntuación basal media de 31.7 (D.E.=9.3), con una puntuación post-intervención de 11.2 (D.E.=11). En el análisis entre grupos se obtuvo un F-ratio 0.596, que corresponde a una diferencia no significativa en el resultado entre los grupos.

Respecto a los participantes que se incluyeron en el análisis de microarreglos, la muestra fue demasiado pequeña para alcanzar significancia estadística, por lo cual se realizó el análisis en base a la

variación en el porcentaje de los puntajes. En el grupo de ISRS tuvieron una disminución promedio de 37.6% (D.E.=22.1) en su segunda medición con respecto a la primera. En el grupo de EMTr se encontró una media de disminución del 91.65% (D.E.=8.3). Estos resultados se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados del Inventario de depresión de Beck.

Grupo ISRS	1° Medición	2° Medición	Porcentaje de cambio
Sujeto 1F	18	12	↓ 33.30%
Sujeto 2F	39	13	↓ 66.60%
Sujeto 3F	19	18	↓ 5.26%
Sujeto 4F	26	15	↓ 42.30%
Grupo EMTr	1° Medición	2° Medición	Porcentaje de cambio
Sujeto 1E	24	4	↓ 83.30%
Sujeto 2E	22	0	↓ 100%

Escala de Hamilton de depresión

Para el total de la muestra del grupo de ISRS en la valoración basal se obtuvo con una puntuación media de 17.1 (D.E.=6.4) y una puntuación media post-intervención de 8.3 (D.E.=5.4). En el total de la muestra del grupo de EMTr se obtuvo una puntuación basal media de 21.1 (D.E.=7.1), con una puntuación post-intervención de 6.1 (D.E.=5.1). En el análisis entre grupos se obtuvo un F-ratio 0.162, el cual corresponde a una diferencia no significativa en el resultado entre los grupos, sin embargo se aprecia una diferencia estadística más clara en comparación con los resultados del inventario de Beck de depresión.

De los pacientes que ingresaron en el análisis de microarreglos. En el grupo de ISRS 3 sujetos mostraron disminución en los valores de la segunda medición, con una media de disminución de 39.4 % (D.E.=22.9). Un sujeto mostró un aumento de 30% en relación a la primera medición, esto debido a un incremento en los ítems 4 y 5 que valoran insomnio precoz e intermedio, en los ítems 10 y 11 que valoran ansiedad psíquica y somática, y en el ítem 14 que evalúa síntomas genitales. En el grupo de EMTr se encontró un promedio de disminución de 98.25% (D.E.= 0.97), los resultados de ambos grupos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la Escala de Hamilton de depresión.

Grupo ISRS	1° Medición	2° Medición	Porcentaje de cambio
Sujeto 1F	12	11	↓ 8.33%
Sujeto 2F	19	7	↓ 63.15%
Sujeto 3F	17	9	↓ 47.05%
Sujeto 4F	13	17	↑ 30%
Grupo EMTr	1° Medición	2° Medición	Porcentaje de cambio
Sujeto 1E	13	1	↓ 99.23%
Sujeto 2E	11	3	↓ 97.27%

9.3 Resultados del análisis de las muestras de epitelio olfatorio por el método de microarreglos

Resultados de proteínas asociadas con neurogénesis

Para determinar el grado de variación en la expresión proteica se midieron las diferencias en las densidades ópticas y se calculó la diferencia de los resultados pre y post-tratamiento. Se analizaron estas variaciones para las principales proteínas relacionadas con neurogénesis, tomándose como punto de corte una variación de ≥ 2 *fold change* (FC) o también llamadas variaciones en el número de veces de cierta cantidad. Los resultados en ambos grupos se muestran en las tablas 4 y 5.

Tanto en el grupo EMTr como en el grupo ISRS, no se encontraron aumentos significativos en la expresión en las proteínas relacionadas con neurogénesis que fueron medidas, los aumentos en la expresión en estos casos eran similares al resto de las proteínas que fueron medidas en la membrana, los cuales oscilaban de 1.1-1.8 FC.

