

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA



TITULO:

“Identificación y evaluación en pacientes con síndrome depresivo mayor, de variantes genómicas probablemente asociadas al suicidio obtenidas por secuenciación de exoma dirigido.”

TESIS

PRESENTADO POR:

L.B.G. Antonio Ovalle Carcaño

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN BIOLOGÍA MOLECULAR E
INGENIERÍA GENÉTICA**

NOVIEMBRE, 2021

IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME
DEPRESIVO MAYOR, DE VARIANTES GENÓMICAS PROBABLEMENTE
ASOCIADAS AL SUICIDIO OBTENIDAS POR SECUENCIACIÓN DE EXOMA
DIRIGIDO.

Aprobación de la Tesis:



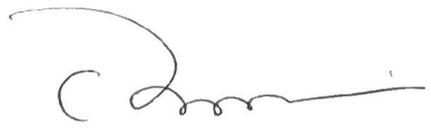
Dr. C. Gerardo Raymundo Padillas Rivas
Director de Tesis



Dr. C. Antonio Alí Pérez Maya
Co-Director de Tesis



Dr. C. Kame Alberto Galán Huerta
Miembro de Tesis



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

“Todo esfuerzo es inútil si no crees en ti mismo... No dejes que nada te desvíe del camino y manténlo hasta el final. Sé fiel a él y enorgulléceme. Sé todo lo que quieras ser...”

Maito Gai (Naruto)



Dedicatoria

A mis padres, a mis mascotas y a mí familia en general por apoyarme cuando los necesité en el día a día o momentos de apuro.

A mis amigos de dentro y fuera del laboratorio, los pasajeros y los que se mantuvieron.

Y a ti, nunca te olvides.

Agradecimientos

Expreso mi más sincera gratitud al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico proporcionado para el desarrollo de mi posgrado y proyecto de investigación.

Gracias al Dr. Alí, por aceptarme en su laboratorio desde aquel verano de 2015. Por darme la confianza y hacerme sentir parte importante de su equipo de trabajo. Gracias por creer en mí a pesar de todo y por ser mi primer mentor antes que mi asesor. Siempre estaré agradecido con usted.

Gracias a mi comisión de tesis. Al Dr. Gerardo y al Dr. Kame por las palabras de aliento, los consejos y comentarios constructivos durante los ensayos de seminarios y elaboración del proyecto de investigación.

Gracias al Dr. Iván Marino y al equipo de trabajo del Laboratorio de Genómica y secuenciación del CIDICS, ustedes fueron parte fundamental en el desarrollo de este proyecto.

Gracias al Dr. Mario Hernández y al Dr. José Alfonso Ontiveros por sus aportes durante la realización de este trabajo de tesis.

Un eterno agradecimiento al Dr. Ricardo Vázquez Juárez y a la M.C. Karina Alejandra Vázquez Rojas por brindarme acceso a sus recursos computacionales y ayudarme con la instalación de los programas necesarios para que esta tesis fuera posible.

Gracias a las secretarías del departamento por su trabajo, haciendo que todo funcionara. Especialmente a Juany y Ary quienes fueron las que siempre estuvieron a lo largo de mis 5 años en el departamento. Y a Angy, que me daba comida que se quedaba en el refri a veces.

Gracias a mis padres, por la paciencia y el apoyo. Por darme el tiempo para concluir algo que para mí significa más que un paso en mi formación académica y vida profesional.

Gracias especialmente a María Fernanda ya que sin ella, muchas cosas pudieron no haber salido. Sin ella el laboratorio no funcionaba y mucho menos cuando había que tomar muestras de sangre. Gracias por introducirme a las tostadas del Gordo y hacerme ver la luz.

Gracias a Toño (Rojas), por estar en los momentos de la comedera, el chismecito y en los difíciles también. Te convertiste en uno de mis amigos más cercanos y espero que sea así por muchos años.

Gracias a Elda, Angel y Adriana por acompañarme en la mesa del chismecito y las comiditas.

Gracias a Caro y a Rea, por estar conmigo en las horas de comida, compartiendo lonche, y en las tardes y noches en el lab haciendo extracciones de ADN y cuando había que sacar propuestas. Por ser mis amigos, uno cerquita y la otra a la distancia. Los quiero.

Gracias a Karla y Alan por ser mis ejemplos a seguir, aunque no se los diga. Los admiro y sé que vamos a llegar muy lejos. También, los quiero.

Gracias infinitas a Frecia, Mariel e Irma que aunque salieron antes de que yo empezara la maestría, me ayudaron en mis inicios en el laboratorio.

Gracias especiales a Alison, por llegar cuando más necesitaba a alguien que le entendiera a esto. Eres muy muy buena, por no decir la mejor. Créetela. Te veo en la cima, amiga. Tqm.

Gracias eternas a mis instructores del equipo ATGenomics. Diana, Vic y Otto, son mis ejemplos a seguir en el mundo de las bioinformagics/bioinfortragics. Gracias por llegar a mi vida en un curso de las mejores 20 horas en las que invertí mi beca.

Gracias a mi familia, abuelos, tíos y primos que les interesaba cómo iba y que me ayudaron en la toma de muestras esos días de crisis.

Gracias a todos los chicos de servicio social, de verano científico, Invest y voluntarios que colaboraron en las extracciones y más etapas del proyecto.

Muchísimas gracias a todos. Los aprecio un montón.

Comisión de tesis

Director: Dr. C. Gerardo Raymundo Padilla Rivas. (Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, UANL).

Codirector: Dr. C. Antonio Alí Pérez Maya. (Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, UANL).

Miembro de la comisión: Dr. C. Kame Alberto Galán Huerta (Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, UANL).

Colaborador: Dr. José Alfonso Ontiveros Sánchez de la Barquera (Departamento de Psiquiatría del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”).

Colaborador: Dr. Mario Alberto Hernández Ordoñez (Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”).

Colaborador: Dr. C. Iván Alberto Marino Martínez (Unidad de Terapias Experimentales, CIDICS, UANL).

Colaborador: Dr. C. Ricardo Vázquez Juárez (Coordinación del Programa de Acuicultura, CIBNOR, La Paz, Baja California Sur).

Colaboradora: M.C. Karina Alejandra Vázquez Rojas (Departamento de Ecología del Comportamiento y Genética evolutiva, Instituto Max Planck, Starnberg, Alemania).

Colaboradora: M.C. María Fernanda Serna Rodríguez (Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, UANL).

Colaborador: M.C. Juan Angel García Quiñones (Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, UANL).

Índice

| Capítulo | Página |
|--|--------|
| Dedicatoria | 4 |
| Agradecimientos..... | 5 |
| Comisión de tesis | 7 |
| Lista de figuras | 12 |
| Lista de tablas | 13 |
| Lista de abreviaturas | 16 |
| Lista de símbolos | 18 |
| Resumen | 19 |
| Abstract | 21 |
| 1 Introducción | 23 |
| 1.1 Definición del suicidio. | 23 |
| 1.2 Epidemiología mundial del suicidio..... | 23 |
| 1.3 Epidemiología del suicidio en México..... | 24 |
| 1.4 Factores de riesgo | 24 |
| 1.4.1 Factores psiquiátricos | 25 |
| 1.4.1.1 Síndrome depresivo mayor | 26 |
| 1.4.1.2 Trastorno depresivo mayor | 27 |
| 1.4.1.3 Trastorno bipolar | 27 |
| 1.4.1.4 Esquizofrenia | 27 |
| 1.4.2 Factores psicológicos | 28 |
| 1.4.3 Conducta suicida previa | 28 |
| 1.4.4 Historia familiar de suicidio..... | 29 |
| 1.4.5 Factores genéticos y biológicos | 29 |
| 1.5 Factores protectores | 30 |
| 1.6 Definiciones de ideación y conducta suicida | 31 |
| 1.7 Evaluación de riesgo suicida. | 32 |
| 1.7.1 Entrevista clínica | 32 |
| 1.7.2 Escalas de evaluación..... | 33 |
| 1.8 Medicina personalizada hacia la prevención del suicidio y las enfermedades psiquiátricas..... | 34 |

| | | |
|-------|---|----|
| 1.9 | Búsqueda de biomarcadores asociados al suicidio | 35 |
| 1.9.1 | Biomarcadores bioquímicos | 35 |
| 1.9.2 | Biomarcadores genéticos | 35 |
| 1.10 | Genes candidatos con probable asociación al suicidio. | 36 |
| 1.11 | Secuenciación de exoma en el estudio de enfermedades psiquiátricas y neurológicas. | 37 |
| 2 | Justificación | 39 |
| 3 | Hipótesis de trabajo | 41 |
| 4 | Objetivos | 42 |
| 4.1 | Objetivo general..... | 42 |
| 4.2 | Objetivos específicos..... | 42 |
| 5 | Diseño experimental | 43 |
| 5.1 | Estrategia general..... | 43 |
| 5.2 | Diseño del experimento | 45 |
| 5.3 | Financiamiento | 45 |
| 5.4 | Lugar de trabajo..... | 45 |
| 5.5 | Muestras del estudio..... | 45 |
| 5.5.1 | Criterios de inclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles. | 46 |
| 5.5.1 | Criterios de exclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles. | 47 |
| 5.5.2 | Criterios de eliminación para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles. | 47 |
| 6 | Materiales | 48 |
| 6.1 | Material biológico..... | 48 |
| 6.2 | Material de laboratorio | 48 |
| 6.3 | Reactivos | 49 |
| 6.4 | Equipos..... | 50 |
| 6.4.1 | Programas computacionales..... | 51 |
| 7 | Métodos | 52 |
| 7.1 | Obtención de las muestras | 52 |

| | | |
|----------|--|----|
| 7.2 | Aplicación de escalas para la evaluación psiquiátrica..... | 52 |
| 7.3 | Muestras de la colección histórica..... | 52 |
| 7.4 | Muestras de los pacientes del grupo control y de pacientes..... | 53 |
| 7.5 | Cuantificación, control de calidad y preparación de diluciones de las muestras de ADN..... | 54 |
| 7.6 | Secuenciación de exoma dirigido del panel de 33 genes..... | 55 |
| 7.7 | Análisis bioinformático..... | 56 |
| 7.7.1 | Control de calidad de los datos crudos..... | 58 |
| 7.7.2 | Alineamiento y mapeado de las lecturas con un genoma de referencia humano.. | 58 |
| 7.7.3 | Identificación de las variantes genómicas asociadas al suicidio..... | 59 |
| 7.7.3.1 | Asignación de 'readgroups'..... | 61 |
| 7.7.3.2 | Limpieza de datos mediante marcado de duplicados..... | 61 |
| 7.7.3.3 | Recalibración de los puntajes de calidad base..... | 61 |
| 7.7.3.4 | Identificación de variantes cortas de línea germinal..... | 62 |
| 7.7.3.5 | Filtrado mediante recalibración de SNV..... | 64 |
| 7.7.3.6 | Anotación para la asignación de identificadores..... | 66 |
| 7.7.3.7 | Filtrado por cantidad de información disponible por posición genómica..... | 66 |
| 7.7.3.8 | Aplicación de filtros para variantes del tipo inserción y deleción..... | 66 |
| 7.7.3.9 | Anotación funcional de las variantes..... | 68 |
| 7.7.3.10 | Comparación de los conjuntos de variantes de las cohortes de estudio..... | 69 |
| 7.7.3.11 | Selección de las variantes que se evaluarán en pacientes con Síndrome Depresivo Mayor..... | 69 |
| 7.8 | Evaluación de las variantes en pacientes con Síndrome depresivo mayor..... | 71 |
| 7.9 | Análisis estadísticos..... | 73 |
| 8 | Resultados..... | 74 |
| 8.1 | Control de calidad de las muestras utilizadas en la secuenciación..... | 74 |
| 8.2 | Descripción del set de datos obtenidos de la secuenciación de exoma dirigido..... | 77 |
| 8.3 | Control de calidad de las lecturas de secuenciación..... | 78 |
| 8.4 | Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia..... | 82 |
| 8.5 | Análisis de llamado de variantes..... | 85 |
| 8.5.1 | Llamado de variantes y control de calidad..... | 85 |
| 8.5.2 | Anotación funcional..... | 87 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 8.5.3 | Análisis de la distribución de las variantes con base en su frecuencia alélica, impacto funcional y gen en el que se localizan. | 91 |
| | | 91 |
| 8.6 | Análisis de conjuntos entre las cohortes del estudio | 96 |
| 8.6.1 | Variantes exclusivas..... | 96 |
| 8.6.1.1 | Variantes exclusivas de la cohorte de suicidio consumado..... | 96 |
| 8.6.1.2 | Variantes exclusivas de las cohortes de ideación suicida | 97 |
| 8.6.2 | Variantes de riesgo de suicidio. | 97 |
| 8.6.3 | Variantes seleccionadas para evaluarlas mediante qPCR en pacientes psiquiátricos..... | 100 |
| 8.7 | Análisis de las frecuencias alélicas, genotípicas, Odds ratio y equilibrio de Hardy Weinberg de los SNP seleccionados | 103 |
| 8.7.1 | Análisis de frecuencias alélicas en los SNP seleccionados..... | 103 |
| 8.7.2 | Análisis de proporciones genotípicas de los SNP seleccionados | 105 |
| 8.7.2.1 | Polimorfismo rs1080869 | 105 |
| 8.7.2.2 | Polimorfismo rs1062677 | 106 |
| 8.7.2.3 | Polimorfismo rs470797 | 107 |
| 9 | Discusión | 108 |
| 9.1 | Control de calidad de las lecturas de secuenciación..... | 108 |
| 9.2 | Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia..... | 110 |
| 9.3 | Análisis de llamado de variantes | 110 |
| 9.3.1 | Llamado de variantes y control de calidad | 110 |
| 9.3.2 | Anotación funcional | 111 |
| 9.3.3 | Genes con mayor y menor carga de variantes | 114 |
| 9.3.4 | Variantes categorizadas por frecuencias alélicas e impacto funcional | 117 |
| 9.4 | Polimorfismos seleccionados para su evaluación mediante qPCR en pacientes con síndrome depresivo mayor. | 120 |
| 9.4.1 | Análisis de las frecuencias alélicas, genotípicas, Odds ratio (OR) y equilibrio de Hardy-Weinberg de los SNP seleccionados..... | 120 |
| 10 | Conclusiones | 124 |
| 11 | Perspectivas | 125 |
| 12 | Referencias..... | 126 |
| 13 | ANEXOS..... | 142 |

Lista de figuras

| | |
|---|-----|
| Figura 1. Genómica funcional convergente..... | 37 |
| Figura 2 Estrategia general..... | 44 |
| Figura 3. Flujo de trabajo del análisis bioinformático (parte 1). | 56 |
| Figura 4. Flujo de trabajo detallado del análisis bioinformático (parte 2)..... | 57 |
| Figura 5. Flujo de trabajo de las Mejores Prácticas del Genome Analysis Tool Kit para el llamado de variantes en su modalidad de genotipado en conjunto de cohortes..... | 60 |
| Figura 6. Cohortes de estudio de este proyecto..... | 63 |
| Figura 7. Partes básicas de un archivo 'Variant calling Format' (VCF)..... | 64 |
| Figura 8. Ejemplo de una variante con la etiqueta de estado PASS..... | 65 |
| Figura 9. Fundamento de las sondas Taqman..... | 72 |
| Figura 10. Gráfico representativo de la discriminación alélica..... | 73 |
| Figura 11. Evaluación de la integridad de las muestras de ADN genómico de la colección de muestras de los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes psiquiátricos con o sin ideación suicida y controles sanos..... | 76 |
| Figura 12. Control de calidad del conjunto de datos de secuenciación..... | 80 |
| Figura 13. Uso de BLASTn para la identificación de secuencias sobrerrepresentadas en el set de datos de secuenciación..... | 81 |
| Figura 14. Gráfico que representa la fracción de las regiones blanco cubiertas y la profundidad de cobertura..... | 83 |
| Figura 15. Localización de los SNP rs470797(<i>MBP</i>), rs1800869 (<i>ALDH3A2</i>) y rs1062677(<i>SLC4A4</i>) en sus respectivos genes..... | 102 |

Lista de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Criterios de inclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles. | 46 |
| Tabla 2. Criterios de exclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles. | 47 |
| Tabla 3. Condiciones de reacción para la amplificación de β -globina. | 55 |
| Tabla 4. Programa de temperaturas para la amplificación de β -globina..... | 55 |
| Tabla 5. Condiciones de genotipificación por qPCR. | 71 |
| Tabla 6. Resumen del proceso de control de calidad de la colección de muestras del estudio. | 74 |
| Tabla 7. Composición de los tres grupos de estudio en que se dividen las 96 muestras que fueron utilizada para la secuenciación de nueva generación..... | 75 |
| Tabla 8. Descripción del conjunto de datos crudos obtenidos de la secuenciación de exoma dirigido en los 96 sujetos de nuestros grupos de estudio..... | 77 |
| Tabla 9. Parámetros estadísticos básicos del conjunto de lecturas crudas de las 96 muestras secuenciadas..... | 77 |
| Tabla 10. Número de lecturas pre y post paso de limpieza con Trimmomatic. | 78 |
| Tabla 11. Evaluación de la calidad del mapeado, cobertura y profundidad de las 96 muestras secuenciadas..... | 84 |
| Tabla 12. Conteo de variantes por cohorte pre y post etapas de filtrado. | 86 |
| Tabla 13. Proporción de las variantes obtenidas de nuestras cohortes que, al anotarlas con los programas de anotación VEP y SnpEff, se reportan como ya conocidas de acuerdo con las bases de datos de las que se alimentan. | 89 |
| | 89 |
| Tabla 14. Conteo de variantes por tipo (SNP, inserciones y deleciones) realizado por el programa de anotación SnpEff..... | 89 |
| | 89 |
| Tabla 15. Conteo acumulado de los eventos de sustitución nucleotídica en los sujetos de las cohortes del estudio y sus respectivas tasas de transición por transversión. | 89 |
| Tabla 16. Número de efectos de las variantes por región genómica en la que se localizan de acuerdo con SnpEff..... | 90 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| Tabla 17. | Número de efectos de las variantes por tipo según la región genómica en la que se localizan. Datos de salida de SnpEff. | 90 |
| Tabla 18. | Recuentos del número de variantes que afectan a cada gen anotado por cohorte. | 91 |
| Tabla 19. | Distribución de las variantes de acuerdo con su frecuencia alélica reportada en las bases de datos de los 1000 Genomas y GnomAD (Genome Aggregation Database) en las cohortes de estudio y el gen con mayor carga de variantes de cada categoría. | 95 |
| Tabla 20. | Clasificación de las variantes de acuerdo con su impacto funcional predicho de acuerdo con SIFT, Poly-Phen-2 por CADD. | 95 |
| Tabla 21. | Variantes con cambio de sentido exclusivas de la cohorte de suicidio. | 96 |
| Tabla 22. | Variantes con cambio de sentido exclusivas de la cohorte de pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida. | 97 |
| Tabla 23. | Variantes que se comparten únicamente entre las cohortes de pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida. | 98 |
| Tabla 24. | Variantes compartidas entre pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida y con los sujetos que consumaron el suicidio. | 99 |
| Tabla 25. | Variantes compartidas entre los pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida y los sujetos que consumaron el suicidio. | 99 |
| Tabla 26. | Polimorfismos seleccionados a partir de las variantes obtenidas del análisis bioinformático y que fueron posteriormente evaluadas mediante PCR tiempo real en el objetivo 3. | 101 |
| Tabla 27. | Frecuencias alélicas de los polimorfismos rs1080869, rs1062677 y rs470797 en casos (grupo de pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles. | 104 |
| Tabla 28. | Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1080869 en el gen ALDH3A2 en casos (grupo de pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles. | 105 |
| Tabla 29. | Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1080869 en el gen ALDH3A2 en casos (pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles. | 106 |

Tabla 30. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs470797 en el gen *MBP* en casos (pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles. . 107

Lista de abreviaturas

| | |
|---------------|--|
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| ADNg | Ácido desoxirribonucleico genómico |
| ARN | Ácido ribonucleico |
| ARNm | Ácido ribonucleico mensajero |
| BAM | Binary Aligment Map |
| BDNF | Factor neurotrófico derivado de cerebro |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| BWA | Burrows Wheeler Aligner |
| C-CASA | Algoritmo de Clasificación de Columbia para la evaluación del suicidio |
| CFG | Genómica Funcional Convergente |
| CFI-S | Información funcional convergente |
| CS | Conductas suicidas |
| C-SSRS | Escala de clasificación de gravedad del suicidio de Columbia |
| CRF | Factor liberador de corticotropina |
| DA | Dopamina |
| DHA | Ácido decahexanoico |
| DLPFC | Corteza dorsolateral prefrontal |
| DST | Dexametasona |
| DM | Depresión mayor |
| dNTPs | Desoxinucleótidos trifosfato |
| EDTA | Etilen-diamino-tetra-acetato |
| EHW | Equilibrio de Hardy-Weinberg |
| FDA | Administración de Medicamentos y Alimentos |
| GABA | Ácido γ -aminobutírico |
| GATK | Genome Analysis Tool Kit |
| GQ | Calidad de genotipado |
| GVCF | Genomic Variant Call Format |
| HPA | Eje Hipotalámico-Pituitario-Adrenal |

| | |
|--------------|--|
| HW | Hardy-Weinberg |
| IDB | Inventario de Depresión de Beck |
| IDS | Intentos de suicidio |
| INEGI | Instituto Nacional de Estadística y Geografía |
| IS | Ideación suicida |
| LC | Locus cerúleo |
| LD | Desequilibrio de ligamiento |
| LCR | Líquido cefalorraquídeo |
| MAF | Frecuencia del alelo menor |
| MQ | Calidad de mapeo |
| NE | Norepinefrina |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| OR | Odds ratio |
| PCR | Reacción en cadena de la polimerasa |
| PFC | Corteza prefrontal |
| qPCR | Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa |
| RFMH | Research Foundation for Mental Hygiene |
| SAM | Sequence Alignment/Map |
| SAT-1 | Espermidina/espermina-N(1)- acetiltransferasa |
| SDM | Síndrome depresivo mayor |
| SIFT | Sorting intolerant from tolerant |
| SNP | Polimorfismo de un solo nucleótido |
| TAE | Tris Acetato EDTA |
| TES | Secuenciación de exoma dirigido |
| TB | Trastorno bipolar |
| UTR | Región no traducible |
| VCF | Variant call format |
| VEP | Variant Effect Predictor |
| VQSR | Variant Quality Score Recalibration |
| VS | Víctimas suicidas |
| WES | Secuenciación de exoma completo |

Lista de símbolos

| | |
|-----|---------------------|
| ® | Registrado |
| °C | Grados Celsius |
| μL | Microlitro |
| μM | Micro molar |
| ≤ | Menor o igual |
| ≥ | Mayor o igual |
| % | Porcentaje |
| g | Gramo, gramos |
| h | Hora, horas |
| kb | Kilobases |
| M | Concentración Molar |
| min | Minuto, minutos |
| mL | Mililitro |
| mM | Milimolar |
| pb | Pares de bases |
| s | Segundo |
| TM | Trade Mark |

Resumen

L.B.G. Antonio Ovalle Carcaño

Título: "Identificación y evaluación en pacientes con síndrome depresivo mayor, de variantes genómicas probablemente asociadas al suicidio obtenidas por secuenciación de exoma dirigido."

Introducción: En México, las tasas de suicidio incrementan cada año. Este severo problema de salud pública es prevenible, sin embargo, para la detección de personas en situación de riesgo, se utilizan métodos que dependen de informes subjetivos de los pacientes. Actualmente, el objetivo es desarrollar pruebas basadas en biomarcadores genéticos que ayuden con la detección, prevención, intervención y tratamiento del suicidio. Esta búsqueda implica la utilización de tecnologías de siguiente generación, como la secuenciación de exoma dirigido. **Objetivo:** Identificar y evaluar variantes genómicas asociadas al suicidio en población mexicana para su utilización como potenciales biomarcadores en pacientes con síndrome depresivo mayor. **Metodología:** : Se realizó la secuenciación de exoma dirigido mediante un panel personalizado de 33 genes asociados previamente con el suicidio. Se secuenciaron 96 muestras conformadas por tres grupos: sujetos que consumaron el suicidio, pacientes psiquiátricos con o sin ideación y controles física y mentalmente saludables. El análisis de llamado de variantes se hizo mediante las herramientas bioinformáticas del GATK. A partir de la lista de variantes obtenidas, se seleccionaron 3 SNP (rs470797, rs1062677 y rs1800869), que fueron genotipificadas mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida y en controles sanos. Se realizaron pruebas de X^2 para comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP entre los grupos de casos y controles. **Resultados:** Se obtuvo un set de datos de alta calidad los cuales contribuyeron a una alta eficiencia de mapeado de éstas sobre la referencia (MQ > 59). Se identificaron un total de 1494 variantes buena calidad (1244 SNP y 250 indels) de las cuales 43.9% no han sido reportadas en las bases de datos. Los genes con mayor número de variantes en el grupo de suicidio fueron: *SPTBN1*, *ARHGAP26*, *MBP*, *PTK2* y *SLC4A4*. Los genes con menor número de variantes fueron *CD24*,

SAT1, APOE, *ATP6V0E1E* e *IL6*. Los efectos más predominantes de las variantes se encuentran enriquecidos en regiones no codificantes. Por su parte, el gen *SPTBN1* y *RECK* fueron los genes mayormente enriquecidos de variantes raras en los sujetos que consumaron el suicidio, mientras que *MBP* lo fue en el de ideación suicida. Se encontraron 125 variantes exclusivas del grupo de sujetos que consumaron el suicidio y 83 del grupo de pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida, de estas últimas una tercera parte afectan la regulación del gen. De estas variantes exclusivas, aproximadamente el 10% afectan el producto de los genes estudiados. Se obtuvieron polimorfismos y mutaciones de riesgo para desarrollar ideación suicida (18) y consumir el suicidio (29). Se obtuvo una tasa ligeramente elevada de tranversiones por transiciones en el grupo de suicidio principalmente, lo cual supondría una mayor probabilidad de alteraciones a nivel regulatorio las cuales se han implicado previamente con la etiología del suicidio. Por último, de los tres SNP seleccionados, únicamente el SNP rs470797 en el gen *MBP* resultó estar significativamente asociado con el síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida ($p < 0.05$). **Conclusión:** Con base en el bajo número de variantes identificadas en genes como SAT1, propuesto como un biomarcador top de la suicidabilidad, se infiere que otro tipo de regulación pudiese estar influyendo en la expresión de dichos genes. La alta proporción de mutaciones con efectos regulatorios dentro del conjunto de variantes exclusivas podría sugerir un papel importante de éstas en la modulación de la expresión de los genes candidatos estudiados. El SNP rs470797 podría ser utilizado como un probable biomarcador de riesgo a presentar síndrome depresivo mayor, sin embargo, hacen falta más estudios para determinar si es posible usarlo para predecir el desarrollo de conductas suicidas en estos pacientes.


Dr. C. Gerardo Raymundo Padilla Rivas

Firma del asesor

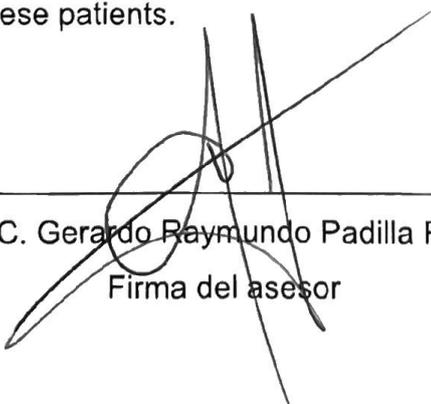
Abstract

L.B.G. Antonio Ovalle Carcaño

Title: "Identification and evaluation in patients with major depressive syndrome of genomic variants probably associated with suicide obtained by targeted exome sequencing."