En el grupo EMTr el sujeto 1E presentó disminuciones en la expresión proteica >2 FC en 5 proteínas relacionadas con neurogénesis; BDNF 4.6, NGF-R 2.6, NT4 3.33, IGF I 2.5, IGF II 4.25. Variaciones que no se encontraron en el sujeto 2E del mismo grupo.

En el grupo de ISRS tres sujetos mostraron de forma similar disminuciones significativas en algunos de estos factores (tabla 5). En particular las proteínas NT3 y NT4 mostraron una disminución significativa en tres sujetos de este grupo. En el resto de las proteínas asociadas con neurogénesis no se encontró un patrón similar de disminución el compararse los casos dentro de cada grupo y entre los grupos.

Tabla 4. Expresión de proteínas relacionadas con neurogénesis en el grupo EMTr

Sujeto 1E				Sujeto 2E			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
BDNF	1108	239	↓4.6	BDNF	401	570	↓1.42
NGF R	602	230	↓2.6	NGF R	1165	1303	↑1.11
NT3	207	111	↓1.86	NT3	381	420	↑1.10
NT4	340	102	↓3.33	NT4	861	525	↓1.64
GDNF	682	891	↑1.3	GDNF	515	482	↓1.06
IGF I	853	340	↓2.5	IGF I	879	692	↓1.27
IGF II	468	110	↓4.25	IGF II	264	321	↑1.21

Los valores de cada medición se expresan en densidades ópticas.
 BDNF, Brain derived neurotrophic factor; NGF R, Nerve growth factor receptor; NT3, Neurotrophin 3; NT4, Neurotrophin 4; GDNF, Glial cell-derived neurotrophic factor; IGF I, Insulin-like growth factor 1; IGF II, Insulin-like growth factor 2.

Tabla 5. Expresión de proteínas relacionadas con neurogénesis en el grupo ISRS

Sujeto 1F				Sujeto 3F			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
BDNF	386	357	↓1.08	BDNF	320	0	↓360
NGF R	596	475	↓1.25	NGF R	58	0	↓58
NT3	172	127	↓1.35	NT3	76	0	↓76
NT4	373	172	↓1.16	NT4	69	24	↓2.8
GDNF	256	133	↓1.92	GDNF	9	0	↓9
IGF I	674	578	↓1.16	IGF I	323	0	↓323
IGF II	293	413	↑1.4	IGF II	24	0	↓24
Sujeto 2F				Sujeto 4F			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
BDNF	274	416	↑1.51	BDNF	79	29	↓2.72
NGF R	35	67	↑1.9	NGF R	19	0	↓19
NT3	107	4	↓26.75	NT3	72	0	↓72
NT4	101	5	↓20.2	NT4	76	0	↓76
GDNF	90	154	↑1.71	GDNF	0	0	0
IGF I	631	350	↓1.8	IGF I	204	15	↓13.6
IGF II	111	59	↓1.88	IGF II	0	0	0

Los valores de cada medición se expresan en densidades ópticas.

BDNF, Brain derived neurotrophic factor; NGF R, Nerve growth factor receptor; NT3, Neurotrophin 3; NT4, Neurotrophin 4; GDNF, Glial cell-derived neurotrophic factor; IGF I, Insulin-like growth factor 1; IGF II, Insulin-like growth factor 2.

Resultados de la evaluación de otras proteínas.

Tras la evaluación de las variaciones en el resto de las proteínas que se midieron en la membrana, en el grupo de EMTr se encontró un aumento significativo en 2 proteínas (GRO, IL-6), el cual se encontró en los 2 sujetos del grupo (Tabla 6).

Tras el análisis de las variaciones en la densidad óptica en el grupo EMTr, solo se encontró un aumento significativo en 2 proteínas más, en el Sujeto 1E un aumento en IL-8, el cual no se presentó en el Sujeto 2E. Y un aumento en la expresión de la proteína FAM3B, el cual no se presentó en el Sujeto 1E.

Tabla 6. Resultados en otras proteínas en el grupo EMTr

Sujeto 1E				Sujeto 2E			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
GRO	804	2501	↑3.11	GRO	1087	2100	↑1.93
IL-6	1464	2734	↑1.86	IL-6	2154	2593	↑1.2
IL-8	414	1948	↑4.7	IL-8	2288	2177	↓1.05
FAM3B	2189	835	↓2.62	FAM3B	777	2545	↑3.27

Los valores de cada medición se expresan en densidades ópticas.

GRO, Growth-regulated oncogene; IL-6, interleukin 6; IL-8, interleukin 8; FAM3B, Family With Sequence Similarity 3 Member B.

En el grupo de ISRS solamente en un sujeto se encontró un aumento significativo en las proteínas GRO e IL-6, las cuales habían mostrado elevación significativa en ambos sujetos del grupo EMTr (Tabla 7). En el resto de las proteínas que se midieron en la membrana no se encontraron elevaciones significativas en este grupo.

Tabla 7. Resultados en otras proteínas en el grupo ISRS

Sujeto 1F				Sujeto 3F			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
GRO	569	3177	↑5.58	GRO	2508	2345	↓1.06
IL-6	1234	4761	↑3.85	IL-6	3303	1604	↓2.05
IL-8	415	3565	↓8.59	IL-8	1433	1509	↑1.05
FAM3B	2435	2563	↑1.05	FAM3B	751	59	↓12.7
Sujeto 2F				Sujeto 4F			
	1° medición	2° medición	Fold change		1° medición	2° medición	Fold change
GRO	3769	2812	↓1.34	GRO	1041	183	↓5.68
IL-6	2422	1015	↓2.38	IL-6	305	77	↓3.96
IL-8	3525	1640	↓2.14	IL-8	602	385	↓1.56
FAM3B	830	540	↓1.53	FAM3B	721	139	↓5.18

Los valores de cada medición se expresan en densidades ópticas.

GRO, Growth-regulated oncogene; IL-6, interleukin 6; IL-8, interleukin 8; FAM3B, Family With Sequence Similarity 3 Member B.

10 Discusión

A la valoración de la sintomatología depresiva por evaluación clinimétrica se encontraron puntuaciones similares en la primera medición en ambos grupos, concordantes con síntomas depresivos leves de acuerdo a la puntuación media en la escala de Hamilton de depresión y con síntomas leves a moderados en el inventario de Beck de depresión. Se encontró diferencia en el puntaje de las escalas entre las evaluaciones pre y post tratamiento, siendo esta más notoria en el grupo de EMTr para la escala de Hamilton de depresión, sin embargo las diferencias en los puntajes no fueron estadísticamente significativas.

Al evaluar los resultados de la clinimetría en relación a los datos demográficos y clínicos se encontró que los 2 sujetos que obtuvieron una disminución en la escala de Hamilton menor a 50% y de esta manera una menor respuesta clínica, contaban con comorbilidad psiquiátrica que pudo interferir en la respuesta al tratamiento, debido a que el sujeto 1F presentaba ideas de referencia que llegaban a causar disfunción en su ámbito social y laboral, mientras que el sujeto 4F presentaba síntomas de colapso de cuidador en su segunda medición.

En relación al análisis por microarreglos no se encontraron elevaciones que fueran constantes entre los individuos en las proteínas relacionadas con neurogénesis que fueron medidas con esta herramienta. Por otra parte se encontró una disminución en los factores NT3 y NT4 mayor de dos FC en tres sujetos del grupo de ISRS y solamente una disminución de NT4 mayor de 2 FC en un sujeto del grupo de EMTr. Estos hallazgos sin embargo al no mostrar una variación constante y diferencias entre los individuos en la proporción de cambio de las densidades ópticas de las proteínas, no se consideran variaciones de significancia que tengan relación directa con el efecto clínico del tratamiento. Es importante destacar que la intensidad de señal detectada en la membrana varía de una proteína a otra dependiendo de la afinidad de cada anticuerpo, debido a lo cual la comparación en la variabilidad de la intensidad de señal debe realizarse con el mismo sistema antígeno/anticuerpo, lo cual explica como algunas casillas mostraron niveles de 0 al estar debajo del umbral de captación del *Software* de análisis de las imágenes.