Introduction: In Mexico, suicide rates increase every year. This severe public health problem is preventable, however, for the detection of people at risk, methods that depend on subjective patient reports are used. Currently, the aim is to develop tests based on genetic biomarkers that supports physicians in the detection, prevention, intervention, and treatment of patients at risk of suicide. The search for these genetic factors involves the use of next-generation technologies, such as targeted exome sequencing. **Objective:** To identify and evaluate genomic variants associated with suicide in Mexican population for use as potential biomarkers in patients with major depressive syndrome. **Methodology:** A targeted exome was sequenced using a personalized panel of 33 genes previously associated with suicide. Ninety-six samples were sequenced, made up of three groups: subjects who completed suicide, psychiatric patients with or without ideation and physically and mentally healthy controls. The variant calling analysis was performed using the bioinformatics tools from GATK. From these variants, three SNP, rs470797, rs1062677 and rs1800869, were selected and assessed by qPCR and Taqman probes for genotyping in cases of psychiatric patients with and without suicidal ideation and in healthy controls. The X^2 tests were performed to compare the allele and genotypic frequencies of the SNPs between the case and control groups. **Results:** A high quality data set was obtained which contributed to a high read mapping efficiency (MQ > 59). A total of 1494 good quality variants were identified (1244 SNP and 250 indels) of which 43.9% have not been reported in the databases. The genes with the highest number of variants in the suicide group were: *SPTBN1*, *ARHGAP26*, *MBP*, *PTK2* and *SLC4A4*. The genes with the lowest number of variants were *CD24*, *SAT1*, *APOE*, *ATP6V0E1E* and *IL6*. Non-coding regions and effects were the most enriched with variants. The most predominant effects of the variants are enriched in

non-coding regions. Meanwhile, *SPTBN1* and *RECK* showed the highest enrichment level of rare variants in the cohort of subjects who completed suicide, while *MBP* gene was the most enriched gene with rare variants in the cohort of psychiatric patients with suicidal ideation. Also, we found 125 exclusive variants of the group of subjects who completed suicide and 83 of the group of patients with major depressive syndrome with suicidal ideation, of which one third has a regulatory effect on the gene where they are located. Furthermore, from these exclusive variants, approximately 10% affect the product of the genes studied. Likewise, polymorphisms and risk mutations were obtained to develop suicidal ideation (18) and to consummate suicide (29). In addition to this, a slightly higher rate of transversions per transitions was obtained in the suicide group mainly, which would imply a higher probability of regulatory alterations which have been previously involved with the etiology of suicide. Finally, from the three selected SNPs, only SNP rs470797 in the *MBP* gene was found to be significantly associated with major depressive syndrome with and without suicidal ideation ($p < 0.05$). **Conclusion:** Based on the low number of variants identified in genes like *SAT1*, proposed as a top biomarker of suicidality, it is inferred that some other type of regulation is influencing the expression of these genes. The high proportion of mutations with regulatory effects within the set of exclusive variants could suggest an important role of these in modulating the expression of the candidate genes studied. The SNP rs470797 could be used as a potential biomarker of risk to develop major depressive syndrome, however, further studies are needed to determine if it is possible to use it to predict the development of suicidal behaviors in these patients.



Dr. C. Gerardo Raymundo Padilla Rivas

Firma del asesor

1 Introducción

1.1 Definición del suicidio.

El suicidio es un fenómeno complejo, relacionado con la interacción de varios cambios neurobiológicos y factores psicosociales. Debido a la confusión de los distintos aspectos que rodeaban al término suicidio, en 1986 un grupo de trabajo de la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció los elementos de una definición de dicho concepto (Diekstra & Egrnond, 1989). Estos elementos son: a) que sea un acto con una consecuencia fatal, b) que sea cometido deliberadamente por el propio difunto, c) que éste tuviera conocimiento o expectativas de su desenlace fatal, d) el difunto mediante este acto pretendía producir cambios que deseaba. El suicidio es un fenotipo complejo debido a sus diversas presentaciones clínicas y a su amplia comorbilidad (Guintivano *et al.*, 2014). Sin embargo, a pesar de ser uno de los problemas de mayor impacto en la salud pública debido a su alta prevalencia en grupos de edad productiva, las estrategias para su detección, tratamiento y prevención son escasas (Bobes, Giner, & Sainz, 2011).

1.2 Epidemiología mundial del suicidio

Según la OMS, cada año se suicidan más de 804,000 personas, lo que supone una tasa de mortalidad "global" de 16 por cada 100,000, que corresponde a una muerte cada 40 segundos. En los últimos 45 años las tasas de suicidio han aumentado en un 60% a nivel mundial. El suicidio es una de las tres primeras causas de defunción entre las personas de 15 a 44 años en varios países y en 2015, la segunda causa en el grupo etario de 15 a 29 años. Estas cifras no incluyen los intentos de suicidio, que son hasta 20 veces más frecuentes que los casos de suicidio consumado. El ahorcamiento, las armas de fuego y la ingestión de plaguicidas son algunos de los métodos más habituales de suicidio en todo el mundo (Organización Mundial de la Salud, 2014)

Se estima que a nivel mundial el suicidio supuso el 1.4% de la carga global de morbilidad en 2012 y que en 2020 representará el 2.4% en los países con

economías de mercado y en los antiguos países socialistas. Aunque tradicionalmente las mayores tasas de suicidio se han registrado entre los varones de edad avanzada, las tasas entre los jóvenes han ido en aumento hasta el punto de que ahora estos son el grupo de mayor riesgo en un tercio de los países desarrollados y en vías de desarrollo (Organización Mundial de la Salud, 2014).

1.3 Epidemiología del suicidio en México

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en México de 1990 al 2015, la tasa se duplicó de 2.2 a 5.2 suicidios por cada 100 mil habitantes. Durante el 2015 se registraron en el país 6,285 suicidios, de los cuales 81.7% fueron consumados por hombres y 18.2% por mujeres, lo que significa que ocurren cuatro suicidios de hombres por cada suicidio de una mujer (INEGI, 2017).

Con base en la actualización de datos más reciente que brinda el INEGI, en 2015 la tasa de suicidios en el estado de Nuevo León se mantuvo constante, registrándose en promedio un total de 234 muertes en un lapso de 5 años, lo que representa el 1% del total de fallecimientos reportados en el estado. De estos 234 decesos por suicidio, el 82% de los casos corresponde a hombres (en promedio 195 muertes al año) mientras que el 17% se presentó en mujeres (en promedio 31 muertes al año) (INEGI, 2017).

1.4 Factores de riesgo

La comprensión de la etiología de este problema de salud pública es importante, pero difícil debido a su origen complejo y multifactorial. Aunque la mayor parte de la conducta suicida se produce en el contexto de un trastorno del estado de ánimo, no hay una relación lineal entre la gravedad del episodio depresivo y la probabilidad de que el suicidio sea consumado, destacando la importancia de otros factores de riesgo, además de la enfermedad psiquiátrica, como factores demográficos, psicosociales, enfermedades físicas, características psicológicas y factores

familiar/genéticos, que tienen diferente impacto personal dependiendo de la vulnerabilidad o resistencia de los individuos (Pawlak *et al.*, 2016).

1.4.1 Factores psiquiátricos

De acuerdo con las estadísticas, el suicidio tiene una fuerte relación con las patologías mentales. Las enfermedades con las que se ha relacionado un riesgo elevado a presentar comportamiento suicida son: depresión mayor, trastorno bipolar, esquizofrenia, alcoholismo, abuso de sustancias y ansiedad como patología primaria o comorbilidad. Si bien es cierto que no todos los pacientes que padecen alguna enfermedad psiquiátrica desarrollarán comportamiento suicida, se ha demostrado que padecer una enfermedad de este tipo o tener factores genéticos predisponentes, aumenta el riesgo suicida en comparación con la población en general (Savitz, Cupido, & Ramesar, 2006). Por otro lado, también es importante aclarar que el riesgo suicida no es necesariamente un síntoma de las enfermedades psiquiátricas y se basan más en síntomas específicos o circunstancias experimentadas por pacientes con dichos padecimientos.

Se estima que cerca del 5% de las personas con esquizofrenia se suicidan y que más de la mitad de las personas con este trastorno han considerado la opción del suicidio al menos una vez en un punto de su vida (Palmer, Pankratz, & Bostwick, 2005). Otra estadística relevante con respecto a la relación suicidio-trastorno psiquiátrico es que el 90% de las personas que han muerto por suicidio en los Estados Unidos tuvieron depresión, abuso de sustancias y otras enfermedades mentales (Radomsky *et al.*, 1999)

En estudios genéticos se sugiere que la heredabilidad específica de la suicidabilidad podría estar cerca del 17.4% para los intentos de suicidio y del 36% para la ideación suicida (Fu *et al.*, 2002). La ideación y conducta suicida se co-transmiten junto a otros trastornos psicopatológicos con patrones distintos como la agresión impulsiva y los trastornos del estado de ánimo, respectivamente (Brent *et al.*, 1996; Lieb *et al.*, 2005).

Con estudios de autopsias psicológicas que confirman la presencia de uno o más trastornos en al menos un 90% de los decesos por suicidio y que, entre más diagnósticos, mayor es el riesgo potencial de quitarse la vida (Bobes *et al.*, 2011). Es importante agregar que, la gran mayoría de los individuos con trastornos mentales (más del 98%) no mueren por suicidio y que hay algunos de estos que confieren mayor riesgo al suicidio que otros.

Mermas en sistemas bioquímicos como el noradrenérgico y el eje HPA se han asociado con el desarrollo de una enfermedad mental y un posterior aumento del riesgo suicida, lo cual se explica como el resultado de un período prolongado y severo del padecimiento de un trastorno psiquiátrico el cual pudo haber agotado al sistema en turno, en especial al eje HPA del cual hay mayor evidencia (Courtet, 2017).

La noción que se tiene es que los trastornos psiquiátricos emergen de patrones anormales de expresión génica relacionados a cambios en la proteína y los niveles de metabolitos vinculados a las redes perturbadas que provocan la enfermedad (Turck, 2008).

1.4.1.1 Síndrome depresivo mayor

Se presenta en otros trastornos psiquiátricos como el trastorno bipolar (TB) y la depresión mayor (DM). Se manifiesta como un grupo de signos y síntomas principalmente del tipo afectivo (irritabilidad, tristeza profunda, desesperanza, odio a sí mismo y culpa) y, en menor proporción, del tipo cognitivo y pérdida de interés, placer y apetito, ideas de muerte, suicidio e insomnio (Álvarez *et al.*, 2012; Courtet, 2017).

1.4.1.2 Trastorno depresivo mayor

Hasta el 70% de los sujetos que han intentado el suicidio estuvieron deprimidos al momento del gesto. En total, 15% de los pacientes que sufren de depresión se suicidará. Se presenta en todos los grupos de edad, siendo el grupo etario entre los 30-40 el de mayor riesgo. Se diagnóstica cuando el paciente, durante al menos 2 semanas, ha presentado 5 de los 9 síntomas que son: decaimiento y fatiga, pérdida de energía, insomnio, dificultad de concentración, pérdida del apetito, irritabilidad e inquietud, sentimiento de culpa y pensamiento negativos. Se atribuye a alteraciones en los circuitos cortico-estriato-límbicos, metabolismo reducido en la corteza prefrontal dorso lateral y reducción del volumen de materia gris en esta región del cerebro, entre otros endofenotipos (Álvarez *et al.*, 2012; Courtet, 2017; Guest, 2019; Lubotsky & Ardis, 2020).

1.4.1.3 Trastorno bipolar

Entre un 25-50% de los pacientes con trastorno bipolar realiza un intento de suicidio. Se manifiesta como episodios de estados de ánimo elevados, expansivos o irritables (manía, hipomanía) alternando con episodios de depresión de duración y grados de intensidad variable. Resultados de neuroimagen han evidenciado la pérdida de materia gris en la red cerebral cognitiva cortical, así como una mayor activación en las regiones límbicas ventrales en respuesta a estímulos emocionales (Álvarez *et al.*, 2012; Courtet, 2017; Guest, 2019; Lubotsky & Ardis, 2020).

1.4.1.4 Esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno complejo caracterizado por tres dominios de síntomas principales de delirios, alucinaciones y habla y comportamientos desorganizados, con una edad típica de inicio en la adolescencia tardía o la edad adulta temprana. Los pacientes esquizofrénicos tienen un alto riesgo de muerte prematura en comparación con la población general y otros trastornos psiquiátricos. La muerte por suicidio representa la causa más frecuente de muerte (10-15%). El riesgo de suicidio de por vida en la esquizofrenia es de aproximadamente el 5%.

Del 20 al 40% de los pacientes intentarán suicidarse al menos una vez. Los pacientes con esquizofrenia tienen diferencias en la estructura cerebral, el volumen cerebral, el metabolismo de la glucosa y el flujo sanguíneo en reposo y durante la realización de tareas cognitivas (Courtet, 2017; Guest, 2019; Lubotsky & Ardis, 2020).

1.4.2 Factores psicológicos

Numerosas características y rasgos personales han sido señalados como vulnerabilidades que podrían propiciar el desarrollo de CS. En una revisión sistematizada de literatura consistentemente se encontró que la impulsividad/agresividad, la depresión, la desesperanza, la ansiedad y la autoconciencia/desconexión social tienen un vínculo con el suicidio. Estas características tienden a empeorar el efecto de factores de riesgo sociales y psiquiátricos en pacientes individuales (Conner *et al.* 2001). En pacientes psiquiátricos con depresión una serie de variables cognitivas que podrían servir como predictores de ideación suicida (IS) se determinó que la desesperanza, auto-negatividad, polarización (pensamiento de todo o nada), pobre rendimiento de su capacidad de resolución de problemas, bajo nivel de restricción del campo perceptual están asociados con la IS (Hughes & Neimeyer, 2007).

1.4.3 Conducta suicida previa

La ideación suicida y la presencia de planificación aumentan considerablemente el riesgo de suicidio. Mientras que los intentos previos son el predictor más fuerte de riesgo suicida ya que este factor está presente en un tercio de los suicidios completados. Autores mencionan que personas con un intento previo tienen entre 40 y 66 veces más riesgo de suicidio que la población general. Durante los primeros 6 a 12 meses después del intento, el riesgo aumenta entre 20 y 30 veces (Álvarez *et al.*, 2012; Goñi-Sarriés *et al.* 2018).

1.4.4 Historia familiar de suicidio

La conducta suicida, aunque es multifactorial, mucho depende del historial de suicidio dentro de las familias y, no solo de eventos consumados, sino también de los intentos, así como de evidencia de trastornos psiquiátricos aumentan el riesgo de suicidio en personas vulnerables. De acuerdo con diversos estudios, estas conductas tienen un componente genético que se hereda dentro de familias. Se reporta la probabilidad de ocurrencia con un odds ratio (OR) de 1.7–10.62 para familiares de primero o segundo grado, cuando se ajusta por grado de relación, lo que indica que factores distales pueden incrementar el riesgo de suicidio (Brent *et al.*, 1996; Kim *et al.*, 2005; Tidemalm *et al.* 2011). Otras investigaciones sugieren que la heredabilidad del suicidio consumado es del 43% cuando se tienen parientes de primer grado que hayan cometido este acto (Mcguffin *et al.* 2001). Además, se ha descartado que la conducta suicida sea por imitación mediante estudios en hijos adoptivos en donde se ha observado que hay concordancia con el historial de eventos suicidas entre los miembros de la familia biológica y no con los adoptivos (Wender *et al.*, 1986). Por último, estudios en gemelos han revelado que hay una mayor tasa de concordancia (es decir, que la condición aparezca en ambos individuos) para que los gemelos idénticos o monocigóticos presenten CS que, en los gemelos fraternales o dicigóticos, y que, en estos últimos, la tasa se asimila más a aquella encontrada en estudios con familiares de primer grado (Voracek & Loibl, 2007).

1.4.5 Factores genéticos y biológicos

Como se expondrá a detalle más adelante, el suicidio corre en familias, es decir, individuos tienen mayor riesgo de desarrollar CS si algún miembro de ella ha intentado quitarse la vida o ha consumado el acto (Alec-Roy, 1983). Por estos hallazgos es que se cree que en este fenómeno hay factores genéticos involucrados. Reportes indican que la variabilidad en el espectro de conductas que comprenden este fenotipo es explicada en un 43% por efectos genéticos aditivos (Mcguffin *et al.*, 2001). La contribución de factores genéticos aditivos se estima que

es del 30 al 50% para conductas suicidas que incluyen ideación, planes e intentos (Voracek & Loibl, 2007). La heredabilidad del suicidio y las CS parecen estar determinadas por al menos dos componentes:

- 1) La predisposición hereditaria de padecer un trastorno psiquiátrico.
- 2) La predisposición hereditaria a la agresión impulsiva o a otros rasgos de la personalidad.

Por lo tanto, la concordancia de estos dos factores en un individuo resulta en un mayor riesgo de presentar CS (Bondy, Buettner, & Zill, 2006). A pesar de que la búsqueda de los genes que predisponen a las CS ha resultado en más de 100 estudios publicados hasta la fecha, el éxito ha sido parcial, estancándose en un punto en el que se ha identificado una serie de genes candidatos que, en la práctica, no son concluyentes a la hora de explicar la herencia compleja que se supone a este tipo de comportamientos (Savitz *et al.*, 2006).

1.5 Factores protectores

Los factores protectores de la conducta suicida pueden definirse como condiciones individuales y medioambientales que promueven la fuerza y capacidad de recuperación y aseguran que las personas con vulnerabilidad reciban apoyo y estén en contacto con otras personas durante momentos difíciles o de crisis, lo que reduce la probabilidad de presentar conductas suicidas. Estos se pueden clasificar en (Álvarez *et al.*, 2012):

- Personales: autoconfianza, habilidad en la resolución de conflictos o problemas y para las relaciones sociales e interpersonales, flexibilidad cognitiva, nivel educativo medio-alto, actitud y valores positivos y hábitos de vida saludable.
- Sociales o medioambientales: apoyo familiar y social, integración social, religiosidad, disponer de sistemas de ayuda y recursos y adoptar valores culturales y tradicionales.

Los estudios que se centran en los factores protectores y su rol en la reducción del riesgo suicida en la infancia y en la adolescencia son menos numerosos en comparación con aquellos hechos sobre los factores de riesgo (Stone *et al.*, 2017).

1.6 Definiciones de ideación y conducta suicida

La conducta suicida es un espectro de acciones y procesos de pensamiento. La progresión del riesgo potencial aumenta conforme con la severidad de las conductas, las cuales van desde ideas de muerte hasta la consumación del suicidio (Courtert, 2017).

La ideación suicida (IS) es la consideración del suicidio, es decir, una preocupación sobre éste que sobrepasa lo normal. Es la primera manifestación que se puede identificar en el proceso suicida de un sujeto y razón por la cual éste debe estar bajo vigilancia ya que en el futuro próximo podría intentar el suicidio. Mientras tanto, el intento suicida es la conducta de un individuo que trata de causarse daño a sí mismo, con la intención deliberada y consciente de morir como resultado de tal conducta (Hidalgo-Rasmussen & Hidalgo-San Martín, 2009; Jacobs *et al.*, 2010; Posner *et al.*, 2010; Stone *et al.*, 2017).

Otras conductas relacionadas al suicidio son:

- Comunicación suicida: acto verbal o no verbal que se puede definir como una amenaza de suicidio (posible comportamiento suicida en el futuro cercano) o como un plan de suicidio (proposición de un método para una posible conducta suicida).
- Intento interrumpido: cuando en medio de la ejecución del acto suicida por parte de un sujeto, éste es detenido por algo o alguien.
- Suicidio abortado: cuando una persona comienza los preparativos para terminar con su vida, pero se detiene por su propia cuenta.
- Suicidio completado: acto intencionado de autolesión que provoca la muerte al sujeto.

- Planeación suicida: formulación del método específico mediante el cual uno tiene la intención de morir.
- Gesto suicida: acciones con o sin intención de morir que pueden llevar a la muerte.
- Expresión suicida: acciones y expresiones sobre la propia muerte.

1.7 Evaluación de riesgo suicida.

La estimación del riesgo de suicidio es un proceso complejo debido a la propia naturaleza de la conducta suicida y las dificultades metodológicas que subyacen a su investigación, sin embargo, es una parte fundamental en el manejo y la prevención de la conducta suicida, tanto en atención primaria como en atención especializada. Las dos herramientas básicas para la evaluación del riesgo de suicidio son la entrevista clínica y las escalas de evaluación, las cuales son un complemento o apoyo para el juicio clínico (Álvarez *et al.*, 2012).

1.7.1 Entrevista clínica

La entrevista clínica es el instrumento esencial en la valoración del riesgo suicidio. Éstas suponen el inicio de la interacción paciente – profesional, por lo que puede jugar un rol importante en la reducción del riesgo suicida. Durante esta entrevista, además de realizarse una evaluación psicopatológica, deben recolectarse variables sociodemográficas y aquellos factores de riesgo y protectores que permitan un abordaje integral del riesgo suicida. Una adecuada evaluación psicopatológica y social debe incluir (Álvarez *et al.*, 2012).

- Evaluación de los factores psicológicos y contextuales que expliquen por qué ha tenido lugar una conducta suicida (antecedentes).
- Las características de la conducta suicida, con las que se busca identificar los elementos que podrían predecir su repetición.

Las entrevistas estructuradas de diagnóstico en psiquiatría han resuelto el problema de la varianza en la obtención de la información y ello ha facilitado la

reproducibilidad de los hallazgos científicos. El resultado de la aplicación de estas entrevistas estructuradas debe ser el diagnóstico clínico confiable, es decir que detecten de forma adecuada a los sujetos que portan un trastorno (Apsiquián, Fresán, & Nicolini, 2000).

1.7.2 Escalas de evaluación

Son instrumentos psicométricos diseñados para evaluar el riesgo de suicidio que suelen basarse en la valoración directa de ideas/conductas suicidas y factores de riesgo, en síntomas o síndromes asociados al suicidio, como la desesperanza, la depresión, etc. Son complementarios a los instrumentos abordados anteriormente.

Actualmente, la Agencia de Medicamentos y Alimentación (FDA) promueve el uso de un cuestionario de cribado para las diferentes categorías de conductas suicidas en todos los ensayos clínicos: Escala de Gravedad de Suicidio de Columbia (C-SSRS). Esta escala examina las características esenciales de los pensamientos suicidas: su frecuencia y duración, el dominio sobre los pensamientos, existencia de impedimentos y supuesto propósito de un acto potencial. Puede predecir la ocurrencia de un intento de suicidio en pacientes adolescentes y adultos. Fue desarrollado para distinguir los dominios de ideación suicida, comportamiento autolesivo suicida y no suicida, diferenciar los tipos de pensamientos y comportamientos y proporcionar definiciones estándar y preguntas sugeridas para guiar la evaluación (Courtet, 2017).

La escala de desesperanza de Beck (Beck Hopelessness Scale) fue diseñada para medir la gravedad del pesimismo personal y las expectativas negativas hacia el futuro a corto y largo plazo. La desesperanza es un factor de riesgo ampliamente asociado con la conducta suicida y un blanco de los tratamientos actuales. Este cuestionario consta de 20 preguntas de verdadero o falso. Cada respuesta es puntuada en 0 o 1, por lo que el rango de puntuación oscila de 0 a 20. Puntajes iguales o mayores a 9 indicarían riesgo de suicidio (Álvarez *et al.*, 2012).

1.8 Medicina personalizada hacia la prevención del suicidio y las enfermedades psiquiátricas.

La prevención del suicidio comienza con la detección de las personas en situación de riesgo. Hasta nuestros días, esto se basa en los informes subjetivos de las personas en situación de riesgo a quienes se les pregunta directamente. Además, las personas en situación de riesgo a menudo no comparten sus intenciones o ideas con otros por temor al estigma, a la hospitalización o que sus planes sean frustrados. Dichos enfoques son insuficientes y están atrasados en comparación de los utilizados en otras especialidades médicas, ya que carecen de precisión, objetividad y capacidad predictiva. Marcadores objetivos y cuantificables permitirían evaluación más precisa, rastreabilidad y predicción del riesgo suicida lo cual haría posibles intervenciones terapéuticas preventivas. Por estas razones, el hallazgo de biomarcadores objetivos asociados al suicidio podría ayudar a predecir cuáles de las personas en situación de riesgo, van a intentar el suicidio. Las pruebas biológicas podrían aumentar sustancialmente la especificidad y sensibilidad de los modelos de predicción de suicidio y mejorar las estrategias de evaluación y gestión de riesgos. En efecto, la identificación de biomarcadores fiables y el desarrollo de modelos predictivos del suicidio, mediante la combinación de biomarcadores, los datos clínicos y neuropsicológicos tendrán implicaciones para la evaluación clínica, intervención y tratamiento (Le-Niculescu *et al.*, 2013; Niculescu *et al.*, 2017).

La necesidad de categorizar y validar biomarcadores ha crecido al punto de posibilitar a los médicos la asignación de tratamientos específicos a un paciente e incrementar la probabilidad de un resultado óptimo y personalizado. La meta de la medicina personalizada en psiquiatría sería la caracterización de la variabilidad de los pacientes mediante genotipificación lo cual podría guiarnos a tratamientos para fenotipos específicos y así reducir efectos secundarios o permitir la detección de una señal de eficacia rápidamente sin toxicidad potencial (Guest, 2019).

1.9 Búsqueda de biomarcadores asociados al suicidio

Un biomarcador se define como una característica que es objetivamente medible y evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica. Se menciona que puede ser cualquier sustancia, estructura, proceso o productos de éste que sean cuantificables en el cuerpo, y que su influencia o predicción acerca de la incidencia del resultado o la enfermedad. Las metas de las aplicaciones de los biomarcadores en psiquiatría son: diagnóstico, pronóstico, predicción y evaluación de la respuesta al tratamiento, la prevención de reacciones adversas a fármacos, clasificación en categorías dentro del diagnóstico y la predicción de efectos de intervención. También, podrían definir: la etapa en la que se encuentra un trastorno psiquiátrico, el riesgo a vulnerabilidad a través de las etapas, progresión de un síndrome y de epifenómenos (Guest, 2019). Aunque el suicidio no sea una enfermedad psiquiátrica como tal, gran porcentaje de los casos de muertes por esta causa suceden en el marco de una de estas patologías.

1.9.1 Biomarcadores bioquímicos

Los biomarcadores bioquímicos más relevantes para estimar el riesgo de suicidio son: la ausencia de supresión en la prueba de supresión con dexametasona (DST) reflejando disfunción del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HPA), un marcador de la respuesta de estrés agudo y concentraciones reducidas del principal metabolito de la serotonina, el ácido 5-hidroxiindol acético (5-HIAA) en el líquido cefalorraquídeo (LCR), como un marcador de la diátesis (Courtet, 2017).

1.9.2 Biomarcadores genéticos

La genotipificación permite determinar variaciones genéticas entre individuos en una población. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son el tipo más común de variación genética. Estos cambios en el genotipo pueden conferir resultados fenotípicos positivos o negativos, por ello los SNP son a menudo marcadores útiles para comprender la biología de los organismos (Helyar *et al.*,

2011). Los SNP se han convertido en los marcadores de elección para el mapeo de enlace y desequilibrio de ligamiento (LD) debido a su alta abundancia, bajas tasas de mutación y la susceptibilidad al análisis de alto rendimiento. Los SNP son marcadores adecuados para la tipificación de alto rendimiento automatizada mediante tecnologías como microarreglos y secuenciación de nueva generación (NGS) (Chen *et al.* 2014).

1.10 Genes candidatos con probable asociación al suicidio.

Entre los genes candidatos propuestos en los distintos estudios de asociación se encuentran genes que codifican proteínas involucradas en la regulación del estado de ánimo del individuo y relacionadas directamente con síntomas de depresión, además de sus moléculas transportadoras, receptores, entre otros.

Niculescu y colaboradores (2013), aplicando un enfoque de Genómica Funcional Convergente (CFG, por sus siglas en inglés), determinaron que genes relacionados al estrés, inflamación, apoptosis y a las vías de señalización del DHA (ácido docosahexaenoico) podrían estar asociados con la suicidabilidad. CFG es un enfoque combinado de gran alcance para eliminar la señal de ruido en los estudios genéticos y de expresión de genes. La CFG integra y traduce varias líneas independientes de evidencia genética y datos genómicos funcionales, a partir de estudios en humanos y modelos animales, como una estrategia bayesiana para identificar y priorizar los resultados. El puntaje que recibe cada tipo de evidencia existente para un cierto gen candidato a biomarcador del suicidio se representa en la figura 1. Esto reduce los falsos positivos y falsos negativos inherentes a cada enfoque individual. La metodología CFG ya se ha aplicado con cierto éxito para ayudar a identificar y priorizar los genes candidatos, las vías y los mecanismos de algunos trastornos neuropsiquiátricos, así como el descubrimiento de biomarcadores en la sangre para trastornos del estado de ánimo.

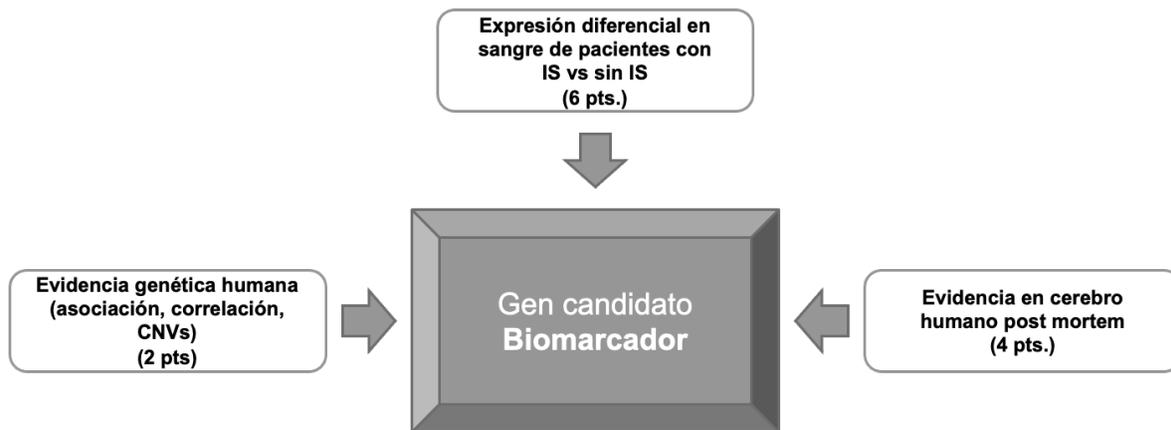


Figura 1. Genómica funcional convergente. Enfoque utilizado para la identificación y priorización de genes candidatos asociados al suicidio con base en evidencia genética humana, evidencia de expresión diferencial en sangre de pacientes con o sin ideación suicida y evidencia en tejido cerebral post mortem.

1.11 Secuenciación de exoma en el estudio de enfermedades psiquiátricas y neurológicas.

Las contribuciones de los biomarcadores genéticos en el suicidio y en trastornos psiquiátricos pueden ser examinados mediante dos tecnologías de genotipificación que han ganado terreno en la presente década: la secuenciación de genoma completo y secuenciación de exoma. La secuenciación de exoma consiste en secuenciar selectivamente los nucleótidos de exones que codifican proteínas en un individuo y ha sido introducida como un enfoque alternativo y eficiente para el estudio de enfermedades mendelianas y enfermedades comunes. Proyectos con dicha tecnología están siendo desarrollados como intento para elucidar el espectro completo de las variaciones genéticas humanas como base para investigar la relación entre genotipo y fenotipo (Warr *et al.*, 2015).

En el presente trabajo se hizo uso de una variante de la secuenciación de exoma completo (WES) la cual es llamada secuenciación de exoma dirigido (TES) que se basa en la introducción de un paso de enriquecimiento donde genes específicos o regiones están selectivamente amplificadas usando paneles de genes en una simple reacción de PCR. TES logra una profundidad de la cobertura de hasta 5,000

veces comparada con la cobertura de 100 veces que alcanza WES, lo cual posibilita la identificación de variantes de baja frecuencia asociadas con una enfermedad en particular. Las variantes raras sólo pueden ser descubiertas a través de secuenciación de genoma y exoma completo o estudios basados en la familia (Courtet, 2017).

Se ha utilizado WES en estudios de búsqueda de genes de riesgo para enfermedades como el trastorno del espectro autista y esquizofrenia; en estos se encontraron variantes *de novo* potencialmente disruptivas de la función de la proteína y severos efectos sobre el neurodesarrollo (Satterstrom *et al.*, 2020; B. Xu *et al.*, 2011). También se ha reportado que con el empleo de WES para el estudio de genes de riesgo del trastorno bipolar en los cuales se lograron encontrar variantes nuevas (Kato, 2015; Schreiber, Dorschner, & Tsuang, 2013).

De igual manera, se ha puesto en práctica en el estudio de cáncer de próstata en donde se han encontrado mutaciones somáticas puntuales y alteraciones en el número de copias en genes supresores de tumor y oncogenes (Lonigro *et al.*, 2011). Por su parte, TES ha sido utilizado para búsqueda de variante somáticas disruptivas en genes supresores de tumores mismas que sugieren regulación aberrante de la cromatina (Duns *et al.*, 2012).

2 Justificación

El suicidio es un grave problema de salud pública, sin embargo, es prevenible mediante intervenciones oportunas. El primer paso para la prevención del suicidio es la detección de las personas en situación de riesgo. Esto no es una tarea fácil y hasta ahora se basa en los informes subjetivos de dichas personas obtenidos a través de entrevistas clínicas y escalas de evaluación. Sin embargo, ellas a menudo no dan a conocer sus ideas o pensamientos suicidas por temor al estigma, a ser hospitalizados o a que sus planes sean frustrados.

Debido a lo anterior y a que las estadísticas nacionales señalan un aumento en las tasas de suicidio anuales sobretodo en la población en edad productiva, el hallazgo de biomarcadores asociados al suicidio podría ayudar a predecir cuáles de las personas en situación de riesgo, con el tiempo van a intentar suicidarse. La identificación de biomarcadores fiables y el desarrollo de modelos más precisos para la predicción del suicidio, probablemente mediante la combinación de biomarcadores, los datos clínicos y neuropsicológicos serán esenciales para la detección temprana, evaluación clínica, intervención, tratamiento y prevención del suicidio.

Este trabajo de tesis pertenece al proyecto titulado: “Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio” aprobado por CONACyT en la convocatoria de Atención a Problemas Nacionales 2017 con número de registro 5012.

En este proyecto se está realizando un abordaje multidisciplinario donde se realiza una búsqueda de biomarcadores en áreas como la farmacogenómica, epigenética, imagenología, metabolitos séricos, microARN y ARNInc, entre otros.

En esta tesis de maestría nos enfocamos en la identificación de variantes genómicas en genes descritos anteriormente con asociación al suicidio mediante tecnologías de secuenciación de siguiente generación y herramientas bioinformáticas.

3 Hipótesis de trabajo

La combinación de algunas de las variantes genómicas que muestran asociación con el suicidio en los 33 genes de estudio son potenciales biomarcadores para detectar la conducta suicida en pacientes mexicanos con síndrome depresivo mayor.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

Identificar y evaluar variantes genómicas asociadas al suicidio en población mexicana para su utilización como potenciales biomarcadores en pacientes con Síndrome Depresivo Mayor.

4.2 Objetivos específicos

- 1.- Realizar el control de calidad de la secuenciación y el mapeado de las lecturas a partir de un genoma de referencia.
- 2.- Identificar las variantes genómicas probablemente asociadas al suicidio.
- 3.- Evaluar en pacientes con Síndrome Depresivo Mayor las variantes seleccionadas a partir de la lista de variantes identificadas en el objetivo 2.

5 Diseño experimental

5.1 Estrategia general

Este estudio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la UANL, con la clave BI18-00002 (Anexo 1). Para nuestro grupo de estudio se utilizaron muestras ADN genómico de una colección histórica proveniente de personas que consumaron el suicidio (grupo 1), proporcionada por el Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. Estas muestras no requirieron de la firma de un consentimiento informado pues son parte de una colección histórica.

Por otro lado, se invitó a participar a pacientes con síndrome depresivo mayor ideación suicida (grupo 2), así como sujetos controles físicamente saludables sin antecedentes de enfermedades psiquiátricas ni ideación suicida (grupo 3). Cada uno de los participantes leyeron y firmaron la carta de consentimiento informado, contestaron una hoja de recolección de datos, así como tres escalas psiquiátricas: 1) el Inventario de Depresión de Beck, 2) la escala de Columbia para evaluar la seriedad de la ideación suicida (C-SSRS) y 3) la escala de Información Funcional Convergente para el suicidio (CFI-S). A cada uno de los participantes se le tomó una muestra de sangre venosa periférica y se realizó la extracción de ADN genómico a partir de ellas.

Previo a este proyecto de tesis, se realizó la secuenciación de exoma dirigido de 33 genes en 96 muestras de ADN genómico de los tres grupos anteriormente mencionados. Los datos generados de la secuenciación fueron sometidos a análisis bioinformáticos para el control de calidad de las secuencias. Posteriormente, se llevó a cabo la identificación de las variantes genómicas. De la lista de variantes resultante se seleccionaron 5 con base en criterios como la calidad de genotificado, el valor predictivo de alteración de la funcionalidad de obtenidos mediante herramientas como SIFT y PolyPhen 2, así como la frecuencia del alelo menor (MAF) de la variante en cuestión. Después, dichas variantes fueron validadas

mediante secuenciación de Sanger por electroforesis capilar en las muestras del grupo 1 donde se encontró la variante en cuestión. Finalmente, las variantes ya validadas fueron evaluadas mediante PCR tiempo real en los grupos 2 y 3. Se hicieron los análisis de proporciones correspondientes mediante SPSS.

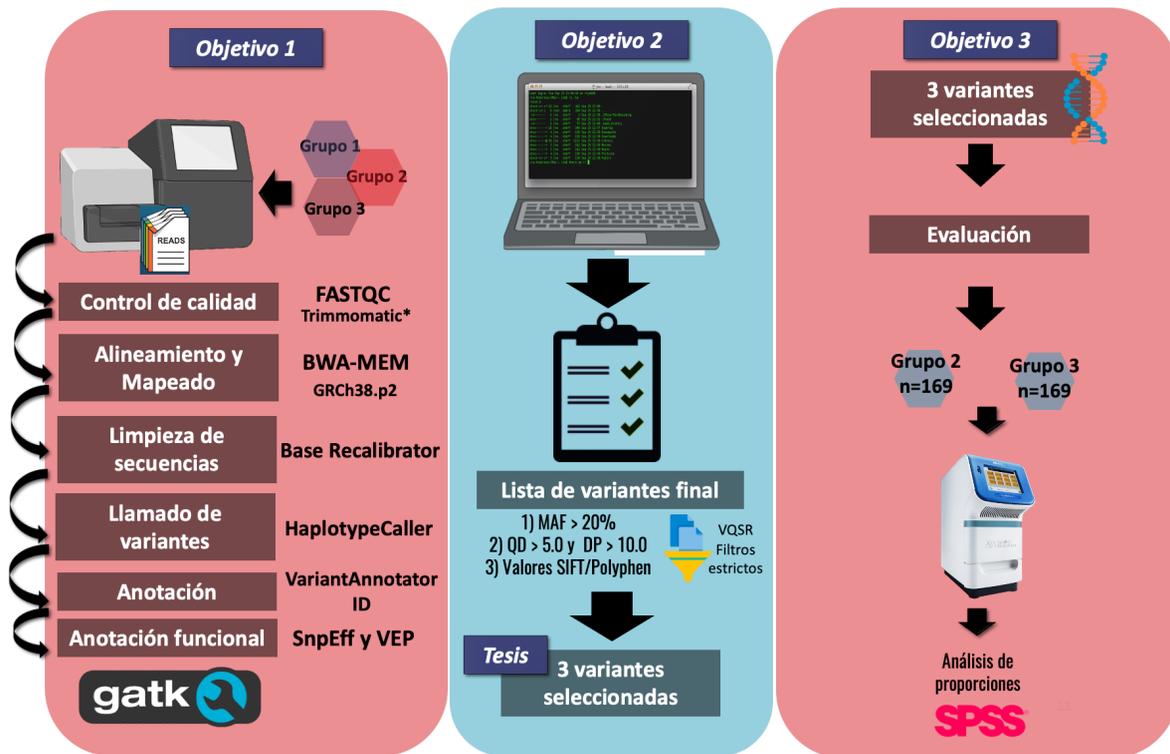


Figura 2. Estrategia general. Comprendió las etapas de control de calidad de los datos crudos, mapeado de las lecturas contra un genoma de referencia (objetivo 1); identificación y selección de las variantes genómicas mediante el análisis bioinformático (objetivo 2) y, por último, la evaluación de dichas variantes en pacientes con Síndrome depresivo mayor con o sin ideación suicida mediante PCR tiempo real (objetivo 3).

5.2 Diseño del experimento

La presente investigación es un estudio de casos y controles, transversal y observacional.

5.3 Financiamiento

El presente proyecto está dentro de un protocolo que ya ha sido sometido y aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con la clave BI18-00002 y fue financiado por fondos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) para Atención a Problemas Nacionales con el número de registro: 5012.

5.4 Lugar de trabajo

El desarrollo experimental del proyecto tuvo como sede el Laboratorio de Genómica y Bioinformática, perteneciente al Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL, así como en la Unidad de Terapias Experimentales y Unidad de Genómica del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, UANL.

5.5 Muestras del estudio

Para este estudio se utilizaron muestras divididas en tres grupos:

- **Grupo 1:** ADN genómico de personas que consumaron el suicidio que provinieron del archivo histórico de tejido del Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario 'Dr. José Eleuterio González'.

Se emplearon también muestras de ADN genómico proveniente de sangre periférica de pacientes y controles:

- **Grupo 2:** pacientes diagnosticados con síndrome depresivo mayor e ideación suicida los cuales fueron evaluados por un psiquiatra.
- **Grupo 3:** controles físicamente saludables que no tengan diagnóstico de algún trastorno psiquiátrico y que no presenten ideación suicida.

A cada participante, tanto paciente como control, se le dio información detallada oral y escrita acerca del protocolo. Si accedían a participar, los sujetos firmaron de manera voluntaria la carta de Consentimiento informado (Anexo 2) para posteriormente realizar la toma de muestra de sangre periférica.

En adición a esto, se obtuvieron los datos demográficos, antecedentes médicos e historial psiquiátrico familiar mediante la hoja de recolección de datos (Anexo 3). Además, a cada participante les fue realizada una evaluación del riesgo suicida y depresión haciendo uso de tres escalas: C-SSRS (Anexo 4), que es utilizada para evaluar si los individuos presentan ideación suicida, el IDB (Anexo 5), el cual sirve para examinar el grado de depresión que presenta el sujeto y la escala de Información Funcional Convergente para el suicidio de Niculescu y colaboradores (Anexo 6), que sirve para valorar los factores que podrían causar intentos suicidas tal como salud mental, física y ambiental, riesgos culturales, edad y género.

5.5.1 Criterios de inclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles.

Tabla 1. Criterios de inclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles.

| | | |
|----------------|--|--|
| Grupo 1 | Sujetos que consumaron el suicidio | <ul style="list-style-type: none"> • Sujetos cuya causa del fallecimiento haya sido el suicidio. • Contar con biopsia de tejido en archivo histórico del Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario. • Contar con los datos de género, edad y métodos de suicidio. |
| Grupo 2 | Pacientes con síndrome depresivo mayor con o sin ideación suicida. | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor de 18 años. • Físicamente saludable. • Valorado por un psiquiatra que dictamine que tiene ideación suicida. |
| Grupo 3 | Controles | <ul style="list-style-type: none"> • Mayor de 18 años. • Físicamente saludable. • No padece de algún trastorno psiquiátrico. • No presenta ideación suicida. |

5.5.1 Criterios de exclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles.

Tabla 2. Criterios de exclusión para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles.

| | | |
|----------------|--|--|
| Grupo 1 | Sujetos que consumaron el suicidio | <ul style="list-style-type: none"> • Haber fallecido por otra causa que no sea suicidio. |
| Grupo 2 | Pacientes con síndrome depresivo mayor con o sin ideación suicida. | <ul style="list-style-type: none"> • No está físicamente saludable. • Que el psiquiatra haya dictaminado que no presenta ideación suicida. • Si presenta infección por VIH, hepatitis B, infecciones bacterianas o virales no controladas. • Incapacidad de dar su consentimiento. |
| Grupo 3 | Controles | <ul style="list-style-type: none"> • No está físicamente saludable. • Presenta ideación suicida. • Incapacidad de dar su consentimiento. |

5.5.2 Criterios de eliminación para los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles.

Se eliminaron aquellas muestras con mala calidad o cantidad insuficiente de ADN para realizar los análisis correspondientes.

6 Materiales

6.1 Material biológico

- Biopsias de tejido de sujetos que consumaron el suicidio, provenientes de una colección histórica del Departamento de Medicina Forense del hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.
- Muestras de sangre venosa periférica de pacientes diagnosticados con síndrome depresivo mayor e ideación suicida que fueron recolectada por el Dr. José Alfonso Ontiveros Sánchez de la Barquera.
- Muestras de sangre venosa periférica de sujetos controles los cuales fueron recolectados en la Unidad de Terapias Experimentales del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS), UANL.

6.2 Material de laboratorio

- Agujas negras para toma múltiple 22Gx38mm.
- Espátula.
- Gradillas.
- Matraz Erlenmeyer 250 ml.
- Microtubos de 2 mL.
- Microtubos de 1.5 mL.
- Microtubos de 0.6 mL.
- Microtubos de 0.2 mL.
- Micropipetas automáticas de 10-1,000 μ L.
- Micropipetas automáticas de 20-200 μ L.
- Micropipetas automáticas de 2-20 μ L.
- Micropipetas automáticas de 0.2-2 μ L.
- Micropipetas automáticas de 0.1-2 μ L.
- Placas de 96 pocillos.
- Placa para reacción óptica de 96 pocillos Applied Biosystems MicroAmp Fast con código de barras.
- Probetas de 100 mL.

- Puntillas estériles desechables para micropipeta de 100-1000 μL .
- Puntillas estériles desechables para micropipeta de 20-200 μL .
- Puntillas estériles desechables para micropipeta de 2-20 μL .
- Puntillas estériles desechables para micropipeta de 1-10 μL .
- Torniquete.
- Torundas.
- Tiras de 8 tubos de PCR de 0.2 mL.
- Tubos de plástico tapón color lila 4 mL para toma de muestra sanguínea (EDTA-K2) 13X75 mm.
- Tubos de plástico tapón color rojo 6 mL para toma de muestra sanguínea con activador de coágulo 13X100 mm.
- Tubos estériles de 50 mL para centrifuga.

La secuenciación de exoma dirigido del panel de 33 genes fue realizada como el servicio externo LANGEBIO.

6.3 Reactivos

- Agua destilada.
- Solución tampón de lisis TSNT (Tritón X100 2%, SDS 1%, NaCl 100 mM, Tris HCl pH 8 10mM, EDTA pH8 1mM).
- Solución tampón TAE 1X (40mM Tris-acetato, 1mM EDTA pH 8).
- Solución Sevag (cloroformo: alcohol isoamílico, 24:1).
- Buffer TE 1X (EDTA 100mM y Tris HCl 1M).
- Etanol 100%, grado biología molecular.
- Etanol 70%.
- GoTaq Master Mix 2X.
- Primers β -globina (forward y reverse) 5mM.
- Agarosa LE, grado biología molecular.
- TAE 1X (40mM Tris-acetato, 1 mM EDTA pH 8).
- Bromuro de etidio (10 mg/mL).
- Jugo azul 3X.

- Sondas Taqman SNP Genotyping Assays (20X).
- Taqman Universal Master Mix II 20X.
- Primers prediseñados de la casa comercial Thermo Fisher.
- GelRed (Biotium).
- InnuSTAR1kb DNA Ladder Express.

La secuenciación de exoma dirigido del panel de 33 genes fue realizada como un servicio externo y se utilizaron los siguientes reactivos:

- Etanol absoluto, grado biología molecular.
- Esferas paramagnéticas de inmovilización reversible en fase sólida (Agencourt Ampure XP).
- Panel Ampliseq Sample ID (Illumina).
- Agua libre de nucleasas.
- Estuche comercial de ensayo Quant-iT PicoGreen dsDNA.
- Hidróxido de sodio (NaOH), grado biología molecular.
- Tris-HCl, pH 7.0.
- Estuche comercial AmpliSeq Library PLUS de 96 reacciones (Illumina).
- Panel personalizado de DNA AmpliSeq (pool de primers 1 y 2) (Illumina).
- Índices (96) AmpliSeq CD set A para 96 muestras.
- Lib Amp Mix 1X.
- Primers Library Amp 10X.
- Ligasa de ADN.
- HiFi Mix AmpliSeq 5X.
- Reactivo FuPa.
- Low TE.
- Solución Switch.

6.4 Equipos

- Thermomixer R, 2 mL (Eppendorf).
- Centrífuga Sorvall ST 16R (Thermo Fisher).

- Vórtex Mixer Corning™ LSE™.
- Espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific).
- Termociclador Veriti, 96 pocillos (Applied Biosystems).
- Cabina para PCR MY-PCR Prep Station (Mystaire).
- Cabina para PCR UV (Ultra Violet Product™).
- Cámara de electroforesis Owl™ EasyCast™B2 (Thermo Scientific).
- Fuente de poder EC 300 XL (Thermo Fisher Scientific).
- Termociclador para PCR tiempo real StepOnePlus (Applied Biosystems).
- Balanza analítica Adventurer™ SL (Ohaus).
- Microcentrífuga Digital Spectrafuge™24D, Labnet International.
- Transiluminador UV, Mini Darkroom UVP.
- Fotodocumentador.

6.4.1 Programas computacionales

- Genome Analysis Tool Kit (versión 4.2.0.0).
- Software IBM SPSS Statistics 24.
- StepOnePlus Software version 2.1 (Applied Biosystems).
- Nanodrop 2000 software (Thermo Fisher Scientific).
- QUALIMAP (versión 2.2.1)
- DNASTar Lasergene.
- FASTQC (versión 0.11.9).
- Trimmomatic (versión 0.39).
- SAMtools (versión 1.6).
- SnpEff (versión 4.3T).
- Variant Effect Predictor (Ensembl).
- Primer analysis software Oligo versión 7.0.

7 Métodos

7.1 Obtención de las muestras

Las muestras de ADN de sujetos que consumaron el suicidio se obtuvieron del archivo histórico del Departamento de Medicina Forense. Mientras que a cada uno de los participantes del grupo 2 y 3 se le tomó una muestra de sangre venosa periférica de 8 mL por venopunción y se colectó en dos tubos con EDTA-K₂, se separó el plasma en un tiempo máximo de 24 horas después de la toma de la sangre periférica mediante centrifugación a 3200 rpm por 10 minutos; el suero fue desechado. Cada muestra se codificó de acuerdo con el control interno del laboratorio del laboratorio de Genómica y Bioinformática.

7.2 Aplicación de escalas para la evaluación psiquiátrica.

Las tres escalas fueron aplicadas por miembros del laboratorio de Genómica y Bioinformática del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina (UANL) que completaron exitosamente el entrenamiento 'RFMH-A004a' ofrecido por la RFMH (Research Foundation for Mental Hygiene) que los capacita para esta práctica. Un miembro del equipo de trabajo y el paciente fueron colocados en una habitación con condiciones adecuadas para que el sujeto control conteste apropiadamente a los cuestionamientos incluidos en estas escalas.

7.3 Muestras de la colección histórica

La colección de muestras de ADN genómico fue proporcionada en forma de alícuotas (dos por cada muestra) contenidas en microtubos de 2 mL a una concentración de 50 ng/ml, diluidos en agua libre de nucleasas con un volumen de 50 a 100 µL. De acuerdo con el Departamento Medicina Forense, el material genético fue obtenido a partir de tejido de VS. Las muestras fueron almacenadas a -20°C.

Cada muestra fue codificada de acuerdo con el control interno del laboratorio del Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, y como control interno del Laboratorio de Genómica y Bioinformática, se les asignó y etiquetó con una clave (SC1-SC250).

7.4 Muestras de los pacientes del grupo control y de pacientes

Para realizar la extracción de ADN genómico de las muestras de sangre periférica se siguió el siguiente protocolo (Ansbel, 2003).

Se combinan 500 µl de la sangre o plasma en un microtubo de 2 ml con 200 µl de buffer de lisis TSNT (Triton X100 2%, SDS 1%, NaCl 100 mM, Tris HCl pH 8 10mM, EDTA pH8 1mM) y se mezclan por inversión o en vórtex a velocidad baja o media durante 3 minutos. Se añaden 500 µl de fenol saturado y se mezclan por inversión o en vórtex a velocidad baja o media durante 3 minutos.

Se agregan 100 µl de Sevag (cloroformo-alcohol isoamílico 24:1) y se mezclan en vórtex a velocidad baja o media durante 3 a 5 minutos. Se agregan 150 µl de TE 1X (EDTA 100mM y Tris HCl 1M) y se mezclan por inversión o en vórtex a velocidad media o baja durante 1 minuto. Las muestras se centrifugan por 8 minutos a 10,000 rpm para después transferir la fase acuosa a un microtubo de 2 ml. Se re extraen las muestras a partir de la fase acuosa, agregando 100 µl de Sevag y mezclando en vórtex de 3 a 5 minutos.

Se agregan 150 µl de TE 1X y se mezclan por inversión y/o en vórtex durante 1 minuto. Se centrifugan las muestras durante 8 minutos a 10,000 rpm y se transfiere la fase acuosa a un microtubo de 2 ml. Después, se agregan 2.5 volúmenes de etanol 100% y se mezclan gentilmente por inversión. Se deja precipitar el ADN durante toda la noche a -20°C. Una vez transcurrido este lapso, se centrifuga por 15 min. a 14 000 rpm, se decanta el sobrenadante y se lava la pastilla agregando 500 µl de etanol al 70%. Se centrifugan por 15 min a 14 000 rpm y se deja secar la

pastilla de ADN a temperatura ambiente durante 20 min. Por último, se resuspende la pastilla con la pipeta agregando 150µl de agua libre de nucleasas. Cada muestra fue codificada, y las alícuotas se etiquetan con una clave de control interno del laboratorio (CP1-CP200 y #001 - #200).