Debido a esto se considera que es necesario aumentar el número de participantes para poder realizar una adecuada comparación para cada proteína en particular y una correlación entre las escalas clinimétricas y el resultado de los microarreglos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, solamente las proteínas IL-6 y GRO mostraron elevación significativa en ambos sujetos del grupo de EMTr, aunque solo estuvieron elevadas en un sujeto del grupo de ISRS.

En relación a su función, la proteína GRO, también conocida como CXCL1 es un factor de crecimiento que se une al receptor CXCR 2, esta proteína desempeña un papel en la inflamación y como un factor quimiotáctico para atraer neutrófilos, también juega un papel en el desarrollo de la médula espinal y participa en los procesos de angiogénesis, arteriogénesis, inflamación, cicatrización de heridas y tumorigénesis, existen hallazgos de que CXCL1 podría conducir al reclutamiento de oligodendrocitos en el borde de áreas de inflamación y potencialmente promover la reparación (51).

La proteína IL 6 es un factor inflamatorio responsable de estimular la síntesis de proteínas de fase aguda, así como la producción de neutrófilos en la médula ósea. Apoya el crecimiento de las células B y es antagonista de las células T reguladoras. Actualmente se sabe que IL-6 participa en la neurogénesis y en la respuesta de neuronas maduras y células gliales en condiciones normales y ante una amplia gama de modelos de lesión. Por otro lado se han encontrado elevaciones importantes de IL 6 en trastornos psiquiátricos como depresión, trastorno por estrés posttraumático y esquizofrenia.

En relación al proceso de neurogénesis, en modelos murinos la proteína IL 6 se encuentra involucrada en la oligodendroglíogenesis y astrogliogenesis.
(52)

11 Conclusiones

Los hallazgos respecto a la elevación de CXCL1 e IL-6 en el grupo de EMTr sugieren una posible relación entre el efecto de la estimulación magnética transcraneal con los procesos involucrados en la neurogénesis, sin embargo es necesario evaluar si esta variación persiste en una muestra más amplia, lo que permitiría también evaluar si existen variaciones que se presenten de forma constante en otras proteínas después del tratamiento con estimulación magnética transcraneal.

Respecto a los hallazgos en las escalas clinimétricas, se concluye que es necesario reclutar una muestra más amplia para lograr una adecuada evaluación estadística de las escalas, ya que si bien las diferencias no fueron significativas, la variación en la escala de Hamilton en los participantes del grupo de EMTr sugiere una mayor respuesta, que sería necesario analizar con una muestra más amplia para detectar si se presentan diferencias significativas y si estas se correlacionan con variaciones en la expresión proteica en los microarreglos.

12 Referencias bibliográficas.

- (1). Donohue JM, Pincus HA. Reducing the societal burden of depression: a review of economic costs, quality of care and effects of treatment. *Pharmacoeconomics*. 2007;25(1):7.
- (2). Skodol AE, Oldham JM. American Psychiatric Association, diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5), Washington, DC. American Psychiatric Publishing; 2013
- (3). V. Domínguez García, "Sobre la melancolía en Hipócrates", *Psicothema*, 1991, vol.3(1):259-267
- (4) Kessler RC, et al. Development of lifetime comorbidity in the World Health Organization world mental health surveys. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 Jan;68(1):90-100.
- (5) Hasin DS, Goodwin RD, Stinson FS, Grant BF. Epidemiology of major depressive disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcoholism and Related Conditions. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(10):1097.
- (6). Medina-Mora, ME, Borges G, Benjet, C., Lara, C., Berglund, P.A.. Psychiatric disorders in Mexico: Lifetime prevalence in a nationally representative sample. *British Journal of Psychiatry* 2007, 190, 521-528.
- (7). Greenberg PE, et al. The economic burden of adults with major depressive disorder in the United States (2005 and 2010). *Clin Psychiatry*. 2015; 76(2):155–162.
- (8). Kendler KS, Gardner CO, Prescott CA. Toward a comprehensive developmental model for major depression in men. *Am J Psychiatry*. 2006;163(1):115.
- (9). Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric GWAS Consortium. A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Mol Psychiatry*. 2013 Apr;18(4):497-511
- (10). A Córdova-Palomera,1,2 M Fatjó-Vilas,1,2 C Gastó,2,3,4 V Navarro,2,3,4 M-O Krebs,5,6,7 and L Fañanás1,2,*Genome-wide methylation study on depression: differential methylation and variable methylation in monozygotic twins. *Transl Psychiatry*. 2015 Apr; 5(4): e557.