7.5 Cuantificación, control de calidad y preparación de diluciones de las muestras de ADN

Posteriormente, se cuantificaron las muestras de ADN_g en el espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific), las cuales debieron cumplir con los siguientes criterios de calidad: tener un cociente de absorbancia 260/280 entre 1.80 - 2.00 y una relación 260/230 entre 2.00-2.20 (Borrego-Soto *et al.*, 2015). Al cumplir con estos parámetros, se prepararon las diluciones de trabajo a una concentración final de ADN_g de 50 ng/µl agregando agua destilada libre de nucleasas. Estas diluciones fueron posteriormente usadas para la secuenciación, validación de las variantes y la evaluación de las variantes en los grupos de pacientes y controles.

También, se observó la integridad de las muestras en un gel de agarosa al 1% teñido con GelRed (Biotium) mediante un fotodocumentador. En los geles se buscaron signos de degradación de las muestras y presencia de ARN que pudiera obstaculizar procesos posteriores.

En adición a lo anterior, a todas las muestras de ADN genómico (previamente ajustadas a 50 ng/µl) se les realizó una PCR punto final para amplificar el exón 2 del gen de β-globina lo que nos indicaba que nuestro material biológico era apto para ser utilizado en procesos posteriores. En la tabla 3 se muestran las condiciones de reacción para la PCR y el programa de temperaturas utilizadas se muestra en la tabla 4. Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 2% seguido por tinción con GelRed y exposición a luz ultravioleta en un fotodocumentador. Se utilizó como marcador de peso molecular al InnuSTAR 1kb DNA Ladder Express. Se colocaron 10µL del producto amplificado con 3 µL de jugo azul y se corrió a 90mAmps por 50 minutos.

Tabla 3. Condiciones de reacción para la amplificación de β -globina.

| Reactivo | Concentración | Volumen (μL) |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| GoTaq | 10X | 6 |
| FWD | 50μM | 0.25 |
| REV | 50μM | 0.25 |
| Agua libre de nucleasas | - | 3.5 |
| ADN | 50ng/μL | 2 |

Tabla 4. Programa de temperaturas para la amplificación de β -globina.

| Etapa | | Temperatura ($^{\circ}$C) | Tiempo |
|---------------------------|-------------------|---|---------------|
| Desnaturalización Inicial | | 94 | 5 min |
| 30 ciclos | Desnaturalización | 94 | 0.30 seg |
| | Alineamiento | 57 | 0.30 seg |
| | Extensión | 72 | 2 min |
| Terminación | | 4 | - |

7.6 Secuenciación de exoma dirigido del panel de 33 genes.

Previo al trabajo de este proyecto tesis se realizó la secuenciación de exoma dirigido de 33 genes en 96 muestras de ADN genómico de sujetos que consumaorn el suicidio (grupo 1), pacientes con síndrome depresivo mayor con o sin ideación suicida (grupo 2) y sujetos controles mental y físicamente sanos (grupo 3). La generación de las bibliotecas de secuenciación se hizo mediante la química AmpliSeq DNA Gene (Illumina) y la corrida de secuenciación se hizo en un equipo MiSeq (Illumina).

La profundidad mínima esperada es de 30X, con una cobertura del 97.55% lo que equivale a un total de 165,641 pb del genoma humano cubiertas mediante 829 sondas divididas en 2 pools de amplificación (amplicones por pool 417 y 412). El tamaño promedio esperado de los amplicones fue de 331 pb.

7.7 Análisis bioinformático

La totalidad del análisis bioinformático de los datos de secuenciación fue realizada mediante líneas de código en lenguaje de programación Bash en Shell. Los comandos correspondientes a cada paso del análisis bioinformático se representan en la figura 3 (parte 1 y parte 2). A lo largo de esta sección se mencionarán los detalles referentes al análisis de datos. Un esquema que muestra el 'pipeline' de procesamiento en extenso se muestra en el anexo 12.

Parte 1

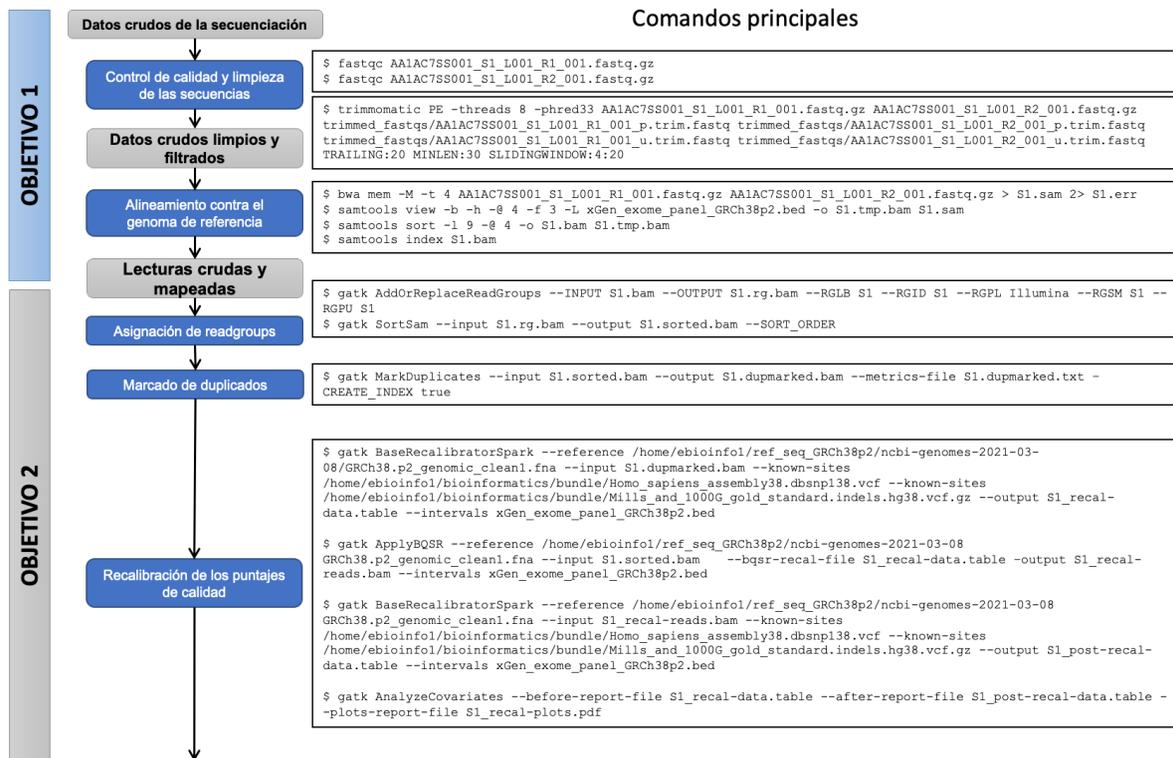


Figura 3. Flujo de trabajo del análisis bioinformático (parte 1). Esta parte de análisis de llamado de variantes comprende la fase de preparación de los datos que incluye el control de calidad con FASTQC, limpieza de lecturas con Trimmomatic, mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia GRCh38.p2, asignación de readgroups, marcado de duplicados de PCR y recalibración de los puntajes de calidad de los alineamiento. En los recuadros del lado derecho se muestran los comandos principales que se ejecutaron en cada etapa.

Parte 2

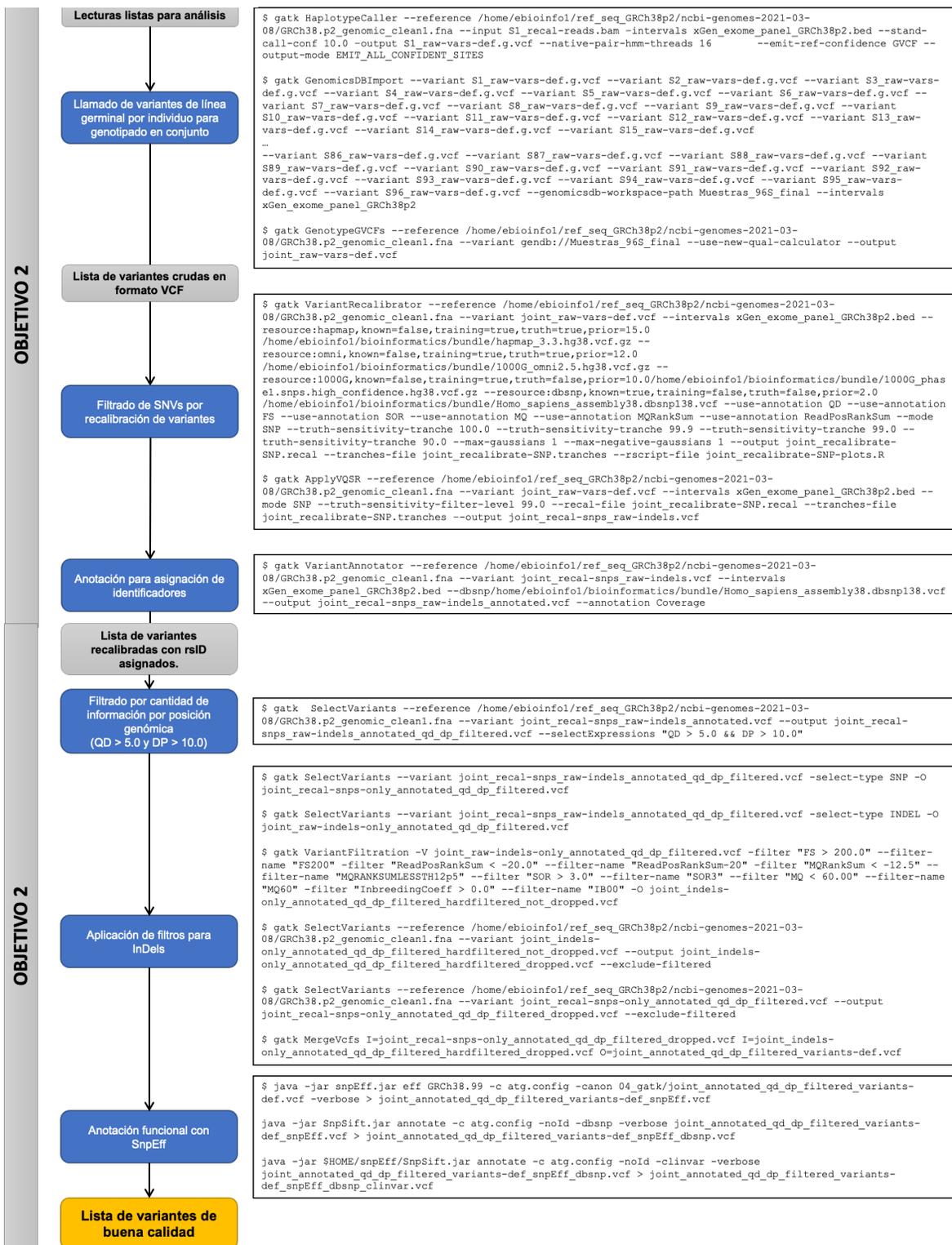


Figura 4. Flujo de trabajo detallado del análisis bioinformático (parte 2).

Esta parte del análisis comprende el grueso del llamado de variantes: llamado de variante por muestra individual para formato GVCF, formación de una base de datos con la totalidad de las variantes halladas en las muestras individuales, el llamado de variantes en conjunto, recalibración y filtrado de las variantes crudas, asignación de identificadores y anotación funcional mediante SnpEff.

7.7.1 Control de calidad de los datos crudos.

Previo al análisis de las lecturas de secuenciación, se realizó el control de calidad de éstas mediante el programa FASTQC versión 0.11.9 (Andrews, 2015). Dicho software generó un reporte de calidad el cual señaló posibles regiones con problemas o sesgo en nuestros datos mismo que serviría para tomar decisiones en pasos del flujo de trabajo posterior.

Aquellas lecturas de baja calidad y contaminadas con adaptadores en nuestro set de datos fueron sometidas a un paso de recorte y filtrado mediante el programa Trimmomatic versión 0.39 (Bolger *et al.*, 2014) en su modalidad 'paired end', con el fin de mejorar la calidad global de nuestro set de datos crudos. Después de este paso se volvió a correr el programa FASTQC para asegurarnos de que la calidad del set de datos mejoró. Sin embargo, en nuestro conjunto de datos de las 96 muestras, se decidió trabajar con las lecturas sin recortar debido a que la cantidad de lecturas perdidas era alta, pero la calidad global no mejoraba notablemente. Estos pasos de control de calidad se hicieron ejecutando las líneas de código detalladas en la figura 3.

7.7.2 Alineamiento y mapeado de las lecturas con un genoma de referencia humano

Una vez hecha la limpieza de nuestros datos, el siguiente paso consistió en el mapeo del exoma contra un genoma de referencia. En este caso fue utilizado el ensamble del genoma humano GRCh38.p2, ya que a partir de éste se diseñaron las sondas dirigidas a los genes de nuestro interés incluidos en el panel.

El algoritmo para llevar a cabo los alineamientos locales de las lecturas contra la referencia fue el BWA (Burrow-Wheeler Aligner) MEM versión 0.6 (H. Li & Durbin, 2009). Alinear dichas lecturas sobre un genoma de referencia permite detectar variaciones con respecto de ese genoma. Este procedimiento consiste de dos etapas: la primera se hace la construcción de la transformada de Burrows-Wheeler de nuestra secuencia genómica y, en la segunda etapa, se hace la búsqueda de las

posiciones de nuestras lecturas sobre la secuencia genómica mediante *'backtracking'*. Este programa es el mapeador óptimo para nuestros objetivos pues es rápido y permite alineamientos con gaps lo cual es esencial para identificación de SNP e indels.

Tras la conclusión de la primera parte del análisis bioinformático se obtuvo como datos de salida un archivo en formato SAM (Sequence Alignment/Map) el cual contenía información como el nombre de la lectura mapeada, códigos FLAG (proporciona información estructural acerca de la lectura y cómo mapea sobre la referencia), nombre de la secuencia del genoma de referencia, posición de la lectura en dicho genoma, calidad del mapeo, reporte CIGAR (informe conciso acerca de cómo una lectura alinea con respecto de una secuencia de referencia), nombre de la lectura complementaria, posición de la lectura complementaria, longitud del segmento cubierto por el par, secuencia de la lectura, calidad de la lectura (código ASCII). Previo a la identificación de variantes, se llevó a cabo la transformación del archivo SAM mediante el programa SAMtools versión 1.6 (H. Li *et al.*, 2009), obtenido en la primera parte del análisis, en un archivo BAM (Binary Alignment Map) el cual es un archivo comprimido y en código binario con la misma información contenida en el formato SAM. Los comandos de BWA y SAMtools empleados pueden consultarse en la figura 3.

En esta parte del proceso también se revisó la cobertura y la profundidad de cobertura de las regiones blanco secuenciadas en las 96 muestras mediante el programa QUALIMAP versión 2.2.2 (Okonechnikov, Conesa, & García-Alcalde, 2016) para línea de comandos.

7.7.3 Identificación de las variantes genómicas asociadas al suicidio

El análisis de llamado de variantes se hizo mediante el paquete de software Genome Analysis Tool Kit versión 4.2.0.0 mejor conocido como GATK. Este análisis permitió la identificación de las variantes genómicas (SNV, SNP e indels).

Se optó por utilizar el flujo de trabajo denominado “GATK Best Practices” (DePristo *et al.*, 2011; Van der Auwera *et al.*, 2014) ya que se ha comprobado que incrementa la calidad de variantes derivadas de secuenciación de nueva generación. Estas prácticas incluyen pasos recomendados tanto para la fase preparatoria del análisis, así como para la fase de filtrado del proceso de llamado de variantes. El esquema del flujo de trabajo del ‘GATK Best Practices’ utilizado para el análisis bioinformático puede visualizarse en la figura 5. Cada paso del proceso de este flujo de trabajo se detalla en las páginas siguientes.

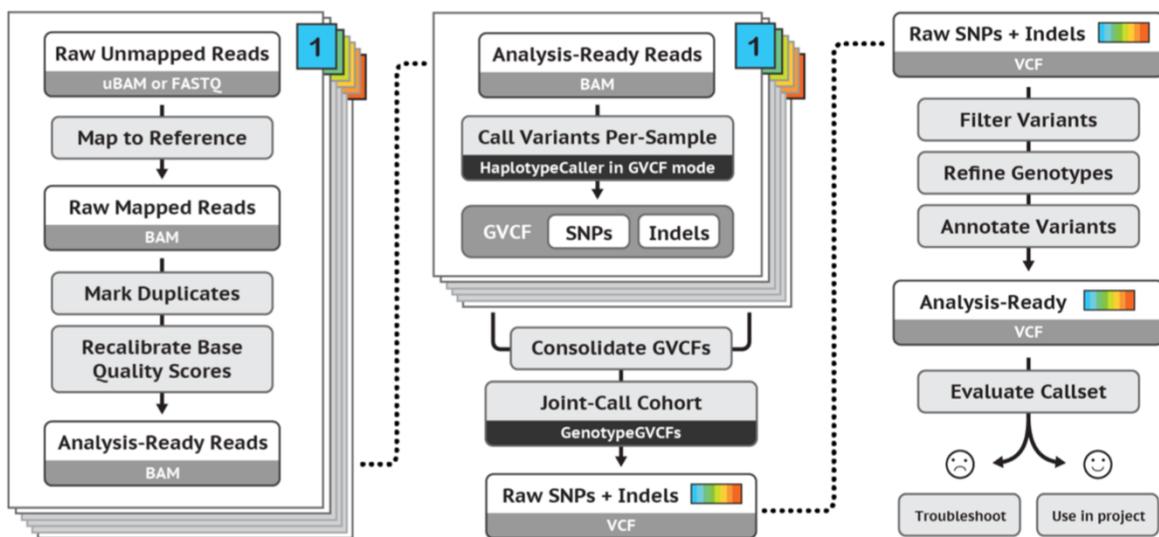


Figura 5. Flujo de trabajo de las Mejores Prácticas del Genome Analysis Tool Kit para el llamado de variantes en su modalidad de genotipado en conjunto de cohortes. En este procedimiento se propone un inicio con la evaluación de la calidad de las lecturas, el mapeo de las lecturas a la referencia, la conversión de los alineamientos a formato BAM, eliminación de duplicados ópticos y recalibración de los alineamientos como etapa de preparación pre-llamado de variantes. Una segunda fase de este procedimiento comprende el llamado de variantes per se, en este caso, en modalidad de genotipado en conjunto, donde se produce un archivo GVCF con los genotipos de la totalidad de las muestras incluidas en el análisis. Por último, la etapa post-llamado de variantes que se basa en el refinamiento y filtrado de las variantes que conformarán el set final de variantes genómicas

7.7.3.1 Asignación de 'readgroups'

El flujo de trabajo de GATK comenzó con la adición de un 'readgroup' a nuestro archivo BAM (usando el comando '*AddOrReplaceReadGroups*') que es un identificador que le permite al programa reconocer que un grupo de lecturas fueron todas producto de una sola corrida de secuenciación en un cierto carril de la celda de flujo. Esto se hace debido a que varios algoritmos de GATK necesitan saber que ciertas lecturas fueron secuenciadas juntas en un carril específico como un intento para compensar la variabilidad de una corrida de secuenciación a la siguiente. La línea de código para ejecutar este proceso se puede consultar en la figura 3.

7.7.3.2 Limpieza de datos mediante marcado de duplicados

Luego de esto, el archivo BAM se ordenó con base en las posiciones genómicas (mediante el comando '*SortSam*'). Adicional a esto, se hizo una limpieza en nuestros datos mediante un marcado de duplicados ópticos (usando el comando '*MarkDuplicates*') de moléculas sobreamplificadas las cuales se generaron a través de algunos procesos artefactos por sesgos de la PCR al momento de generar las librerías. Los comandos para realizar estas tareas se especifican en la figura 3.

7.7.3.3 Recalibración de los puntajes de calidad base.

Retiradas dichas secuencias duplicadas, se realizó una recalibración de los puntajes de calidad del set de datos (mediante el comando '*BaseRecalibratorSpark*'). Este paso de procesamiento se realizó por muestra. Se basa en la aplicación de *Machine Learning* para detectar y corregir patrones de errores sistemáticos en los puntajes base de calidad mismos que son puntajes de confianza dados para cada base por el secuenciador. Este procedimiento involucra la captación de medidas de covariables de todos los llamados de base en el conjunto de datos, construir un modelo a partir de esas estadísticas y aplicar ajustes de calidad de base al conjunto de datos en función del modelo resultante.

En secuencia a esto, se obtuvieron las lecturas recalibradas y sus correspondientes nuevos puntajes de calidad (mediante los comandos '*ApplyBQSR*' y '*BaseRecalibrator*'). Los puntajes de calidad base juegan un rol relevante al calibrar la evidencia a favor o en contra de posibles alelos variantes durante el proceso de identificación de variantes, por lo que es importante corregir cualquier sesgo sistemático observado en nuestros datos. Asimismo, se compararon los puntajes de calidad de las lecturas antes y después de la recalibración (mediante el comando '*AnalyzeCovariates*') para confirmar que se hicieron los ajustes de calidad de las variantes resultantes. La recalibración y la comparación de puntajes de calidad de las lecturas en los alineamientos se hicieron ejecutando los comandos especificados en la figura 3.

7.7.3.4 Identificación de variantes cortas de línea germinal

Finalmente, para el llamado de variantes de línea germinal por individuo para genotipificación en conjunto se siguió un flujo de trabajo diseñado para implementarse en conjuntos de muestras que constituyen todas nuestras cohortes de estudio.

Primero se realizó el llamado de variantes (indels y SNP) por muestra usando el algoritmo del programa '*HaplotypeCaller*' para producir un archivo intermedio en formato GVCF (Genomic Variant Call Format) por muestra individual analizada para genotipificación en conjunto (joint-genotype) también llamada modalidad de cohorte. Este formato contiene la probabilidad asignada a los genotipos, así como su anotación en el genoma de referencia. De la misma manera, contiene registros para cada posición del genoma (o intervalo de interés) independientemente de si se detectó una variante en esa posición o no en una muestra en particular de la cohorte.

Siguiendo con el flujo de trabajo, se consolidaron los GVCF de las diferentes cohortes posibles conformadas por las 96 muestras en un almacén de datos mediante la herramienta *GenomicsDB*. Este paso sirvió para mejorar la escalabilidad y eficientizar el genotipado en conjunto que se hizo posteriormente.

Luego, realizamos el genotipado conjunto, en el cual se recopilamos todos los GVCFs correspondientes a cada muestra obtenidos del programa *HaplotypeCaller* y procedieron a ser analizadas de manera conjunta mediante la herramienta 'GenotypeGVCFs'. Como datos de salida de este paso se obtuvieron 12 archivos conjunto de llamados de variantes, SNP e indels crudos, es decir, sin ningún filtro de calidad aplicado. Estas listas de variantes se obtuvieron en formato VCF (.vcf), el cuyas partes se pueden visualizar en la figura 7. Adicional a esto, en el anexo 7 se detallan los campos de la información contenidas en las anotaciones de los archivos VCF.

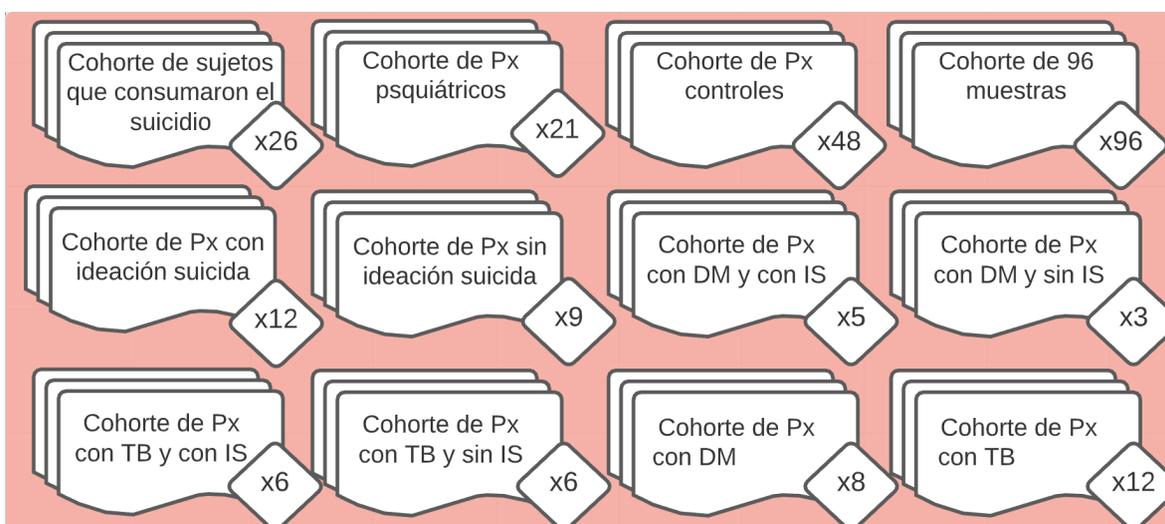


Figura 6. Cohortes de estudio de este proyecto. Representación de los archivos GVCF que se generaron para cada cohorte de este estudio. Estos archivos contienen las listas de las variantes que se obtuvieron a partir de los análisis de genotificado en conjunto.

Este análisis en cohorte permite la detección sensible de variantes incluso en sitios difíciles y produce una matriz cuadrada de genotipos que ofrece información sobre todos los sitios de interés en todas las muestras incluidas en el proceso, lo cual es relevante para muchos análisis posteriores. Las líneas de código utilizadas para desarrollar este proceso se detallan paso por paso en la figura 4.

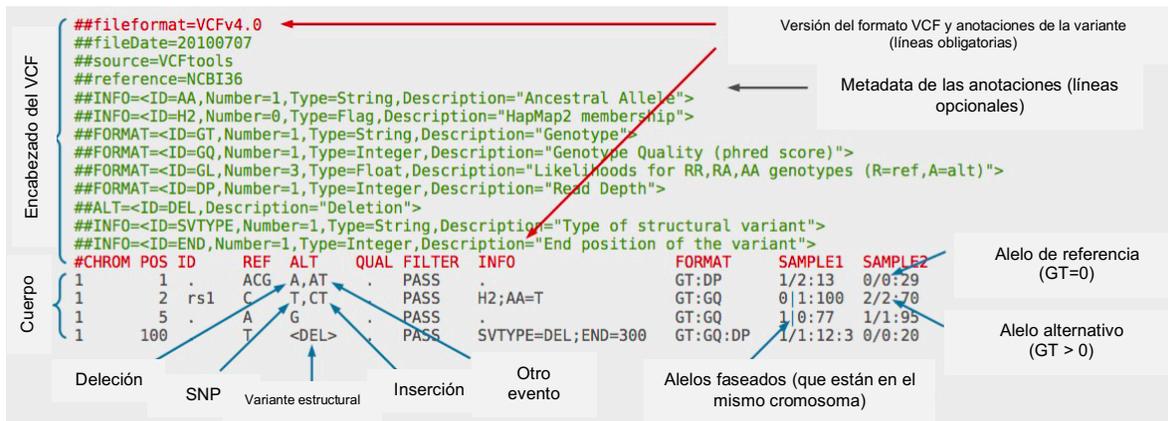


Figura 7. Partes básicas de un archivo ‘Variant calling Format’ (VCF). Este formato consiste de dos partes elementales: a) el encabezado que contiene la versión del formato que se utilizó para generarlo y la metadata de las anotaciones hechas; b) el cuerpo del archivo el cual contiene el cromosoma y posición en que se localiza la variante, el identificador de la variante, los alelos de referencia y alternativo, la calidad con que se hizo el llamado, estado de los filtros aplicados, información de las anotaciones y el genotipo de las múltiples muestras incluidas en el análisis.

7.7.3.5 Filtrado mediante recalibración de SNV.

Por último, se realizó un paso de análisis de la distribución de los puntajes de calidad de los SNV con la herramienta ‘VariantRecalibrator’ el cual comparó las variantes obtenidos en las muestras de nuestras cohortes contra variantes de buena calidad reportadas en las bases de datos.

El propósito de la recalibración de variantes fue asignar una probabilidad bien calibrada a cada llamado de variante en un conjunto de llamados. Estas probabilidades se pueden usar para filtrar las variantes con un mayor nivel de precisión y flexibilidad que el que normalmente se puede lograr con filtros estrictos (filtrado en umbrales de valores de anotación individuales). El primer paso consistió en la construcción de un modelo de ‘Machine Learning’ que describe cómo los valores de anotación de variantes covarían con la veracidad de los llamados de variantes en un conjunto de entrenamiento y luego puntuar todas las variantes de entrada de acuerdo con el modelo. A partir de este paso se obtuvo un archivo con

los puntajes de recalibración de calidad de las variantes (o VQSR) los cuales son necesarios para recategorizar las variantes. Este archivo tiene una extensión '.tranches' dentro del código utilizado y el cual puede consultarse en la figura 4. En el segundo paso de la recalibración, la información de este archivo es tomada por el comando 'ApplyVQSR', el cual especifica un valor de sensibilidad objetivo y aplica un umbral de filtrado el cual determina qué variantes pasaron y cuáles no, para después producir un VCF de salida que contiene la lista multimuestra de variantes del tipo SNV con el equilibrio deseado de precisión y sensibilidad. A diferencia de los archivos VCF crudos obtenidos en pasos anteriores, éste tiene asignadas tanto los puntajes de recalibración como las etiquetas de estado de filtro en el campo 'FILTER'. Estos estados de filtro pueden ser ya sea 'PASS' (el cual se le asigna a llamados de variantes que cumplen con el puntaje de recalibración de la calidad de la variante) o el nombre del filtro el cual no pasaron. La Figura 8 es un ejemplo de cómo se visualizan las variantes que pasaron todos los filtros y las que no. Los comandos utilizados para este proceso de recalibración de SNV pueden consultarse en la segunda parte del análisis bioinformático representado en la figura 4.

| #CHROM | POS | ID | REF | ALT | QUAL | FILTER | INFO |
|--------|-----------|----|-----|-----|---------|--------|--------------|
| chr6 | 113861123 | . | A | T | 1950.10 | VQSRT | SNP99.00t |
| chr6 | 113861183 | . | A | T | 81.52 | PASS | AC=1;AF=5.31 |

Figura 8. Ejemplo de una variante con la etiqueta de estado PASS. El estado PASS significa que la variante cumple con todos los filtros de calidad aplicados. Cuando una variante tiene estas características, aparecerá una etiqueta con la palabra PASS en el campo de 'FILTER' como se observa marcado en rojo. Estos filtros pueden consultarse en la metadata del archivo en cuestión. Si la variante en cuestión no tiene esta etiqueta, como puede observarse en la primera fila, significa que la variante no pasa alguno de los filtros de calidad aplicados en el proceso.

7.7.3.6 Anotación para la asignación de identificadores.

Una vez obtenido el archivo de las variantes recalibradas, se hizo la anotación de las variantes para la asignación de los identificadores reportados en la base de datos dbSNP. Se utilizó la herramienta '*VariantAnnotator*' incluida en GATK. El comando utilizado para la asignación de identificadores se puede consultar en la figura 4.

7.7.3.7 Filtrado por cantidad de información disponible por posición genómica

Para realizar este paso de filtrado de la lista de variantes se utilizaron dos anotaciones que se basan en la cantidad de información disponible que hay para apoyar un llamado de variante en una posición genómica dada, de modo que esto reduzca la posibilidad de que una variante sea un falso positivo. Las anotaciones usadas para hacer este filtro fueron DP y QD:

- DP (Profundidad o 'Depth of coverage') es la profundidad de los datos disponibles para una muestra en un sitio en específico y refleja el poder que se tiene para determinar el genotipo del individuo.
- QD (Calidad por profundidad o 'Quality by depth') es la confianza de la variante dividida por la profundidad sin filtrar de las muestras no homocigotas del alelo de referencia.

Para este paso de filtrado se utilizó el comando '*SelectVariants*' de GATK, el cual puede consultarse en la figura 4.

7.7.3.8 Aplicación de filtros para variantes del tipo inserción y deleción.

Previo a la aplicación del filtro a los indels, cada uno de los archivos VCF se dividieron en dos archivos individuales, uno que contenía solamente SNP y otro que contenía indels. Hecho esto, se utilizó otro paso de filtrado exclusivo para indels de manera que pudiéramos descartar aquellos de mala calidad. Este método de filtrado

utilizó la herramienta 'VariantFiltration' de GATK en la que se tomaron en cuenta las siguientes anotaciones:

- **FS** (> 200.0): o prueba de sesgo de hebra de Fisher (Fisher's Strand Bias). Se entiende como la probabilidad en la escala de Phred de que haya sesgo de hebra en un sitio en particular del genoma. El sesgo de hebra nos dice si el alelo alternativo se vio con más o menos frecuencia en la cadena directa o inversa que el alelo de referencia.
- **ReadPosRankSum** (< -20.0): o prueba de suma de rangos (por sus siglas en inglés). Esta anotación compara si las posiciones de los alelos de referencia y alternativos son diferentes dentro de las lecturas. La presencia de un alelo solo cerca del final de las lecturas es indicativo de error, ya que ahí es donde los secuenciadores tienden a cometer la mayoría de los errores.
- **MQRankSum** (< -12.5): o prueba de suma de rangos para determinar las calidades del mapeo (por sus siglas en inglés). Compara las calidades de mapeo de las lecturas que respaldan el alelo de referencia y el alelo alternativo. Un valor cercano a cero es el mejor e indica poca diferencia entre las calidades del mapeo.
- **SOR** (> 3.0): o razón de probabilidades de hebra (por sus siglas en inglés). Esta anotación es otra forma de estimar el sesgo de la cadena mediante una prueba similar a la prueba simétrica de razón de posibilidades. SOR se creó porque FS tiende a penalizar las variantes que ocurren en los extremos de los exones. Las lecturas en los extremos de los exones tienden a estar cubiertas solo por lecturas en una dirección y FS da a esas variantes una mala puntuación. SOR tendrá en cuenta las proporciones de lecturas que cubren ambos alelos.
- **MQ** (< 60.00): Esta es la raíz cuadrada de la calidad de mapeo media de todas las lecturas en un sitio en particular del genoma. Cuando las calidades del mapeo son buenas en un sitio, el MQ será de alrededor de 60.
- **InbreedingCoef** (> 0): es el coeficiente de consanguinidad estimado a partir de las probabilidades de genotipo por muestra en comparación con la expectativa de Hardy-Weinberg.

Es importante mencionar que estas mismas anotaciones se utilizan para generar los modelos de 'Machine Learning' que se necesitaron para hacer la recalibración de los SNVs. Estos modelos con aprendizaje de máquina requieren ser alimentados con una gran cantidad de información, en este caso, de variantes. Con base en esto, para nuestro conjunto de variantes del tipo indels, estos modelos no pudieron generarse debido a la baja cantidad de indels que se identificaron. Por lo cual se utilizó un método de filtrado en el que se establecen umbrales específicos para una o más anotaciones y descartar cualquier variante que tenga valores de anotación por encima o por debajo de los umbrales declarados. El principal problema de este enfoque es que es muy limitante pues obliga a considerar a cada dimensión de anotación individualmente, lo cual termina descartando buenas variantes solo porque uno de los estadísticos considerados no pasó un umbral, o manteniendo malas variantes para mantener esas buenas variantes. Aún y con estas limitaciones, estos filtros estrictos son usados sobre sets de variantes que se le entregan a especialistas para realizar diagnósticos clínicos de enfermedades y, debido a que las variantes aquí obtenidas serán usadas posteriormente para integrar un perfil genómico de variantes para predecir el riesgo de suicidio sobre pacientes psiquiátricos, se tomó la decisión de aplicarlas sobre nuestros datos.

Concluidos los filtros de calidad de ambos tipos de variantes (SNP e indels) se procedió a retirar de los archivos VCFs aquellas variantes que no pasaron alguno de los filtros de calidad, de modo que quedaran únicamente variantes de alta calidad con la menor probabilidad de ser falsos positivos. Para esto, se utilizó la herramienta '*SelectVariants*' con la opción '--exclude-filtered' activada (Figura 4). Finalmente, ambos archivos limpios de cada cohorte se volvieron a unir en uno solo con la herramienta '*MergeVcfs*'.

7.7.3.9 Anotación funcional de las variantes

Como paso final del análisis bioinformático, se hizo la anotación funcional de las variantes mediante tres programas diferentes: Funcotator (Van der Auwera & O'Connor, 2020), SnpEff v5.0e (Cingolani *et al.*, 2012) y Variant Effect Predictor

v104 (McLaren *et al.*, 2016). Estos tres programas se alimentan de bases de datos como dbSNP, GnomAD, 1000 Genomas, Clinvar, entre otras y ofrecen información complementaria entre una y otra. Las anotaciones hechas por estos programas fueron principalmente: los genes y transcritos afectados por las variantes, la ubicación de las variantes, las consecuencias de las variantes en la secuencia de proteínas, las frecuencias de alelos menores asociados del Proyecto 1000 Genomas y GnomAD (variantes exónicas) y las puntuaciones de Poly-Phen-2 (Adzhubei *et al.*, 2010), SIFT (Kumar, Henikoff, & Ng, 2009) y CONDEL (X. Yuan *et al.*, 2020) para cambios en la secuencia de proteína y posibles efectos sobre la función de éstas, así como CADD (Rentzsch *et al.*, 2019) la cual puntúa la nocividad prevista de las variantes de un solo nucleótido e indels en el genoma humano mediante la integración de múltiples anotaciones, incluida la conservación y la información funcional, en una métrica.

VEP se ejecutó en su interfaz web (www.ensembl.org/Tools/VEP) y para SnpEff se utilizó en su versión en línea de comandos. Los comandos empleados para la anotación con este programa pueden consultarse en la figura 4.

7.7.3.10 Comparación de los conjuntos de variantes de las cohortes de estudio

Los sets de variantes previamente reportadas (aquellas que cuentan con un identificador) correspondientes a cada cohorte fueron comparados entre sí de modo de obtener las variantes exclusivas de cada grupo y las variantes compartidas entre las distintas cohortes, las cuales podrían representar variantes de riesgo de suicidio. Para esto se utilizó el programa VENNY versión 2.1 (Oliveros, 2015).

7.7.3.11 Selección de las variantes que se evaluarán en pacientes con Síndrome Depresivo Mayor.

Los criterios tomados en cuenta para la selección de las 3 variantes que se evaluaron por PCR cuantitativa fueron:

- Que estuvieran en la región codificante.

- Que tuvieran una frecuencia del alelo menor (MAF) mayor al 20% de la población según la base de datos de los 1000G y GnomAD.
- Que las variantes tuvieran valores predictivos de alteración en la funcionalidad delétereos, dañinos o probablemente dañinos de acuerdo a los programas SIFT, PolyPhen-2 y CONDEL.
- Que las variantes estuvieran previamente a algún fenotipo relacionado con afectaciones en el SNC.
- Que las proporciones genotípicas de los polimorfismos fueran diferentes entre las cohortes de sujetos que consumaron el suicidio y controles sanos.

7.8 Evaluación de las variantes en pacientes con Síndrome depresivo mayor

Una vez validadas las variantes asociadas al suicidio, se procedió a realizar mediante PCR cuantitativa la genotipificación de estos 3 SNP en los pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida (grupo 2) y en los sujetos controles sin ideación suicida (grupo 3). El tamaño de muestra utilizado para la evaluación de dichos polimorfismos fue de una n=169 en cada grupo analizado.

Para esto se utilizaron sondas pre-diseñadas Taqman® Genotyping assay específicos (disponibles comercialmente por Thermo Fisher Scientific) para los SNP seleccionados previamente en el objetivo 2. Se siguió el protocolo de genotipificación proporcionado por el fabricante (Applied Biosystems). La tabla 5 muestra las condiciones de la reacción de qPCR para los polimorfismos evaluados en este trabajo. Los primers específicos para los polimorfismos de nuestro interés que no existían en la colección de la casa comercial, se diseñaron a partir de los datos de secuenciación previamente obtenidos o en base a secuencias disponibles en las bases de datos y con ayuda de los softwares para diseño de oligonucleótidos previamente mencionados.

Tabla 5. Condiciones de genotipificación por qPCR.

| Reactivo | Concentración | Volumen (µL) |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|
| Taqman® Universal PCR Master Mix | 1X | 2.5 |
| Sonda Taqman® Genotyping Assays | 1X | 0.25 |
| ADN | 50 ng/µL | 2 |
| Agua libre de nucleasas | - | 0.25 |

Con ayuda del software StepOne versión 2.1 del equipo StepOnePlus (Applied Biosystems) en conjunto con sondas marcadas con los fluorocromos FAM y VIC, se hizo la genotipificación y la discriminación de los grupos de heterocigotos y homocigotos para la presencia de los alelos variantes.

La reacción se fundamenta en la capacidad de la Taq polimerasa de sintetizar ADN y en la actividad exonucleasa la cual es responsable de escindir la sonda marcada con los fluorocromos, liberando los fluoróforos de la sonda del alelo común o del alelo variante (figura 9). Esta señal es detectada por el equipo, el cual, mediante el software especializado, agrupa a los pacientes según la fluorescencia emitida la cual puede indicar homocigosidad o ambos, indicando así el genotipo heterocigoto para el SNP (figura 10).

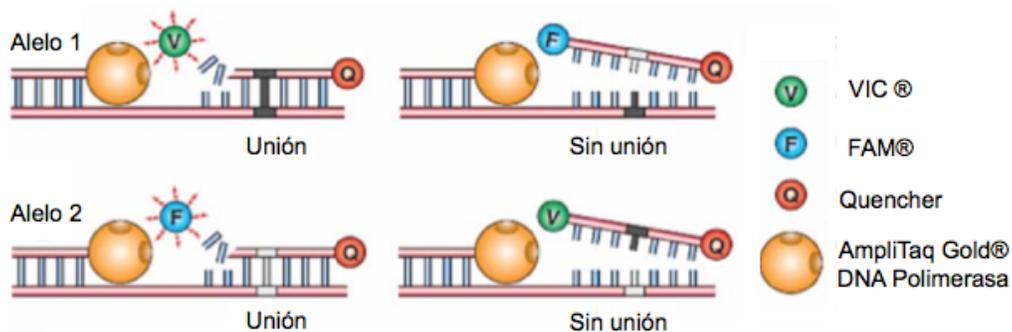


Figura 9. Fundamento de las sondas Taqman. Sondas de hidrólisis marcadas con fluoróforos FAM y VIC diseñadas para aumentar la especificidad de la PCR tiempo real. Alelo 1: está marcado con el fluorocromo FAM™ unido al extremo 5' de la sonda del alelo 1 (alelo común). Alelo 2: está marcado con el fluorocromo FAM™ unido al extremo 5' de la sonda del alelo 2 (alelo variante).

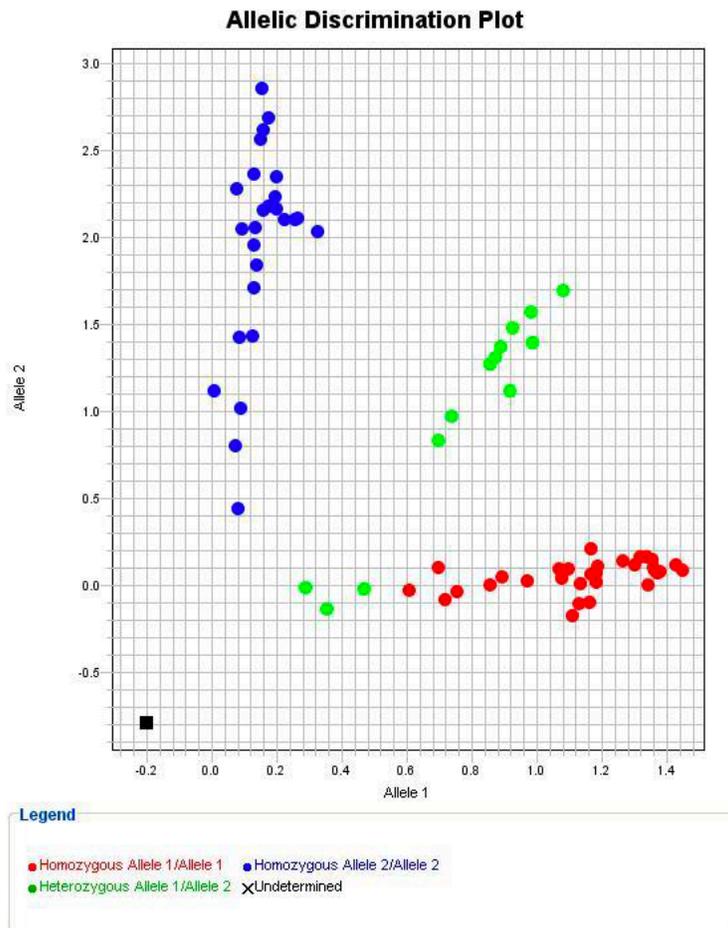


Figura 10. Gráfico representativo de la discriminación alélica. En rojo se observan los homocigotos del alelo 1, en verde los heterocigotos y en azul los homocigotos para el alelo 2.

7.9 Análisis estadísticos

Se utilizó la prueba de χ^2 para comparar las variables categóricas, así como el genotipo y las frecuencias alélicas de todos los SNP entre los grupos. El nivel de significancia fue de 0.05. Se hicieron los análisis de proporciones correspondientes mediante SPSS.

8 Resultados

8.1 Control de calidad de las muestras utilizadas en la secuenciación.

Con el objetivo de garantizar datos de buena calidad se realizó un control de calidad de todas las muestras de nuestra colección antes de enviar 96 de ellas al servicio de secuenciación en el Laboratorio de Servicios Genómicos en el LANGEBIO, CINVESTAV. El resumen del proceso de control de toda la colección de las muestras de ADN se puede consultar en la tabla 6.

Tabla 6. Resumen del proceso de control de calidad de la colección de muestras del estudio.

| | G1:SUICIDIO | G2:PX PSIQUIÁTRICOS | G3:CONTROLES |
|--|-------------|---------------------|--------------|
| Muestras/grupo: | 206 | 135 | 173 |
| Muestras totales pre-filtros de calidad: | 514 | | |
| Cuantificación por fluorometría y espectrofotometría: | 126 | | |
| Evaluación de la integridad del ADNg por electroforesis: | 102 | | |
| Muestras seleccionadas para la secuenciación: | 96 | | |
| Muestras/grupo seleccionadas para la secuenciación: | 26 | 21 | 48 |

Lo anterior incluyó la evaluación por espectrofotometría, electroforesis en geles de agarosa al 1% para evaluar la integridad del ADNg. Producto de la cuantificación y evaluación de los valores de calidad en el 260/280 y 260/230, se seleccionaron 126 muestras que tenían una concentración >50ng/ul y que valores de calidad de 1.80 a 2.0 y 2 y 2.20, respectivamente. En el siguiente filtro que fue la evaluación de la integridad de las muestras, de las 126 muestras del filtro anterior, únicamente 102 muestras mostraron no tener signos graves de degradación ni contaminación con ARN. En la figura 11, se muestra un gel representativo de las electroforesis realizadas en las que todas las muestras manifiestan bajo nivel de degradación y ausencia de ARN.

A partir de estas 102 muestras con calidad óptima, se seleccionaron 96 muestras para conformar los grupos de estudio que se plantearon en nuestro diseño de estudio. La división de los grupos de estudio se representa en la tabla 9. El grupo de pacientes psiquiátricos se divide en pacientes con depresión mayor con o sin

ideación suicida (IS), con trastorno bipolar con o sin IS y con esquizofrenia con o sin IS. Dentro de las 96 muestras se incluyó un control positivo el cual previamente ya había sido incluido en otro proyecto de secuenciación.

Tabla 7. Composición de los tres grupos de estudio en que se dividen las 96 muestras que fueron utilizada para la secuenciación de nueva generación.

| Grupo | | Total |
|---------------------------|----------------------|--------------|
| Depresión mayor | Ideación suicida | 5 |
| | Sin ideación suicida | 3 |
| Trastorno bipolar | Ideación suicida | 6 |
| | Sin ideación suicida | 6 |
| Esquizofrenia | Ideación suicida | 1 |
| | Sin ideación suicida | 0 |
| Suicidio consumado | | 26 |
| Controles sanos | | 48 |
| Control + | | 1 |
| Total | | 96 |

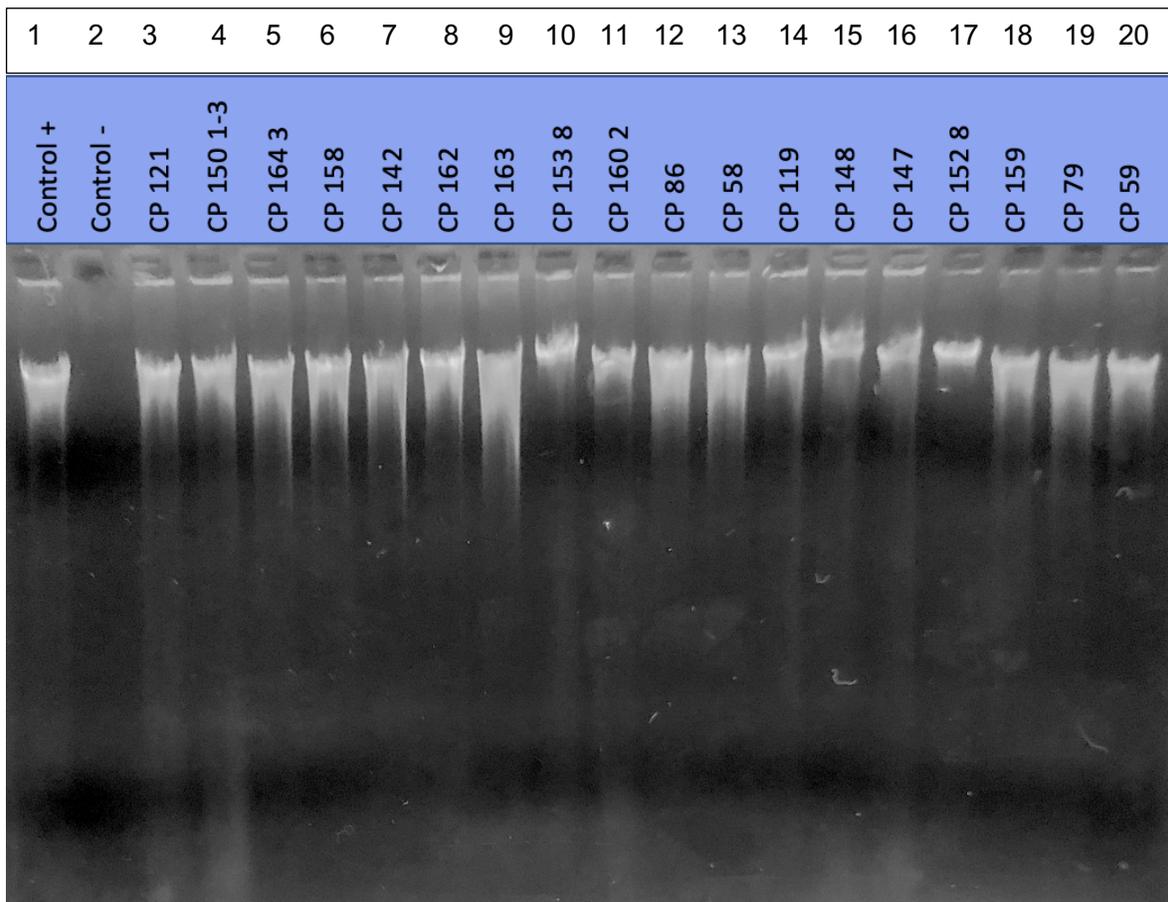


Figura 11. Evaluación de la integridad de las muestras de ADN genómico de la colección de muestras de los grupos de sujetos que consumaron el suicidio, pacientes psiquiátricos con o sin ideación suicida y controles sanos. Gel de agarosa 1% (0.9g agarosa, 90 ml TAE). 1 μ l de GelRed 10,000X. 114V, 90 min. Volumen de ADN cargado por pocillo: 2 μ l. Volumen de jugo azul cargado por pocillo: 3 μ l.

8.2 Descripción del set de datos obtenidos de la secuenciación de exoma dirigido.

El set de datos de secuenciación fue puesto a disposición por parte del equipo del LABSERGEN a través de BaseSpaceHub (Illumina). Una vez descargado al servidor donde serían procesados los datos, se realizó una evaluación global de los puntajes de calidad de las lecturas y se obtuvieron las métricas que se observan en la tabla 8.

Tabla 8. Descripción del conjunto de datos crudos obtenidos de la secuenciación de exoma dirigido en los 96 sujetos de nuestros grupos de estudio.

| Lecturas | Número de ciclos | Rendimiento (Gbp) | % \geq Q30 | Tamaño (Gigabytes) |
|----------|------------------|-------------------|--------------|--------------------|
| Forward | 251 | 3.16 | 91.08 | 1.85 |
| Reverse | 251 | 3.16 | 86.54 | 1.97 |
| Total | 502 | 6.32 | 88.81 | 3.82 |

Se obtuvieron lecturas con una longitud total de 250 pb. Fueron secuenciados 6.32 giga pares de base (Gpb) entre ambos conjuntos de lecturas. De estos 6.32 Gbp, el 88.81 % de los llamados de bases realizados cuentan con una calidad mayor o igual a 30 en la escala de Phred. Lo cual indica que los datos son de buena calidad.

Tabla 9. Parámetros estadísticos básicos del conjunto de lecturas crudas de las 96 muestras secuenciadas.

| Lecturas totales | Lecturas filtradas | % de lecturas identificadas | Media Lecturas/muestra | Mediana lecturas/muestra |
|------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 27,112,364 | 23,485,078 | 92.9628 | 244,636 (\pm 75,657.5) | 249,331 |

El total de lecturas resultantes fue de 27,112,364. De estas, aproximadamente el 93% fueron identificadas y 7% restante fueron descartadas al tratarse de posibles artefactos. Al final de este filtro, quedaron 23,485,078 las cuales se usaron en los análisis posteriores. En promedio, para cada una de las 96 muestra secuenciadas, se obtuvieron 244,636 (\pm 75,657.5) lecturas. Estos datos pueden observarse en la tabla 9.

8.3 Control de calidad de las lecturas de secuenciación

Se realizó el control de calidad de los archivos con las lecturas crudas en formato fastq, mediante el software bioinformático FASTQC (v0.11.9). Este paso se realizó los dos archivos de las lecturas forwards y reverse correspondientes a cada una de las 96 muestras. En la figura 1, de manera representativa, se muestran los gráficos con las métricas de calidad de aproximadamente 244,000 lecturas de la muestra 1(S1) del grupo de suicidio consumado. Como se observa del lado izquierdo, ambos sets de lecturas presentan baja calidad en los nucleótidos de las posiciones finales, con puntajes en la escala de Phred menores a 28. Por ello, se realizó un paso de limpieza mediante el software Trimmomatic (v0.39) con el cual se logró mejorar la calidad global de ambos sets de lecturas, dejando únicamente lecturas con calidad mayor 30 en la escala de Phred. El grupo donde mayor cantidad de datos se perdió tras el paso de recorte con Trimmomatic fue en el de suicidio consumado, lo cual podría estar relacionado con la integridad y la calidad del ADNg, el cual proviene de una colección histórica. Como resultado de este paso de limpieza sobre todas las lecturas de los grupos de estudio, se obtuvo que de las 23,201,908 lecturas crudas, 22,346,682 pasaron el filtro de calidad y eran aptas para los siguientes pasos de procesamiento (tabla 10).