- (11). Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*. 2013;381(9875):1371.
- (12). Nutt DJ. et al. Consensus statement and research needs: the role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. *J Clin Psychiatry*. 2006;67Suppl 6:46.
- (13). Nutt DJ, Baldwin DS, Clayton AH, Elgie R, Lecrubier Y, Montejo AL, Papakostas GI, Souery D, Trivedi MH, Tylee A. Consensus statement and research needs: the role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. *J Clin Psychiatry*. 2006;67 Suppl 6:46.
- (14). Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(10):925.
- (15). Koolschijn PC, van Haren NE, Lensvelt-Mulders GJ, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. Brain volume abnormalities in major depressive disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Hum Brain Mapp*. 2009;30(11):3719.
- (16). Kaiser RH, Andrews-Hanna JR, Wager TD, Pizzagalli DA. Large-Scale Network Dysfunction in Major Depressive Disorder: A Meta-analysis of Resting-State Functional Connectivity. *JAMA Psychiatry*. 2015 Jun;72(6):603-11.
- (17). Miller A, Maletic V, Raison C. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*. 2009 May;65(9):732-41
- (18). Raison CL. Inflammatory depression: a trifecta of trouble. *J Clin Psychiatry*. 2014 Jun;75(6):663-4
- (19). Raison CL, Rutherford RE, Woolwine BJ, Shuo C, Schettler P, Drake DF, Haroon E, Miller AH. A Randomized Controlled Trial of the Tumor Necrosis Factor-alpha Antagonist Infliximab in Treatment Resistant Depression: Role of Baseline Inflammatory Biomarkers. *JAMA Psychiatry*. 2013 Jan;70(1):31-41.
- (20). Beck AT. The current state of cognitive therapy: a 40-year retrospective. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(9):953.

- (21). Klein D, Kotov R, Bufferd S. Personality and Depression: Explanatory Models and Review of the Evidence. *Annu Rev Clin Psychol.* 2011; 7: 269–295.
- (22). Miller L, Warner V, Wickramaratne P, Weissman M. Self-esteem and depression: ten year follow-up of mothers and offspring. *J Affect Disord.* 1999;52(1-3):41.
- (23). Teo AR, Choi H, Valenstein M. Social relationships and depression: ten-year follow-up from a nationally representative study. *PLoS One.* 2013;8(4):e62396.
- (24). Li M, Rodin G. Depression. In: *The American Psychiatric Publishing Textbook of Psychosomatic Medicine: Psychiatric Care of the Medically Ill, Second Edition*, Levenson JL. (Ed), American Psychiatric Publishing, Inc, Washington, DC 2011.p.175.
- (25). Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol* 1965 124:319–335
- (26). Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH Neurogenesis in the adult human hippocampus. 1998 *Nat Med* 4:1313–1317
- (27) Juan Zhang and Jianwei Jiao, “Molecular Biomarkers for Embryonic and Adult Neural Stem Cell and Neurogenesis,” *BioMed Research International*, vol. 2015, 14.
- (28). Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell* 2013, 153:1219–1227.
- (29) Collins, F.S., 2011. Reengineering translational science: the time is right. *Sci. Transl. Med.* 3 90-17.
- (30) Cogswell JP, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways. *J Alzheimers Dis* 2008, 14(1):27–41