Tabla 10. Número de lecturas pre y post paso de limpieza con Trimmomatic.

| Grupo de estudio | # de lecturas pre-limpieza | % de lecturas descartadas | # de lecturas post-limpieza |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Suicidio consumado | 6,381,134 | 3.70% | 6,125,888 |
| Pacientes psiquiátricos | 5,571,260 | 3.50% | 5,376,266 |
| Controles | 11,249,514 | 3.60% | 10,844,528 |
| Total | 23,201,908 | - | 22,346,682 |

Esta baja proporción de lecturas perdidas por grupo indicó que el conjunto de datos inicial puede ser considerado de buena calidad. Teniendo esto en cuenta, se tomó la decisión de utilizar las lecturas crudas para comenzar con el análisis

bioinformático, esto con el objetivo de contar con el mayor número posible de lecturas por muestra secuenciada.

En la tabla 11, se observa que las muestras con menor número de lecturas fueron la S10, S55 y S59. La primer perteneciente al grupo de suicidio consumado y las dos últimas, al grupo control. Un bajo número de lecturas afecta la información que soporta cada llamado de variante, por ello, reducir aún más la profundidad de cobertura con un paso de limpieza afectaría la capacidad para descubrir nuevas variantes.

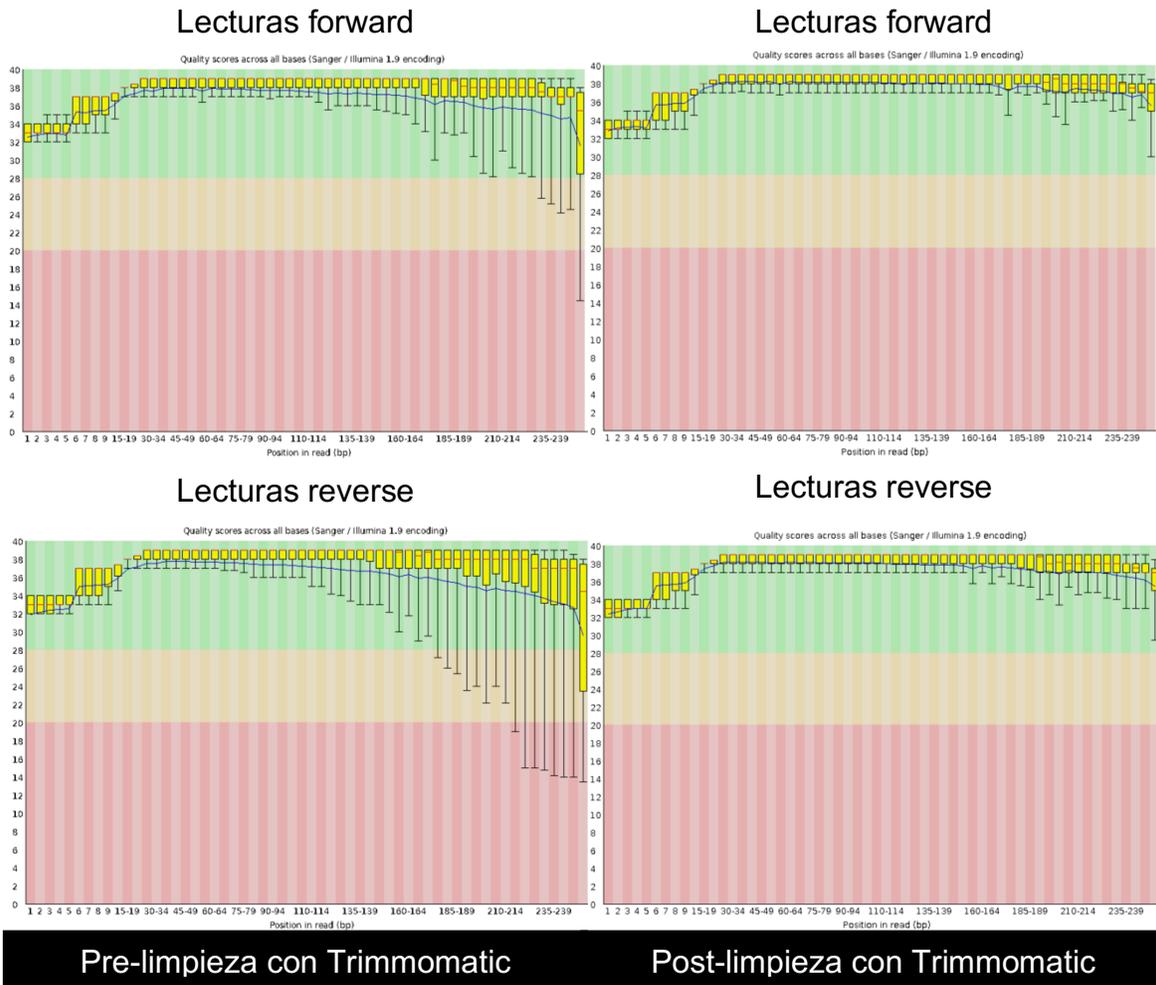


Figura 12. Control de calidad del conjunto de datos de secuenciación. En el lado izquierdo, se observa el gráfico de la distribución de calidad (Q) de las secuencias por base correspondiente a las lecturas antes del paso de limpieza de llamados de base de mala calidad con Trimmomatic. En el lado derecho se observa el mismo tipo de gráfico, pero ahora de las lecturas posterior al paso de limpieza. Estos gráficos fueron obtenidos mediante el software FASTQC.

Con el análisis de calidad, se identificaron secuencias sobrerrepresentadas, sin embargo, éstas pertenecen a genes que están incluidos dentro del panel de secuenciación, por lo que se tomó la decisión de no eliminarlas ya que se podría perder información de utilidad para análisis posteriores. Las secuencias sobrerrepresentadas fueron revisadas mediante una búsqueda con Nucleotide BLAST (BLASTn, NCBI) para verificar su procedencia. Un ejemplo de este procedimiento puede observarse en la figura 13, en la que la secuencia remarcada en color amarillo fue usada como dato de entrada del programa BLASTn y debajo de la figura se observa el resultado arrojado por el programa, obteniendo que dicha secuencia sobrerrepresentada pertenece al gen *MBP*, uno de los 33 genes el panel de secuenciación. No se encontraron secuencias de adaptadores formando parte de las lecturas crudas, por lo que los datos pudieron seguir con el flujo de procesamiento.

| Sequence | Count | Percentage | Possible Source |
|--|-------|---------------------|-----------------|
| CTCTTCCTCCCTGAAAAGGAAGAGAGAGGAGTTAGGACGAGAGTGCCGCA | 214 | 0.20298212998444437 | No Hit |
| CCAATTTCTTTGGGCTGAAAGCGTTACCTTGGCTTCTCCTGGGCTCGA | 211 | 0.20013658610615775 | No Hit |
| CAGCATGGTGCGCGACCTCATGCTCTGGATGGAGGATGTCATCCGGCAGA | 209 | 0.1982395568539667 | No Hit |
| CATATGCTCAATCATGACCACAGTAAACGAAGCAAGCGACCTGACGTCC | 208 | 0.19729104222787117 | No Hit |
| CTACTTTTGTGCGAAGAAGTTTATTGTGGGTCAGGGACGTGAGTGCCTTG | 196 | 0.18590886671472476 | No Hit |
| GCCGCAGTTTCTCTCTTTAGTCAGTGGTGACAGCTAGAAAATAAATGA | 190 | 0.18021777895815153 | No Hit |
| GGCTCAGCATCCACCCGGGACCACAGAAGAGGGGATGCTGGTGTGGGAGG | 189 | 0.179269264332056 | No Hit |
| GAAAAACCGAGAGCCTCCCTGGGAGAGGCCAGCAAGCTGACGAGTTCC | 189 | 0.179269264332056 | No Hit |
| TGAGCCAATCAAAAAAGAGCTGTCCAGCGACTAGGGGATGGAGCCAATG | 188 | 0.17832074970596046 | No Hit |

The screenshot shows the Nucleotide BLAST interface. The 'blastn' tab is active. The query sequence 'CTCTTCCTCCCTGAAAAGGAAGAGAGGAGTTAGGACGAGAGTGCCGCA' is entered in the 'Enter Query Sequence' field. The search results at the bottom show a hit for 'Homo sapiens' with a score of 93.5, 93.5, 100%, 6e-16, 100.00%, 1042, and a link to X17289.1.

Figura 13. Uso de BLASTn para la identificación de secuencias sobrerrepresentadas en el set de datos de secuenciación. Ejemplo del proceso de identificación de una de las secuencias sobrerrepresentadas reportadas por el software FASTQC en la versión web de BLAST para nucleótidos. Se obtiene que las secuencias pertenecen a genes incluidos en nuestro panel de secuenciación.

8.4 Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia

Una vez concluido el control de calidad, las lecturas crudas de cada una de las muestras fueron alineadas directamente contra el genoma humano de referencia GRCH38.p2. En promedio, 93.1% (SD = ± 9.3) de las lecturas de cada muestra mapearon contra la referencia, lo cual garantiza que existe suficiente información para hacer un llamado de variantes confiable y de buena calidad. La calidad promedio con la que mapearon las lecturas sobre el genoma de referencia (MQ) utilizado fue de 59.83 siendo 60 la máxima calidad de mapeo que se puede obtener dentro de un rango de valores que va del 0 al 60. Sin embargo, es importante mencionar que hubo muestras cuya mala calidad en las lecturas evitaron que una alta proporción de ellas no alinearan contra la referencia. Tal fue el caso de la muestra S39 y S71 (resaltadas en color azul en la tabla 13), de las cuales únicamente 28.02 % y 31.92% de las lecturas alinearon contra la referencia. Esta proporción, aunque baja, obtuvo una calidad de mapeado cercana al 60, sin embargo, esta baja cantidad de lecturas mapeando afectó claramente los parámetros de cobertura y profundidad de las regiones secuenciadas.

Debido a su baja cobertura y profundidad, variantes procedentes de las muestras S10, S55, S59, S39 y S71 se tomaron con precaución. Como se puede observar en la tabla 13, estas muestras previamente mencionadas presentaron problemas con la profundidad de cobertura, ya que solo entre el 5-80% de las regiones de interés tienen 30 lecturas (30X) o más cubriéndolas, que es el mínimo de secuencias requeridas sobre una posición genómica para realizar un llamado de variantes confiable. La figura 14 representa la diferencia entre una muestra de las antes mencionadas contra una muestra, en este caso, la S47, la cual tiene una profundidad de 30X en más del 95% de las regiones secuenciadas.

Por otro lado, la cobertura no se vio afectado ni por el bajo número de lecturas crudas ni por el bajo número de secuencias mapeadas sobre la referencia. La cantidad de lecturas en las muestras S10, S55 y S59, resaltadas en la tabla 13 en

color rosa, fue baja. Esto podría deberse a problemas con la calidad de las muestras o en la generación de las bibliotecas.

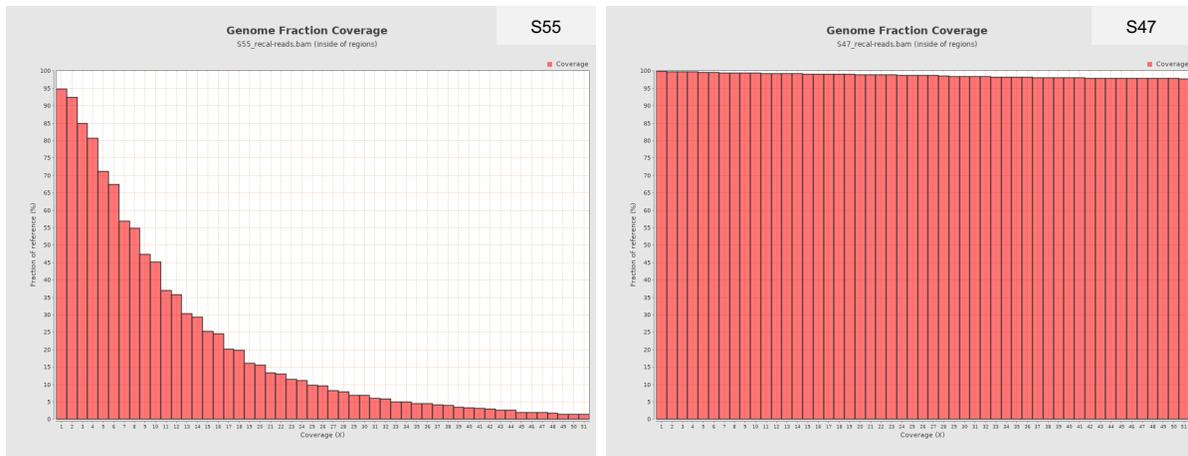


Figura 14. Gráfico que representa la fracción de las regiones blanco cubiertas y la profundidad de cobertura. En el eje X se representa la profundidad y el eje Y la proporción de las regiones blanco que se cubre con una cierta profundidad. En el lado izquierdo se observa la muestra S55 la cual tiene una profundidad menor a 30X en menos del 10% de las regiones cubiertas. En el lado derecho se observa la muestra S47 la cual tiene una profundidad mayor al 30X en más del 95% de las regiones cubiertas.

Tabla 11. Evaluación de la calidad del mapeado, cobertura y profundidad de las 96 muestras secuenciadas

| # Muestra | Lecturas que PE | Número de lecturas mapeadas | Porcentaje de lecturas mapeadas | Calidad de mapeo | Cobertura | Profundidad |
|-----------|-----------------|-----------------------------|---------------------------------|------------------|-----------|-------------|
| S1 | 214,708 | 204,094 | 95.06% | 59.85 | 99.75 | >95% |
| S2 | 120,730 | 114,918 | 95.19% | 59.85 | 99.70 | >95% |
| S3 | 320,154 | 291,392 | 91.02% | 59.83 | 99.78 | >95% |
| S4 | 211,348 | 192,696 | 91.17% | 59.85 | 99.71 | >95% |
| S5 | 195,483 | 184,608 | 94.44% | 59.84 | 99.67 | >95% |
| S6 | 249,798 | 235,967 | 94.46% | 59.84 | 99.87 | >95% |
| S7 | 243,280 | 225,856 | 92.84% | 59.82 | 99.68 | >95% |
| S8 | 336,701 | 314,893 | 93.52% | 59.82 | 99.75 | >95% |
| S9 | 351,177 | 330,057 | 93.99% | 59.83 | 99.88 | >95% |
| S10 | 29,077 | 27,440 | 94.37% | 59.88 | 99.14 | >35% |
| S11 | 248,863 | 234,020 | 94.04% | 59.83 | 99.68 | >95% |
| S12 | 278,547 | 260,174 | 93.40% | 59.82 | 99.71 | >95% |
| S13 | 284,332 | 251,639 | 88.50% | 59.84 | 99.99 | >95% |
| S14 | 251,516 | 238,205 | 94.71% | 59.83 | 99.75 | >95% |
| S15 | 225,444 | 211,134 | 93.65% | 59.84 | 99.78 | >95% |
| S16 | 294,311 | 275,312 | 93.54% | 59.83 | 99.76 | >95% |
| S17 | 308,660 | 290,418 | 94.09% | 59.83 | 99.79 | >95% |
| S18 | 193,740 | 183,356 | 94.64% | 59.86 | 99.66 | >95% |
| S19 | 131,215 | 124,674 | 95.02% | 59.86 | 99.72 | >95% |
| S20 | 259,296 | 246,160 | 94.93% | 59.84 | 99.79 | >95% |
| S21 | 268,644 | 256,716 | 95.56% | 59.84 | 99.76 | >95% |
| S22 | 242,168 | 229,813 | 94.90% | 59.83 | 99.88 | >95% |
| S23 | 294,765 | 277,774 | 94.24% | 59.83 | 99.67 | >95% |
| S24 | 228,476 | 216,524 | 94.77% | 59.83 | 99.75 | >95% |
| S25 | 218,497 | 207,684 | 95.05% | 59.84 | 99.88 | >95% |
| S26 | 205,588 | 196,270 | 95.47% | 59.85 | 99.60 | >95% |
| S27 | 140,385 | 133,540 | 95.12% | 59.86 | 99.67 | >95% |
| S28 | 199,373 | 189,257 | 94.93% | 59.85 | 99.66 | >95% |
| S29 | 353,349 | 335,927 | 95.07% | 59.83 | 99.84 | >95% |
| S30 | 174,793 | 166,831 | 95.44% | 59.85 | 99.75 | >95% |
| S31 | 225,722 | 214,710 | 95.12% | 59.85 | 99.76 | >95% |
| S32 | 314,521 | 299,309 | 95.16% | 59.83 | 99.75 | >95% |
| S33 | 217,386 | 205,898 | 94.72% | 59.84 | 99.76 | >95% |
| S34 | 321,266 | 305,549 | 95.11% | 59.84 | 99.86 | >95% |
| S35 | 291,355 | 277,110 | 95.11% | 59.83 | 99.76 | >95% |
| S36 | 221,428 | 210,028 | 94.85% | 59.85 | 99.66 | >95% |
| S37 | 305,729 | 291,380 | 95.31% | 59.83 | 99.75 | >95% |
| S38 | 206,674 | 196,814 | 95.23% | 59.84 | 99.60 | >95% |
| S39 | 196,999 | 55,197 | 28.02% | 59.64 | 99.39 | >70% |
| S40 | 254,067 | 241,012 | 94.86% | 59.83 | 99.87 | >95% |
| S41 | 178,052 | 169,541 | 95.22% | 59.85 | 99.75 | >95% |
| S42 | 198,060 | 188,464 | 95.16% | 59.83 | 99.87 | >95% |
| S43 | 174,313 | 165,529 | 94.96% | 59.85 | 99.89 | >95% |
| S44 | 160,747 | 152,002 | 94.56% | 59.85 | 99.72 | >95% |
| S45 | 153,117 | 145,596 | 95.09% | 59.85 | 99.64 | >95% |
| S46 | 225,849 | 214,734 | 95.08% | 59.85 | 99.76 | >95% |
| S47 | 476,025 | 452,112 | 94.98% | 59.82 | 99.87 | >95% |
| S48 | 213,950 | 198,622 | 92.84% | 59.85 | 99.87 | >95% |
| S49 | 317,350 | 300,841 | 94.80% | 59.83 | 99.75 | >95% |
| S50 | 292,795 | 278,524 | 95.13% | 59.83 | 99.79 | >95% |
| S51 | 159,433 | 151,554 | 95.06% | 59.86 | 99.66 | >95% |
| S52 | 262,808 | 248,970 | 94.73% | 59.83 | 99.74 | >95% |
| S53 | 228,729 | 217,018 | 94.88% | 59.84 | 99.78 | >95% |
| S54 | 138,869 | 131,440 | 94.65% | 59.86 | 99.68 | >95% |
| S55 | 11,975 | 11,386 | 95.08% | 59.89 | 95.03 | >5% |
| S56 | 355,775 | 336,816 | 94.67% | 59.82 | 99.89 | >95% |
| S57 | 279,128 | 266,792 | 95.58% | 59.83 | 99.89 | >95% |
| S58 | 294,993 | 282,390 | 95.73% | 59.84 | 99.89 | >95% |
| S59 | 13,137 | 12,438 | 94.68% | 59.87 | 95.38 | >5% |
| S60 | 125,429 | 119,266 | 95.09% | 59.85 | 99.78 | >95% |
| S61 | 234,918 | 222,676 | 94.79% | 59.84 | 99.78 | >95% |
| S62 | 206,245 | 196,132 | 95.10% | 59.84 | 99.88 | >95% |
| S63 | 181,563 | 172,072 | 94.77% | 59.85 | 99.75 | >95% |
| S64 | 293,553 | 278,083 | 94.73% | 59.85 | 99.63 | >95% |
| S65 | 285,822 | 272,466 | 95.33% | 59.83 | 99.88 | >95% |
| S66 | 219,381 | 209,624 | 95.55% | 59.84 | 99.87 | >95% |
| S67 | 260,509 | 248,434 | 95.36% | 59.84 | 99.98 | >95% |
| S68 | 198,439 | 188,662 | 95.07% | 59.84 | 99.65 | >95% |
| S69 | 242,876 | 231,926 | 95.49% | 59.85 | 99.87 | >95% |
| S70 | 272,281 | 259,423 | 95.28% | 59.84 | 99.77 | >95% |
| S71 | 225,343 | 71,938 | 31.92% | 59.68 | 99.07 | >80% |
| S72 | 295,725 | 279,850 | 94.63% | 59.83 | 99.62 | >95% |
| S73 | 143,366 | 135,780 | 94.71% | 59.85 | 99.57 | >95% |
| S74 | 352,945 | 335,844 | 95.15% | 59.82 | 99.63 | >95% |
| S75 | 296,205 | 283,158 | 95.60% | 59.84 | 99.75 | >95% |
| S76 | 165,117 | 156,994 | 95.08% | 59.85 | 99.74 | >95% |
| S77 | 308,938 | 294,102 | 95.20% | 59.84 | 99.76 | >95% |
| S78 | 257,048 | 244,318 | 95.05% | 59.84 | 99.85 | >95% |
| S79 | 183,685 | 175,124 | 95.34% | 59.85 | 99.53 | >95% |
| S80 | 326,192 | 310,062 | 95.06% | 59.83 | 99.74 | >95% |
| S81 | 213,217 | 199,184 | 93.42% | 59.84 | 99.71 | >85% |
| S82 | 307,043 | 292,242 | 95.18% | 59.84 | 99.74 | >95% |
| S83 | 379,421 | 360,637 | 95.05% | 59.83 | 99.98 | >95% |
| S84 | 359,615 | 341,396 | 94.93% | 59.82 | 99.79 | >95% |
| S85 | 303,152 | 287,749 | 94.92% | 59.83 | 99.80 | >95% |
| S86 | 260,762 | 245,764 | 94.25% | 59.83 | 99.57 | >95% |
| S87 | 283,170 | 264,622 | 93.45% | 59.85 | 99.64 | >95% |
| S88 | 313,232 | 295,972 | 94.49% | 59.84 | 99.54 | >95% |
| S89 | 285,469 | 270,293 | 94.68% | 59.83 | 99.87 | >95% |
| S90 | 226,758 | 214,575 | 94.63% | 59.84 | 99.68 | >95% |
| S91 | 277,738 | 263,239 | 94.78% | 59.83 | 99.67 | >95% |
| S92 | 246,514 | 233,992 | 94.92% | 59.84 | 99.88 | >95% |
| S93 | 288,374 | 274,066 | 95.04% | 59.82 | 99.99 | >95% |
| S94 | 283,953 | 269,274 | 94.83% | 59.84 | 99.62 | >95% |
| S95 | 302,799 | 287,564 | 94.97% | 59.83 | 99.74 | >95% |
| S96 | 313,611 | 296,064 | 94.40% | 59.84 | 99.53 | >95% |

8.5 Análisis de llamado de variantes

8.5.1 Llamado de variantes y control de calidad

Producto del análisis de llamado de variantes, se identificaron 3573 variantes crudas (1282 SNP y 311 indels), es decir, sin ningún filtro de calidad aplicado, a lo largo de las 96 muestras secuenciadas e incluidas dentro del análisis. Estas variantes, como se menciona en la metodología, fueron sometidas a un primer filtro de calidad en donde se tomó en cuenta la cantidad de información que apoya los llamados de variantes. Producto de este paso, se obtuvieron 1691 variantes (1282 SNP y 311 indels). Este conjunto de variantes puede considerarse de buena calidad ya que tienen más del mínimo de lecturas requeridas para que la variante llamada sea confiable, sin embargo, se decidió aplicar un segundo filtro más estricto tomando en cuenta anotaciones que: penalizan sesgos ocurridos durante la generación de las bibliotecas, cómo es el contexto de la secuencia alrededor del sitio de la variante, cuántas lecturas lo cubrieron, cuántas lecturas cubrieron cada alelo, qué proporción de lecturas estaban en orientación directa frente a inversa, entre otras.

El conjunto definitivo de variantes consistió en 1494 (1244 SNP y 250 indels), las cuales tienen buena calidad y una probabilidad muy baja de ser falsos positivos. Estas 1494 variantes están distribuidas a lo largo de los 96 sujetos secuenciados, siendo la mayoría de ellas compartidas entre individuos de la misma cohorte y entre cohortes y, en menor proporción, variantes exclusivas de individuos y cohortes, las cuales se detallarán más adelante. En la tabla 12 se puede observar el número de variantes por cohorte pre y post etapas de filtrado. El número de variantes no refleja que haya una mayor tasa de mutación en los individuos de una cohorte determinada, sino que la cantidad de variantes es proporcional al número de sujetos que integran cada cohorte. Asimismo, puede observarse que la proporción de SNP es mayor que la de los indels en todas las cohortes de este estudio, en ambas etapas.

Tabla 12. Conteo de variantes por cohorte pre y post etapas de filtrado.

| <i>Etapas de filtrado</i> | <i>Pre-filtro</i> | | <i>Post-filtro</i> | |
|---------------------------------------|-------------------|----------------------|--|---------------------------|
| | <i>Cohortes</i> | <i>Crudas</i> | <i>Filtro 1 (QD>5 & DP>10)</i> | <i>Filtro 2 (VQSR/HF)</i> |
| <i>Suicidio (n=26)</i> | 1649 | 952 | 867 | |
| | | SNPs: 710/InDels:239 | SNPs:696/InDels:171 | |
| <i>Ideación suicida (n=12)</i> | 1033 | 674 | 648 | |
| | | 512/158 | 501/147 | |
| <i>Sin ideación suicida (n=9)</i> | 847 | 560 | 536 | |
| | | 421/137 | 410/126 | |
| <i>Depresión mayor (n=8)</i> | 801 | 580 | 558 | |
| | | 441/137 | 432/126 | |
| <i>Depresión mayor con IS (n=5)</i> | 620 | 497 | 481 | |
| | | 373/123 | 365/116 | |
| <i>Depresión mayor sin IS (n=3)</i> | 463 | 364 | 348 | |
| | | 281/82 | 274/74 | |
| <i>Trastorno bipolar (n=12)</i> | 1014 | 610 | 556 | |
| | | 464/143 | 452/104 | |
| <i>Trastorno bipolar con IS (n=6)</i> | 705 | 470 | 448 | |
| | | 364/105 | 349/99 | |
| <i>Trastorno bipolar sin IS (n=6)</i> | 684 | 476 | 458 | |
| | | 358/117 | 349/109 | |
| <i>Pacientes con SDM (n=21)</i> | 1662 | 928 | 847 | |
| | | 703/215 | 689/158 | |
| <i>Controles (n=48)</i> | 2340 | 1319 | 1161 | |
| | | 999/215 | 965/196 | |
| <i>General (n=96)</i> | 3573 | 1691 | 1494 | |
| | | 2773/756 | 1282/311 | 1244/250 |

8.5.2 Anotación funcional

Como paso final del análisis bioinformático, se hizo la anotación funcional con las herramientas SnpEff y Variant Effect Predictor (VEP) de las variantes resultantes del segundo filtro de calidad en la etapa anterior. De acuerdo a lo que se observa en la tabla 13, la herramienta VEP es más eficiente que SnpEff para hacer la asignación de identificadores a las variantes ya reportadas en las bases de datos, debido a que cuenta con un mayor número de recursos (y por tanto, información) con los que VEP tiene conexión para realizar dicha tarea.

Por otra parte, tras la anotación con SnpEff se obtuvieron métricas y conteos básicos de nuestros sets de variantes. En estos se señala que el tipo de variante predominante es el SNP, las deleciones en segundo lugar y por último, las inserciones. Este conteo básico de tipo de variantes por cohorte puede verse en la tabla 14. Dentro de las variantes obtenidas, se obtuvieron algunas que tienen doble anotación, ya que en bases de datos dichas posiciones genómicas se reporta que se ha encontrado tanto una inserción como una deleción, pero en diferentes transcritos del mismo gen.

Asimismo, se obtuvo el acumulado de transiciones y transversiones por cohorte y con los cuales se calculó el cociente de transición/transversión. Estos datos se pueden consultar en la tabla 15, en la que se aprecia que a lo largo de todas las cohortes, la cantidad de transiciones es muy cercano al doble de las transversiones, lo cual es esperado debido a la naturaleza de ambos eventos y del que se discutirá más adelante. Las tasas de Ti/Tv más bajas son las observadas en la cohorte de suicidio con un valor de 1.7657 eventos de transición por cada transversión y en la de depresión mayor sin ideación suicida.

Con respecto a los efectos que producen las variantes de nuestro set de datos, se hizo un conteo de los efectos por región genómica en la que se localizan y por tipo de efecto con base en la región genómica en la que se ubican. La información que

se muestra en las tablas 16 y 17 pudiera parecer redundante, sin embargo, brindan información complementaria.

En la tabla número 16 se puede observar con una escala de colores que va de azul a rojo (siendo el azul aquellas regiones con menor cantidad de efectos y el rojo aquellas con mayor cantidad de efectos) que las regiones no codificantes, sean intrones, regiones 3' no traducibles, río arriba y río abajo del gen son las que acumulan mayor número de efectos de variante, lo cual estaba dentro de lo esperado. Sin embargo, de acuerdo con la misma tabla, los exones también tienen un número alto de efectos de variantes, lo cual se debe a que se secuenciaron específicamente los exones de los genes de interés para nuestro estudio y una porción adicional que abarcó las regiones 5' y 3' UTR. Es por esta misma razón es que los efectos son escasos en regiones intergénicas ya que estas se encuentran relativamente distantes a las regiones blanco secuenciadas. Dentro de la misma tabla se puede apreciar que las regiones con impacto a nivel transcripcional y funcional como aquellas en regiones de splicing y regiones regulatorias (como las regiones 5' UTR) poseen un bajo número de efectos de las variantes. No se observan diferencias en las proporciones de efectos de las variantes por región entre las distintas cohortes del estudio.

Algo similar se observa en la tabla 17, donde las proporciones de los efectos por tipo de variante según la región genómica en la que se ubican no difieren entre cohortes, a excepción de las variantes de cambio de marco lecturas en las cuales se aprecia una leve diferencia en comparación con las demás cohortes conformadas por sujetos del grupo de pacientes psiquiátricos, pero no así con la cohorte del grupo control. En esta tabla también se observa que los pacientes psiquiátricos (tanto depresivos como bipolares) con ideación suicida tienen una delección disruptora del marco de lectura que los pacientes sin ideación suicida no tienen y la cual parecieran compartir con los sujetos que consumaron el suicidio.

Tabla 13. Proporción de las variantes obtenidas de nuestras cohortes que, al anotarlas con los programas de anotación VEP y SnpEff, se reportan como ya conocidas de acuerdo con las bases de datos de las que se alimentan.

| Herramienta | Suicidio | Px con SDM | DM | DM con IS | DM sin IS | TB | TB con IS | TB sin IS | IS | Sin IS | Control | General |
|-------------|----------|------------|--------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|--------|--------|---------|---------|
| Total | 867 | 847 | 558 | 481 | 348 | 556 | 448 | 458 | 648 | 536 | 1161 | 1494 |
| SnpEff | 52.50% | 54.20% | 61.70% | 62.20% | 72.10% | 63.50% | 67.80% | 65.80% | 60.40% | 63.70% | 46.50% | 41.90% |
| VEP | 64.90% | 67.70% | 76.20% | 76.50% | 83.90% | 75.90% | 80.80% | 79.30% | 73.10% | 78.40% | 59.70% | 56.10% |

Tabla 14. Conteo de variantes por tipo (SNP, inserciones y deleciones) realizado por el programa de anotación SnpEff.

| Cohortes | Suicidio | Px con SDM | DM | DM con IS | DM sin IS | TB | TB con IS | TB sin IS | IS | Sin IS | Control | General |
|-------------|----------|------------|-----|-----------|-----------|-----|-----------|-----------|-----|--------|---------|---------|
| SNP | 697 | 690 | 433 | 366 | 274 | 452 | 349 | 349 | 502 | 410 | 968 | 1249 |
| Inserciones | 46 | 43 | 32 | 29 | 23 | 19 | 30 | 23 | 47 | 32 | 48 | 63 |
| Deleciones | 182 | 172 | 136 | 121 | 69 | 124 | 106 | 131 | 163 | 150 | 233 | 278 |
| Total | 925 | 905 | 601 | 516 | 366 | 595 | 485 | 331 | 712 | 486 | 1249 | 1590 |

Tabla 15. Conteo acumulado de los eventos de sustitución nucleotídica en los sujetos de las cohortes del estudio y sus respectivas tasas de transición por transversión.

| Tipo de mutación puntual | Suicidio | Px | DM | DM con IS | DM sin IS | TB | TB con IS | TB sin IS | IS | Sin IS | Control | General |
|--------------------------|----------|-------|--------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|--------|--------|---------|---------|
| Transiciones | 3,798 | 4,029 | 1,128 | 731 | 396 | 1,776 | 852 | 888 | 1,762 | 1,295 | 7,076 | 13,748 |
| Transversiones | 2,151 | 2,198 | 619 | 411 | 236 | 957 | 477 | 484 | 939 | 722 | 3,588 | 6,975 |
| TS/TV | 1.7657 | 1.833 | 1.8223 | 1.7786 | 1.6709 | 1.8558 | 1.7862 | 1.8347 | 1.8765 | 1.7936 | 1.9721 | 1.971 |

Tabla 16. Número de efectos de las variantes por región genómica en la que se localizan de acuerdo con SnpEff.

| Región | General | | Suicidio | | Px con SDM | | DM | | DM IS | | DM sin IS | | TB | | TB IS | | TB sin IS | | IS | | Sin IS | | Control | |
|---------------------------|---------|--------|----------|--------|------------|--------|-----|--------|-------|--------|-----------|--------|-----|--------|-------|--------|-----------|--------|-----|--------|--------|--------|---------|--------|
| Río abajo | 330 | 13.41% | 215 | 15.01% | 170 | 12.49% | 134 | 14.44% | 115 | 14.41% | 74 | 13.60% | 125 | 13.86% | 108 | 14.71% | 99 | 13.31% | 162 | 14.66% | 121 | 13.75% | 214 | 11.36% |
| Exón | 268 | 10.89% | 132 | 9.22% | 130 | 9.55% | 77 | 8.30% | 68 | 8.52% | 39 | 7.17% | 71 | 7.87% | 54 | 7.36% | 48 | 6.45% | 91 | 8.24% | 62 | 7.05% | 218 | 11.57% |
| Intergénicas | 28 | 1.14% | 18 | 1.26% | 17 | 1.25% | 12 | 1.29% | 10 | 1.25% | 7 | 1.29% | 9 | 1.00% | 8 | 1.09% | 8 | 1.08% | 13 | 1.18% | 10 | 1.14% | 19 | 1.01% |
| Intrón | 723 | 29.38% | 430 | 30.03% | 440 | 32.33% | 293 | 31.57% | 243 | 30.45% | 178 | 32.72% | 284 | 31.49% | 238 | 32.43% | 244 | 32.80% | 350 | 31.67% | 280 | 31.82% | 583 | 30.95% |
| Sitio aceptor de splicing | 3 | 0.12% | 2 | 0.14% | 3 | 0.22% | 2 | 0.22% | 1 | 0.13% | 1 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 0.09% | 1 | 0% | 2 | 0.11% |
| Sitio donador de splicing | 2 | 0.08% | 1 | 0.07% | 1 | 0.07% | 0 | 0% | 0 | 0% | 0 | 0% | 1 | 0.11% | 1 | 0% | 0 | 0.00% | 1 | 0% | 0 | 0.00% | 2 | 0.11% |
| Sitio de splicing | 28 | 1.14% | 22 | 1.54% | 23 | 1.69% | 16 | 1.72% | 15 | 1.88% | 9 | 1.65% | 16 | 1.77% | 7 | 0.95% | 14 | 1.88% | 16 | 1.45% | 17 | 1.93% | 17 | 0.90% |
| Transcrito | 227 | 9.22% | 149 | 10.41% | 124 | 9.11% | 87 | 9.38% | 74 | 9.27% | 54 | 9.93% | 91 | 10.09% | 76 | 10.35% | 73 | 9.81% | 111 | 10.05% | 89 | 10.11% | 164 | 8.71% |
| Río arriba | 357 | 14.51% | 191 | 13.34% | 194 | 14.25% | 130 | 14.01% | 111 | 13.91% | 66 | 12.13% | 120 | 13.30% | 92 | 12.53% | 91 | 12.23% | 149 | 13.48% | 111 | 12.61% | 282 | 14.97% |
| 3' UTR | 416 | 16.90% | 239 | 16.69% | 215 | 15.80% | 154 | 16.60% | 138 | 17.29% | 106 | 19.49% | 155 | 17.18% | 129 | 17.58% | 143 | 19.22% | 181 | 16.38% | 166 | 18.86% | 327 | 17.36% |
| 5' UTR | 79 | 3.21% | 33 | 2.30% | 44 | 3.23% | 23 | 2.48% | 23 | 2.88% | 10 | 1.84% | 30 | 3.33% | 21 | 2.86% | 24 | 3.23% | 30 | 2.72% | 23 | 2.61% | 56 | 2.97% |

Tabla 17. Número de efectos de las variantes por tipo según la región genómica en la que se localizan. Datos de salida de SnpEff.

| Efecto por tipo de variante | General | Suicidio | Px con SDM | DM | DM con IS | DM sin IS | TB | TB con IS | TB sin IS | IS | Sin IS | Control | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|----------|------------|--------|-----------|-----------|-----|-----------|-----------|--------|--------|---------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|
| 3' UTR | 416 | 16.65% | 239 | 16.39% | 215 | 15.48% | 154 | 16.26% | 138 | 16.93% | 106 | 19.13% | 155 | 16.85% | 129 | 17.39% | 143 | 18.82% | 181 | 16.12% | 166 | 18.47% | 327 | 17.11% |
| 5' UTR ganancia de codón de inicio prematuro | 7 | 0.28% | 3 | 0.21% | 3 | 0.22% | 1 | 0.11% | 0 | 0.00% | 1 | 0.18% | 2 | 0.22% | 1 | 0.14% | 2 | 0.26% | 1 | 0.09% | 2 | 0.22% | 4 | 0.21% |
| 5' UTR | 72 | 2.88% | 30 | 2.06% | 41 | 2.95% | 22 | 2.32% | 23 | 2.82% | 9 | 1.63% | 28 | 3.04% | 20 | 2.70% | 22 | 2.90% | 29 | 2.58% | 21 | 2.34% | 52 | 2.72% |
| Delección conservadora en el marco de lectura | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 1 | 0.05% |
| Delección disruptora del marco de lectura | 4 | 0.16% | 3 | 0.21% | 2 | 0.14% | 1 | 0.11% | 1 | 0.12% | 0 | 0.00% | 1 | 0.11% | 1 | 0.14% | 0 | 0.00% | 1 | 0.09% | 0 | 0.00% | 3 | 0.16% |
| Río abajo del gen | 330 | 13.21% | 215 | 14.75% | 170 | 12.24% | 134 | 14.15% | 115 | 14.11% | 74 | 13.36% | 125 | 13.59% | 108 | 14.56% | 99 | 13.03% | 162 | 14.43% | 121 | 13.46% | 214 | 11.20% |
| Variante con cambio del marco de lectura | 37 | 1.48% | 19 | 1.30% | 12 | 0.86% | 7 | 0.74% | 5 | 0.61% | 4 | 0.72% | 5 | 0.54% | 4 | 0.54% | 3 | 0.40% | 5 | 0.45% | 6 | 0.67% | 28 | 1.47% |
| Región intergénica | 28 | 1.12% | 18 | 1.24% | 17 | 1.22% | 12 | 1.27% | 10 | 1.23% | 7 | 1.26% | 9 | 0.98% | 8 | 1.08% | 8 | 1.05% | 13 | 1.16% | 10 | 1.11% | 19 | 0.99% |
| Región intragénica | 227 | 9.08% | 149 | 10.22% | 124 | 8.93% | 87 | 9.19% | 74 | 9.08% | 54 | 9.75% | 91 | 9.89% | 76 | 10.24% | 73 | 9.61% | 111 | 9.88% | 89 | 9.90% | 164 | 8.58% |
| Intrónica | 754 | 30.17% | 454 | 31.14% | 465 | 33.48% | 310 | 32.74% | 257 | 31.53% | 187 | 33.76% | 299 | 32.50% | 245 | 33.02% | 257 | 33.82% | 366 | 32.59% | 297 | 33.04% | 603 | 31.55% |
| Cambio de sentido | 115 | 4.60% | 46 | 3.16% | 51 | 3.67% | 27 | 2.85% | 27 | 3.31% | 10 | 1.81% | 27 | 2.94% | 17 | 2.29% | 18 | 2.37% | 38 | 3.38% | 20 | 2.23% | 101 | 5.29% |
| Exónica de transcrito no codificante | 12 | 0.48% | 10 | 0.69% | 5 | 0.36% | 5 | 0.53% | 5 | 0.61% | 1 | 0.18% | 2 | 0.22% | 2 | 0.27% | 3 | 0.40% | 5 | 0.45% | 3 | 0.33% | 11 | 0.58% |
| Sitio aceptor de splicing | 3 | 0.12% | 2 | 0.14% | 3 | 0.22% | 2 | 0.21% | 1 | 0.12% | 1 | 0.18% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 1 | 0.09% | 1 | 0.11% | 2 | 0.11% |
| Sitio donador de splicing | 2 | 0.08% | 1 | 0.07% | 1 | 0.07% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 1 | 0.11% | 1 | 0.14% | 0 | 0.00% | 1 | 0.09% | 0 | 0.00% | 2 | 0.11% |
| Región de splicing | 33 | 1.32% | 22 | 1.51% | 25 | 1.80% | 17 | 1.80% | 16 | 1.96% | 9 | 1.63% | 18 | 1.96% | 8 | 1.08% | 16 | 2.11% | 17 | 1.51% | 18 | 2.00% | 23 | 1.20% |
| Ganancia de codón de parada | 4 | 0.16% | 2 | 0.14% | 1 | 0.07% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 1 | 0.13% | 0 | 0.00% | 0 | 0.00% | 2 | 0.11% |
| Sinónima | 98 | 3.92% | 54 | 3.70% | 60 | 4.32% | 38 | 4.01% | 32 | 3.93% | 25 | 4.51% | 37 | 4.02% | 30 | 4.04% | 24 | 3.16% | 43 | 3.83% | 34 | 3.78% | 73 | 3.82% |
| Río arriba del gen | 357 | 14.29% | 191 | 13.10% | 194 | 13.97% | 130 | 13.73% | 111 | 13.62% | 66 | 11.91% | 120 | 13.04% | 92 | 12.40% | 91 | 11.97% | 149 | 13.27% | 111 | 12.35% | 282 | 14.76% |

8.5.3 Análisis de la distribución de las variantes con base en su frecuencia alélica, impacto funcional y gen en el que se localizan.

A la par de la anotación funcional con SnpEff, este programa, automáticamente, hace un análisis de la distribución de las variantes que afectan los genes anotados y genera una tabla como la que se muestra a continuación (tabla 18).

Tabla 18. Recuentos del número de variantes que afectan a cada gen anotado por cohorte.

| GEN | COHORTES | | | | | | | | | | | |
|----------|----------|----------|-------|-----------|----|-------|-----------|----|-------|-----------|---------|---------|
| | SUICIDIO | PX PSIQ. | PX IS | PX SIN IS | DM | DM IS | DM SIN IS | TB | TB IS | TB SIN IS | CONTROL | GENERAL |
| AKT1S1 | 11 | 13 | 11 | 7 | 9 | 7 | 5 | 8 | 5 | 6 | 27 | 28 |
| ALDH3A2 | 24 | 24 | 20 | 15 | 20 | 16 | 13 | 12 | 12 | 12 | 23 | 40 |
| APOE | 9 | 6 | 6 | 3 | 6 | 5 | 1 | 3 | 3 | 2 | 9 | 18 |
| ARHGAP26 | 54 | 74 | 47 | 54 | 40 | 32 | 25 | 55 | 36 | 49 | 83 | 103 |
| ATP6V0E1 | 11 | 14 | 9 | 6 | 6 | 7 | 4 | 7 | 3 | 6 | 21 | 19 |
| BCL2 | 28 | 28 | 18 | 15 | 16 | 14 | 10 | 15 | 15 | 11 | 34 | 43 |
| CD164 | 25 | 27 | 18 | 15 | 19 | 15 | 12 | 14 | 12 | 12 | 28 | 36 |
| CD24 | 6 | 7 | 7 | 5 | 3 | 5 | 2 | 4 | 2 | 5 | 4 | 11 |
| CD47 | 40 | 28 | 30 | 15 | 20 | 19 | 13 | 18 | 24 | 11 | 40 | 59 |
| FOXP3 | 47 | 37 | 36 | 27 | 24 | 22 | 11 | 32 | 20 | 24 | 37 | 66 |
| GBP1 | 24 | 27 | 22 | 20 | 15 | 15 | 13 | 22 | 20 | 17 | 33 | 36 |
| GSK3B | 47 | 48 | 29 | 40 | 28 | 25 | 21 | 32 | 23 | 29 | 43 | 75 |
| HTRA1 | 15 | 25 | 21 | 13 | 23 | 17 | 10 | 10 | 7 | 11 | 28 | 43 |
| IL1B | 12 | 13 | 11 | 10 | 11 | 10 | 4 | 13 | 9 | 8 | 16 | 22 |
| IL6 | 8 | 12 | 7 | 7 | 7 | 7 | 3 | 8 | 4 | 7 | 16 | 22 |
| JUN | 18 | 15 | 9 | 7 | 10 | 8 | 6 | 7 | 5 | 5 | 16 | 26 |
| LHFPL6 | 11 | 14 | 9 | 14 | 12 | 9 | 11 | 11 | 7 | 12 | 20 | 24 |
| LPAR1 | 13 | 14 | 11 | 8 | 11 | 10 | 7 | 8 | 6 | 6 | 18 | 23 |
| MAOB | 26 | 16 | 15 | 4 | 10 | 9 | 2 | 5 | 4 | 3 | 29 | 42 |
| MARCKS | 39 | 24 | 32 | 21 | 29 | 29 | 18 | 22 | 19 | 20 | 38 | 51 |
| MBP | 57 | 48 | 43 | 31 | 38 | 37 | 18 | 33 | 24 | 28 | 71 | 85 |
| PAFAH1B2 | 28 | 27 | 25 | 20 | 20 | 19 | 11 | 17 | 14 | 19 | 46 | 52 |
| PCDH9 | 16 | 24 | 15 | 16 | 14 | 11 | 9 | 16 | 9 | 12 | 31 | 41 |
| PGK1 | 20 | 12 | 15 | 12 | 15 | 13 | 9 | 11 | 8 | 11 | 25 | 39 |
| PIK3R5 | 40 | 46 | 31 | 29 | 31 | 22 | 18 | 24 | 24 | 25 | 57 | 65 |
| PKP4 | 31 | 30 | 21 | 17 | 16 | 12 | 10 | 22 | 16 | 14 | 41 | 53 |
| PTEN | 37 | 26 | 23 | 23 | 15 | 15 | 10 | 16 | 17 | 20 | 48 | 65 |
| PTK2 | 41 | 46 | 32 | 29 | 29 | 28 | 16 | 21 | 25 | 26 | 71 | 83 |
| RECK | 50 | 49 | 36 | 20 | 17 | 17 | 10 | 34 | 24 | 23 | 58 | 84 |
| SAT1 | 8 | 17 | 16 | 4 | 11 | 10 | 4 | 10 | 9 | 4 | 17 | 24 |
| SKA2 | 13 | 9 | 9 | 7 | 6 | 5 | 5 | 9 | 8 | 8 | 14 | 17 |
| SLC4A4 | 49 | 56 | 34 | 38 | 39 | 32 | 28 | 36 | 29 | 28 | 66 | 82 |
| SPTBN1 | 84 | 74 | 57 | 54 | 46 | 27 | 37 | 54 | 47 | 41 | 119 | 141 |

Los cinco genes con mayor número de variantes identificadas en todas las cohortes de nuestro estudio y en los 96 sujetos secuenciados fueron *SPTBN1*, *ARHGAP26*, *MBP*, *PTK2* y *RECK*, en un orden intercambiable entre las diferentes cohortes. Mientras que los cinco genes con menor cantidad de variantes afectando fueron *CD24*, *SKA2*, *APOE*, *ATP6V0E1E* e *IL6*. En la cohorte de suicidio consumado, a esta lista de genes con menor variación se agrega *SAT1* en el lugar de *SKA2*,

mientras que en los de mayor número de variantes *RECK* no aparece en la lista y se agrega *SLC4A4*.

El número de variantes por gen es proporcional a la longitud de los exones y sus regiones 5' y 3' no traducibles cubiertas durante la secuenciación. La longitud de las regiones genómicas cubiertas en cada gen puede consultarse en el anexo 8.

Asimismo, se realizó un conteo de las variantes categorizándolas, según su frecuencia alélica reportada por las bases de datos de los 1000G y GnomAD, en raras (FA \leq 1%), poco frecuentes (FA $>$ 1% y FA \leq 5%) y comunes (FA $>$ 5%). GnomAD cuenta únicamente con información de exomas, por lo que las variantes contenidas aquí pertenecen a variantes que afectan regiones codificantes por lo que tienen un efecto sobre la proteína.

Los genes con mayor carga de variantes raras son *SPTBN1* en las cohortes de suicidio, pacientes con síndromes depresivo mayor y la de pacientes con depresión mayor con ideación suicida, *GSK3B* y *PCDH9*, el primero en las cohortes de depresión mayor sin ideación suicida y el segundo en las cohortes de trastorno bipolar y trastorno bipolar sin ideación suicida.

En cuanto a los genes con mayor carga de variantes raras en regiones codificantes están *RECK* en la cohorte de suicidio, *MBP* en la cohorte de pacientes con ideación suicida y pacientes con síndromes depresivo mayor, *PTK2* en la cohorte de depresión mayor con ideación suicida, *GSK3B* en la cohorte de pacientes sin ideación suicida, *FOXN3* en la cohorte de depresión mayor y trastorno bipolar con y sin ideación suicida y, por último, *PIK3R5* en la cohorte de pacientes con depresión mayor sin ideación suicida. Las variantes raras son importantes debido al impacto que tienen sobre la función de la proteína y la penetrancia en fenotipos complejos como lo son las enfermedades psiquiátricas y el suicidio. *RECK*, *MBP* y *PTK2*, como ya se había mencionado, son de los genes con mayor longitud en sus exones y que, por lo tanto, tienen mayor carga de variantes en general. Por ello, una mayor

cantidad de variantes raras en estos genes podría no reflejar un mayor papel de este gen sobre el fenotipo.

Con respecto a los genes con mayor carga de variantes poco comunes aparecen genes como *SPTBN1* en las cohortes de suicidio, pacientes con ideación suicida y controles; *ARHGAP26* en las cohortes de pacientes con ideación suicida, con síndrome depresivo mayor y en las cohortes de trastorno bipolar con y sin ideación suicida; por su parte, el gen *BCL2* tiene la mayor carga de variantes en las cohortes de pacientes sin ideación y depresión mayor con y sin ideación suicida. Sobre las variantes poco frecuentes en regiones codificantes, el gen *SPTBN1* tiene la mayor carga de variantes de esta categoría en todas las cohortes del estudio.

Finalmente, la carga de variantes comunes en general y las que se encuentran solamente en regiones codificantes es mayor en genes como *SPTBN*, *ARHGAP26*, *MBP*, *PTK2*, *SLC4A4* y *PIK3R5*, los cuatro primeros coinciden con la lista de los 5 genes en los que se identificaron mayor número de variantes y los últimos dos están dentro de los 10 genes que tienen mayor número de variantes identificadas en nuestro estudio.

Es relevante mencionar que estos resultados deben tomarse con precaución, ya que estos datos se obtienen de bases de datos las cuales no cuentan con la información completa de la totalidad de las variantes de nuestro set de datos, por lo cual estos recuentos solo fueron hechos con aquellas variantes que tienen reportada la frecuencia alélica poblacional global.

Pasando al recuento de variantes con impacto funcional con los programas de predicción, se obtuvo que el número de variantes dado por SIFT y Poly-Phen 2 es menor que el dado por CADD, esto debido a que los dos primeros solo toman en cuenta sustituciones de un solo nucleótido y CADD lo hace también con indels y variantes en regiones no codificantes. Menos del 10% de las variantes identificadas en cada cohorte tienen un efecto deletéreo o dañino según SIFT y Poly-Phen 2.

En la tabla 20 se compara el número de variantes que tienen consecuencia funcional entre las cohortes del estudio. En ésta se muestra que los pacientes con ideación suicida presentaron un mayor número de variantes deletéreas o dañinas que las cohortes de pacientes sin ideación suicida. También se exhibe que, en todas las cohortes, una baja proporción de esas variantes se encuentran anotadas como raras.