- (31) Boldrini M, Hen R, Underwood MD, Rosoklija GB, Dwork AJ, Mann JJ, Arango V. Hippocampal angiogenesis and progenitor cell proliferation are increased with antidepressant use in major depression. *Biol Psychiatry* 2012; 72:562–571
- (32) Thukral V, Chikaraishi D, Hunter D, Wang J K. Expression of non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptor subunits in the olfactory epithelium. *Neuroscience* 1997; 79, 411–424.
- (33) Hunter D. Neurogenesis in the olfactory epithelium. *Perspect Dev Neurobiol.* 1994;2(2):151-61.
- (34) Sattler R, Coddington L, Sawa A, Block D, Chipkin R, Rothstein JD. Human nasal olfactory epithelium as a dynamic marker for CNS therapy development. *Exp Neurol.* 2011 Dec;232(2):203-11.
- (35) Crooks LE, Barker B, Chang H et al. Magnetic resonance imaging strategies for heart studies. *Radiology* 1984; 153:459–65
- (36) Pascual-Leone A, Tormos-Muñoz JM. Estimulación magnética transcraneal: fundamentos y potencial de la modulación de redes neurales específicas. *Revista de Neurología* 2008; 46 (Supl 1): S3-S10.
- (37) Grisar N, Yaroslavsky U, Abarbanel JM, Lamberg T, Belmaker RH. Transcranial magnetic stimulation in depression and schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 1994; 4:287–288
- (38) Klein E, et al. Therapeutic efficacy of right prefrontal slow repetitive transcranial magnetic stimulation in major depression: a double-blind controlled study. *Arch Gen Psychiatry.* 1999 Apr;56(4):315-20.
- (39) Pascual-Leone A, Rubio B, Pallardó F, Catalá MD. Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet.* 1996 Jul 27;348(9022):233-7.
- (40) García-Anaya, María. González-Olvera, Jorge. et al. Clinical and electrophysiological effect of right and left repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with major depressive disorder. *Salud mental,* 2011; 34(4), 291-299
- (41). Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960 Feb;23:56-62.

- (42). Zimmerman M Martinez JH Young D Chelminski I Dalrymple K . Severity classification on the Hamilton Depression Rating Scale. *J Affect Disord* 2013;150:384–388.
- (43). Ramos-Brieva JA, Cordero A. (1986).Validación de la versión castellana de la escala de Hamilton para la depresión. *Actas Luso-Esp Neurol Psiquiatr*, vol 14:324-334
- (44). Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *Journal of Personality Assessment*. 67 (3): 588–97
- (45). Beck, A.T., Steer, R.A., & Brown, G.K. (1996). *Manual for the Beck Depression Inventory-II*. San Antonio, TX: Psychological Corporation.
- (46). Stanush, P. L. (1997). *Factors that influence the susceptibility of self-report inventories to distortion: A meta-analytic investigation*. Ann Arbor, MI: ProQuest Information & Learning.
- (47).Richter P, Werner J, Heerlein A, Kraus A, Sauer H: On the validity of the Beck depression inventory. A review. *Psychopathology* 1998; 31:160–8
- (48) Benitez-King G, Riquelme A, Ortiz-Lopez L, Berlanga C, Rodriguez-Verdugo MS, Romo F, Calixto E, Solis-Chagoyan H, Jimenez M, Montaña LM, Ramirez-Rodriguez G, Morales-Mulia S, Dominguez-Alonso A: A non invasive method to isolate the neuronal lineage from the nasal epithelium from schizophrenic and bipolar diseases. *J. Neurosci. Methods*. 2011; 201:35-45.
- (49). Love MI, Huber W, Anders S. (2014). "Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2." *Genome Biology*. 15: 550
- (50) Costello, A. (2011, July 26) *Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff Class II Special Controls Guidance Document: Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) Systems* Retrieved from <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm265269.html>
- (51). Kakuri M, et al. Neuroprotection and Remyelination after Autoimmune Demyelination in Mice that Inducibly Overexpress CXCL1. *Am J Pathol*. 2009 Jan; 174(1): 164–176.

(52). Erta M, et al. Interleukin-6, a Major Cytokine in the Central Nervous System. *Int J Biol Sci* 2012; 8(9):1254-1266