Tabla 19. Distribución de las variantes de acuerdo con su frecuencia alélica reportada en las bases de datos de los 1000 Genomas y GnomAD (Genome Aggregation Database) en las cohortes de estudio y el gen con mayor carga de variantes de cada categoría.

| | Suicidio | | IS | | Sin IS | | DM | | DM con IS | | DM sin IS | | TB | | TB con IS | | TB sin IS | | Px con SDM | | Controles | | General | |
|---|----------|--------|----------|--------|---------|--------|-------|--------|-----------|--------|-----------|----------|----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|------------|--------|-----------|--------|---------|--------|
| | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD | 1000G | gnomAD |
| Variantes raras (AF <= 1%) | 66 | 34 | 28 | 22 | 31 | 20 | 28 | 23 | 12 | 16 | 16 | 8 | 27 | 19 | 14 | 9 | 14 | 13 | 61 | 37 | 100 | 54 | 158 | 83 |
| Gen con mayor número de variantes raras | SPTBN1 | RECK | SPTBN1 | MBP | GSK3B | GSK3B | GSK3B | FOXN3 | SPTBN1 | PTK2 | GSK3B | PIK3R5 | PCDH9 | FOXN3 | PCDH9 | FOXN3 | GSK3B | FOXN3 | GSK3B | MBP | FOXN3 | FOXN3 | SPTBN1 | MBP |
| Variantes poco frecuentes (AF =1-5%) | 66 | 33 | 47 | 30 | 29 | 12 | 29 | 17 | 21 | 13 | 14 | 6 | 46 | 22 | 32 | 18 | 18 | 6 | 77 | 38 | 99 | 49 | 125 | 53 |
| Gen con número de variantes poco frecuentes | SPTBN1 | SPTBN1 | ARHGAP26 | SPTBN1 | BCL2 | SPTBN1 | BCL2 | IL6** | BCL2 | IL6 | BCL2 | GSK3B*** | ARHGAP26 | SPTBN1 | ARHGAP26 | SPTBN1 | ARHGAP26 | SPTBN1 | ARHGAP26 | SPTBN1 | SPTBN1 | SPTBN1 | SPTBN1 | SPTBN1 |
| Variantes comunes (AF > 5%) | 230 | 113 | 207 | 93 | 190 | 84 | 199 | 87 | 172 | 77 | 142 | 65 | 188 | 88 | 166 | 76 | 169 | 83 | 231 | 108 | 238 | 121 | 244 | 130 |
| Gen con número de variantes comunes | SPTBN1 | PIK3R5 | MBP | PIK3R5 | SLC44A4 | PIK3R5 | MBP* | PIK3R5 | MBP | PTK2 | SLC44A4 | PIK3R5 | SPTBN1 | PIK3R5 | PIK3R5 | PIK3R5 | PIK3R5 | PIK3R5 | SPTBN1 | PIK3R5 | SPTBN1 | PIK3R5 | SPTBN1 | PIK3R5 |

*MBP, SPTBN1

**IL6, MBP, PIK3R5 y SPTBN1.

***GSK3B, PCDH9, PKP4, SPTBN1, AKT1S1

Tabla 20. Clasificación de las variantes de acuerdo con su impacto funcional predicho de acuerdo con SIFT, Poly-Phen-2 por CADD.

| | Suicidio | | IS | | Sin IS | | DM | | DM con IS | | DM sin IS | | TB | | TB con IS | | TB sin IS | | Px con SDM | | Controles | |
|--|----------|----------|---------|----------|---------|----------|---------|----------|-----------|----------|-----------|----------|---------|----------|-----------|----------|-----------|----------|------------|----------|-----------|----------|
| | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% | Totales | MAF < 1% |
| Variantes predichas como deletéreas y variantes que truncan la proteína con SIFT y Poly-Phen-2 | 38 | 3 | 29 | 2 | 21 | 2 | 21 | 2 | 21 | 1 | 11 | 1 | 26 | 2 | 17 | 1 | 20 | 1 | 46 | 5 | 81 | 7 |
| Variantes predichas como dañinas por puntaje de CADD (Combined Annotation Dependent Depletion) | 140 | 15 | 102 | 7 | 69 | 4 | 76 | 6 | 71 | 4 | 40 | 2 | 82 | 6 | 82 | 6 | 64 | 2 | 129 | 9 | 212 | 19 |

8.6 Análisis de conjuntos entre las cohortes del estudio

Para el análisis de conjuntos se utilizaron únicamente variantes ya existentes en las bases de datos que tuvieran identificadores ya asignados. Con esto, se obtuvieron variantes exclusivas y compartidas entre las cohortes de suicidio, ideación suicida y trastornos psiquiátricos.

8.6.1 Variantes exclusivas

8.6.1.1 Variantes exclusivas de la cohorte de suicidio consumado

Empezando con las variantes exclusivas de la cohorte de suicidio consumado, se obtuvieron 125 variantes únicas, de las cuales 42 tienen efectos regulatorios, ya sea que están afectando promotores, potenciadores, sitios de unión a factores de transcripción o sitios de cromatina abierta; 11 tienen un efecto de cambio de sentido sobre los productos de genes *JUN*, *GBP1*, *PCDH9*, *FOXN3*, *MBP*, *SLC4A4*, *PTK2*, *RECK* y *PTEN* (tabla 12). Los genes con mayor carga de variantes exclusivas de esta cohorte son *SPTBN1* (12), *PTEN* (11) y *MBP* (8). En el anexo 9 se enlistan estas variantes con su anotación funcional. Las variantes con efecto regulatorio pueden consultarse en el anexo 10.

Tabla 21. Variantes con cambio de sentido exclusivas de la cohorte de suicidio.

| ID | Alelo | Consecuencia | GEN | AA | Codón | 1000G AF | gnomAD AF |
|--------------|-------|-------------------|--------|-----|---------|----------|-----------|
| rs1232590837 | T | Cambio de sentido | JUN | G/S | Ggc/Agc | - | 0 |
| rs17130717 | G | Cambio de sentido | GBP1 | E/D | gaG/gaC | 0.009 | 0.01994 |
| rs957266665 | T | Cambio de sentido | PCDH9 | A/T | Gct/Act | - | 3.98E-06 |
| rs774391467 | A | Cambio de sentido | FOXN3 | K/M | aAg/aTg | - | 3.98E-06 |
| rs114952201 | T | Cambio de sentido | MBP | A/T | Gct/Act | 0.0254 | 0.005853 |
| rs761573966 | G | Cambio de sentido | SLC4A4 | I/V | Att/Gtt | - | 0.0001356 |
| rs72650362 | G | Cambio de sentido | SLC4A4 | K/R | aAg/aGg | 0.0016 | 0.002114 |
| rs1386740836 | C | Cambio de sentido | PTK2 | N/D | Aac/Gac | - | - |
| rs139893051 | A | Cambio de sentido | RECK | A/T | Gcc/Acc | 0.0098 | 0.001454 |
| rs375477269 | A | Cambio de sentido | RECK | V/I | Gtt/Att | 0.0002 | 9.50E-05 |
| rs889404566 | A | Cambio de sentido | PTEN | A/T | Gca/Aca | - | - |

8.6.1.2 Variantes exclusivas de las cohortes de ideación suicida

Además, se obtuvieron las variantes únicas de la cohorte de pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida con un total de 83. De estas, 41 tienen algún efecto regulatorio, principalmente afectando promotores y regiones donde la cromatina está abierta. Además, 5 de dichas 83 tienen un efecto de cambio de sentido afectando los productos de los genes *MBP* (rs145141322), *SLC4A4* (rs1231291191), *IL6* (rs879867167), *PTK2* (rs185796736) y *SAT1* (rs145980431). La información de estas variantes pueden consultarse en la tabla 22. Los genes con mayor carga de variantes únicas en la cohorte de ideación suicida son *RECK* (10), *CD47* (6), *MBP* (6), *PTEN* (6) y *FOXN3* (5). En el anexo 11 se enlistan estas variantes con su anotación funcional.

Tabla 22. Variantes con cambio de sentido exclusivas de la cohorte de pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida.

| ID | Alelo | Consecuencia | Gen | AA | Codón | 1000G AF | gnomAD_AF |
|--------------|-------|-------------------|--------|-----|---------|----------|-----------|
| rs145141322 | T | Cambio de sentido | MBP | G/R | Gga/Aga | 0.0026 | 0.003618 |
| rs1231291191 | T | Cambio de sentido | SLC4A4 | P/L | cCg/cTg | - | 4.01E-06 |
| rs879867167 | G | Cambio de sentido | IL6 | D/G | gAc/gGc | - | - |
| rs185796736 | C | Cambio de sentido | PTK2 | S/C | tCt/tGt | 0.0002 | 0.0002392 |
| rs145980431 | A | Cambio de sentido | SAT1 | A/T | Gcc/Acc | 0.0003 | 0.0002852 |

De acuerdo con las bases de datos, estas variantes exclusivas son extremadamente raras en la población global, por lo que su influencia en el fenotipo que estamos estudiando podría ser relevante.

8.6.2 Variantes de riesgo de suicidio.

Se identificaron 18 variantes que se comparten únicamente entre las cohortes de pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida y las cuales podrían representar importantes factores de riesgo para que los pacientes que padecen ya sean, depresión mayor o trastorno bipolar, desarrollen ideación suicida. De estas 18 mutaciones, 3 tienen efectos regulatorios principalmente sobre sitios de unión a factores de transcripción, mientras que ninguna tiene impacto sobre la

secuencia de la proteína. Estas variantes son primordialmente inserciones y deleciones que están afectando regiones no codificantes, mayormente intrones y regiones río abajo y arriba de los genes analizados. El ID de estas variantes puede consultarse en la tabla 23.

Tabla 23. Variantes que se comparten únicamente entre las cohortes de pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida

| ID | Alelo | Consecuencia | Gen | 1000G AF | gnomAD AF |
|--------------|--------------|--------------|----------|----------|-----------|
| rs5786797 | TTTTTTTTTTTT | 3' UTR | PTEN | - | - |
| rs73578684 | G | Río abajo | PAFAH1B2 | 0.0222 | - |
| rs45628435 | TT | Río abajo | PAFAH1B2 | 0.6713 | - |
| rs578092015 | TTTTTTTTTTTT | intrón | PIK3R5 | - | - |
| rs199646264 | T | intrón | ALDH3A2 | - | - |
| rs34160909 | - | intrón | ALDH3A2 | 0.6757 | - |
| rs118120854 | A | Río arriba | SKA2 | 0.0024 | - |
| rs201462458 | AAAAAAAAAA | 3' UTR | CD47 | - | - |
| rs765636640 | AAAAAAAAAA | 3' UTR | CD47 | - | - |
| rs59156758 | AAAAAAA | 3' UTR | GSK3B | - | - |
| rs72546692 | TTTTT | Intrón | GSK3B | - | 1.22E-05 |
| rs1009894349 | AAAAAA | 3' UTR | ARHGAP26 | - | - |
| rs11464275 | TTTTTTTT | Intrón | PTK2 | - | - |
| rs369382658 | TTTTT | Intrón | PTK2 | - | - |
| rs111307343 | AAAAAAAAAA | Intrón | PTK2 | - | - |
| rs398113450 | TTTTTTTTTT | Intrón | RECK | - | 0.001541 |
| rs5786797 | TTTTTTTTTTTT | Río abajo | PTEN | - | - |
| rs16657 | ACTCAC | Río abajo | PGK1 | - | - |

Adicionalmente, se obtuvieron 17 variantes que se comparten entre pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida y con los sujetos que consumaron el suicidio. De éstas, 9 tienen efectos regulatorios afectando principalmente promotores y sitios de unión a factores de transcripción. Ninguna de estas variantes tiene efecto sobre la secuencia de la proteína, pues se encuentran en regiones no codificantes. Los detalles de estas variantes se muestran en la tabla 26. Estas variantes podrían representar factores genéticos de riesgo que lleven a un paciente con síndrome depresivo mayor a desarrollar ideación suicida incluso a consumir el suicidio.

Tabla 24. Variantes compartidas entre pacientes con síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida y con los sujetos que consumaron el suicidio.

| ID | Alelo | Consecuencia | Gen | 1000G AF | gnomAD AF |
|--------------|--------------|--------------|----------|----------|-----------|
| rs1407816 | A | 5' UTR | JUN | - | - |
| rs3833546 | G | 5' UTR | JUN | - | - |
| rs201866164 | TTTTTTTT | 3' UTR | PTEN | - | - |
| rs35139041 | TTTTTTTT | Intrón | PAFAH1B2 | - | 1.33E-05 |
| rs10535646 | TGC | Río arriba | PAFAH1B3 | - | - |
| rs145915181 | T | Río arriba | FOXN3 | 0.0459 | - |
| rs1423181817 | AAAAAAAAAAAA | 3' UTR | CD47 | - | - |
| rs17246737 | G | Intrón | GSK3B | 0.0679 | - |
| rs573709990 | AAAAAAA | 3' UTR | ARHGAP26 | - | - |
| rs3831331 | TATA | Intrón | CD164 | 0.9497 | - |
| rs77504265 | A | Intrón | CD164 | 0.0525 | - |
| rs1360856660 | TTTTTTTTTTTT | 3' UTR | MARCKS | - | - |
| rs1491209603 | - | 3' UTR | MARCKS | - | - |
| rs13251272 | C | Intrón | PTK2 | 0.3584 | - |
| rs142846460 | AAAAAAA | Intrón | RECK | - | - |
| rs879128364 | TTTTTTTT | 3' UTR | RECK | - | - |

Finalmente, se identificaron 12 variantes que se comparten únicamente en los pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida y los sujetos que consumaron el suicidio, los cuales podrían ser factores genéticos determinantes para que un paciente con conductas suicidas esté en mayor riesgo de consumir el suicidio. De estas 12 mutaciones, dos afectan regiones regulatorias (promotores) y dos más son variantes que afectan regiones codificantes, la mutación rs61737992 (*ALDH3A2*) y rs61742988 (*MBP*). La lista de estas 12 variantes y sus anotaciones están en la tabla 25.

Tabla 25. Variantes compartidas entre los pacientes con síndrome depresivo mayor con ideación suicida y los sujetos que consumaron el suicidio.

| ID | Alelo | Consecuencia | Gen | AA | Codón | SIFT | PolyPhen | 1000G AF | gnomAD AF |
|--------------|---------------|-------------------|----------|-----|---------|-----------|--------------------|----------|-----------|
| rs61737992 | T | Cambio de sentido | ALDH3A2 | P/S | Ccc/Tcc | tolerated | bening | 0.0024 | 0.004275 |
| rs140093696 | TGTGTGTGTGTGT | 3'UTR | BCL2 | - | - | - | - | - | - |
| rs61742988 | A | Cambio de sentido | MBP | G/C | Ggt/Tgt | - | del low confidence | - | 7.96E-06 |
| rs185473101 | A | 3'UTR | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0026 | - |
| rs117960314 | A | Intrón | CD47 | - | - | - | - | 0.013 | - |
| rs774554495 | T | 3'UTR | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - |
| rs1411296300 | TTTTTT | 3'UTR | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - |
| rs1206620021 | C | 3'UTR | CD24 | - | - | - | - | - | - |
| rs962110395 | A | 3'UTR | MARCKS | - | - | - | - | - | - |
| rs1327272335 | TTTTT | Intrón | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs149920089 | A | Intrón | RECK | - | - | - | - | 0.0072 | - |
| rs2072745 | G | 3'UTR | MAOB | - | - | - | - | - | - |

8.6.3 Variantes seleccionadas para evaluarlas mediante qPCR en pacientes psiquiátricos

Después del análisis de llamado de variantes y hecho el resumen de los hallazgos en las cohortes, se procedió a seleccionar tres variantes del VCF de la cohorte de suicidio consumado que cumplieran con los criterios previamente descritos en la metodología. Las tres variantes se localizan en regiones codificantes en tres diferentes genes: *MBP*, *ALDH3A2* y *SLC4A4*. Estos polimorfismos tienen un impacto sobre la función del producto de estos genes de acuerdo con las anotaciones de SIFT y Poly-Phen-2 hechas con VEP. Sin embargo, solo las variantes rs470797 y rs1062677, se han asociado previamente con fenotipos relacionados a afectaciones en el Sistema Nervioso Central.

El criterio más importante para la selección de estos polimorfismos fue que exhibieran diferencias entre las proporciones genotípicas de las cohortes de sujetos que consumaron el suicidio y los controles sanos. En el caso del polimorfismo rs470797 en el gen *MBP*, la proporción de homocigotos del alelo ancestral G (50.0%) es menor en el grupo de suicidio consumado que en el grupo control (75.0%), mientras que la proporción de los heterocigotos G/A (46.1%) es mayor en este grupo en comparación con la proporción de este genotipo (21.0%) grupo control.

Por su parte, el polimorfismo rs1800869 en el gen *ALDH3A2* tiene una diferencia sutil en la proporción genotípica de los grupos de suicidio y controles. En donde las proporciones de los homocigotos del alelo variante G con 8.7% y los heterocigotos C/G con 37.5% son mayores en el grupo de casos que en el de controles, en donde los homocigotos del alelo G están en una proporción de 4.3% y de 34.8% para heterocigotos.

En cuanto al polimorfismo rs1062677 en el gen *SLC4A4*, los homocigotos del alelo ancestral A están una proporción menor en el grupo de casos (15.4%) que en el grupo de controles (41.3%). Sin embargo, los heterocigotos A/C (61.5%) y los

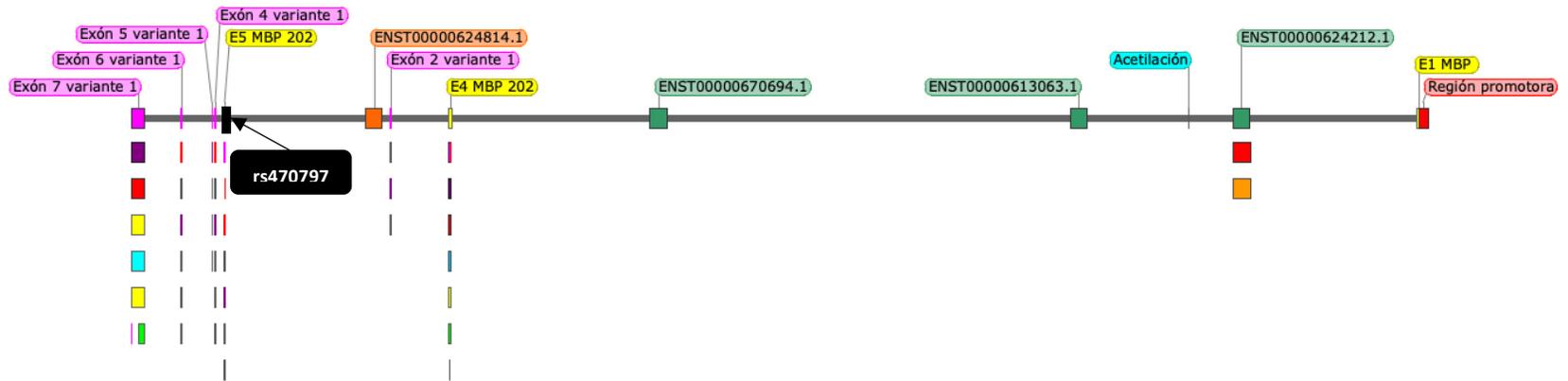
homocigotos del alelo variante C (23.1%) del grupo de casos se encuentran en una mayor proporción que en el grupo de controles. En este último grupo, los homocigotos del alelo C están en una proporción de 45.7% y los heterocigotos en una proporción de 13.0%. La información anterior puede revisarse en la tabla 26. La localización de los polimorfismos seleccionados en el gen se muestra en la figura 15.

Tabla 26. Polimorfismos seleccionados a partir de las variantes obtenidas del análisis bioinformático y que fueron posteriormente evaluadas mediante PCR tiempo real en el objetivo 3.

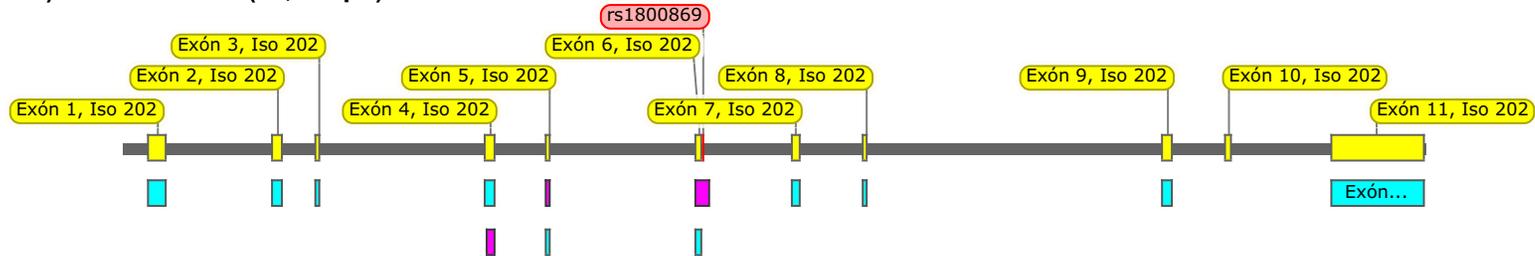
| ID | Gen | Ref/Alt | Exón | MAF | Consecuencia | Codón | AA | SIFT | Poly-phen-2 | Fenotipo asociado | GT SCD (%) | | | GT CTRL (%) | | |
|-----------|---------|---------|-------|------|-------------------|---------|------|-----------|-------------|-------------------|------------|------|------|-------------|------|------|
| | | | | | | | | | | | H-R | HET | H-A | H-R | HET | H-A |
| rs470797 | MBP | G/A | 5/9 | 0.2 | Cambio de sentido | aCg/aTg | T->M | Deletérea | Pos. dañina | Volumen cerebral | 50.0 | 46.1 | 3.9 | 75.0 | 21.0 | 4.0 |
| rs1800869 | ALDH3A2 | C/G | 6/9 | 0.25 | Cambio de sentido | tgC/tgG | C->W | N/A | Pos. dañina | N/A | 54.2 | 37.5 | 8.3 | 60.9 | 34.8 | 4.3 |
| rs1062677 | SLC4A4 | A/C | 25/25 | 0.34 | Cambio de sentido | Ata/Cta | I->L | Deletérea | N/A | Retraso mental | 15.4 | 61.5 | 23.1 | 41.3 | 45.7 | 13.0 |

Cohorte suicidio: n=26
Cohorte control: n=48

a) Gen MBP (154,876 pb)



b) Gen ALDH3A2 (29,461 pb)



c) Gen SLC4A4 (509,438 pb)

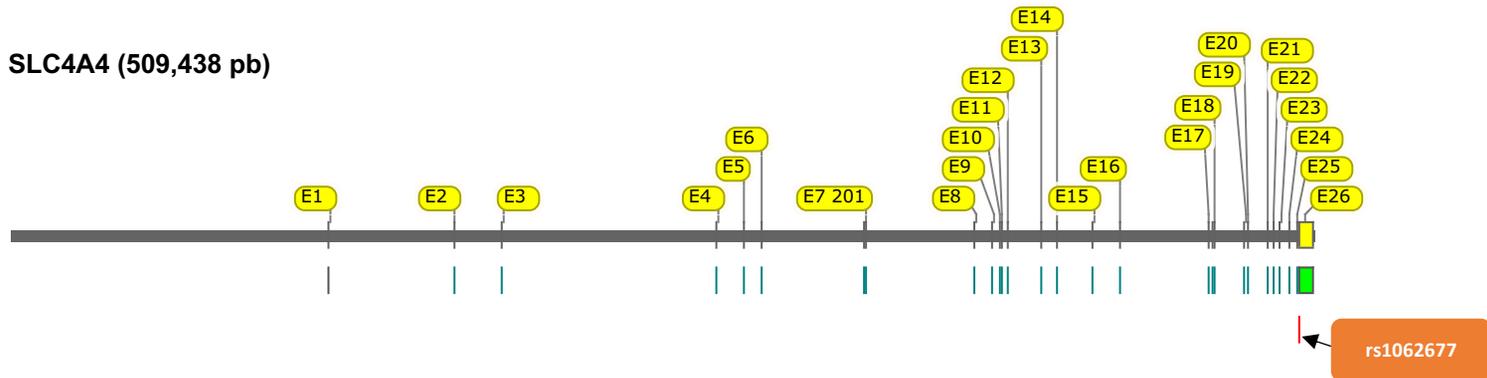


Figura 15. Localización de los SNP rs470797(*MBP*), rs1800869 (*ALDH3A2*) y rs1062677(*SLC4A4*) en sus respectivos genes. Se representa la estructura de los genes y posición en la que se ubican las variantes seleccionadas para evaluar en los pacientes psiquiátricos y controles mediante PCR tiempo real: a) estructura del gen *MBP*, b) estructura del gen *ALDH3A2* y c) Estructura del gen *SLC4A4*. En cada esquemas se anotaron los exones incluidos en el transcrito en que la variante tiene el efecto de cambio de sentido, así como elementos regulatorios o modificaciones epigenéticas reportadas en las bases de datos.

8.7 Análisis de las frecuencias alélicas, genotípicas, Odds ratio y equilibrio de Hardy Weinberg de los SNP seleccionados

8.7.1 Análisis de frecuencias alélicas en los SNP seleccionados

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs470797, rs1080869 y rs1062677 en los grupos de casos (pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida), y controles se representan en la tabla 27.

En el caso del polimorfismo rs18000869, el alelo más frecuente tanto en casos (76%) como en controles (73%) fue el alelo C ancestral y no se observaron diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de ambos grupos ($X^2=0.83$, $df=1$, $p=0.36$).

Para el SNP rs1062677 tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas ($X^2=0.61$, $df=1$, $p=1.14$) entre las frecuencias alélicas del grupo de casos y controles, en donde el alelo ancestral C fue el más frecuente en ambos grupos, 63% en casos y 60% en controles.

Respecto al polimorfismo rs470797, el alelo más frecuente fue el ancestral (G), en casos (74%) y en controles (81%) observándose una diferencia significativa en las proporciones alélicas entre casos y controles ($X^2=4.01$, $df=1$, $p=0.05$). Los alelos del polimorfismo analizado en esta población mostraron un OR de 1.21, el cual no fue estadísticamente significativo (CI 95%=0.79-1.88).

Tabla 27. Frecuencias alélicas de los polimorfismos rs1080869, rs1062677 y rs470797 en casos (grupo de pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles.

| SNP | Alelos | Casos | f(A) | Control | f(A) | X ² | p | OR | df | CI 95% |
|-----------|--------|-------|------|---------|------|----------------|------|-------|----|-------------|
| rs1800869 | n | 154 | | 141 | | 0.83 | 0.36 | 0.842 | 1 | 0.582-1.219 |
| | C | 234 | 0.76 | 205 | 0.73 | | | | | |
| | G | 74 | 0.24 | 77 | 0.27 | | | | | |
| | Total | 308 | 1 | 282 | 1 | | | | | |
| rs1062677 | n | 155 | | 145 | | 0.61 | 0.43 | 1.14 | 1 | 0.82-1.585 |
| | A | 182 | 0.63 | 183 | 0.6 | | | | | |
| | C | 124 | 0.37 | 107 | 0.4 | | | | | |
| | Total | 306 | 1 | 290 | 1 | | | | | |
| rs470797 | n | 154 | | 145 | | 4.01 | 0.05 | 1.486 | 1 | 1.007-2.191 |
| | G | 227 | 0.74 | 183 | 0.81 | | | | | |
| | A | 81 | 0.26 | 55 | 0.19 | | | | | |
| | Total | 308 | 1 | 290 | 1 | | | | | |

8.7.2 Análisis de proporciones genotípicas de los SNP seleccionados

8.7.2.1 Polimorfismo rs1080869

El polimorfismo rs1080869 no mostró diferencias significativas entre las proporciones genotípicas de los grupos de casos y controles ($X^2=1.39$, $df=1$, $p=0.2389$). El genotipo más frecuente en ambos grupos fue el homocigoto del alelo ancestral (C/C), en casos con el 56.5% y en controles con el 49.6%). El grupo control se encuentra en EHW. Las frecuencias genotípicas de ambos grupos se detallan en la tabla 28.

Tabla 28. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1080869 en el gen ALDH3A2 en casos (grupo de pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles.

| Genotipos | Casos | Controles | X^2 | p | OR | CI 95% |
|--|------------|------------|-------|--------|-------|-------------|
| n | 154 | 141 | 1.39 | 0.2389 | 0.759 | 0.480-1.201 |
| C/C | 87 (56.5%) | 70 (49.6%) | | | | |
| C/G | 60 (39.0%) | 65 (46.1%) | | | | |
| G/G | 7 (4.5%) | 6 (4.3%) | | | | |
| Equilibrio de Hardy - Weinberg (EHW)($p>0.05$) | | | | | | |

8.7.2.2 Polimorfismo rs1062677

El SNP rs1062677 mostró diferencias significativas entre las proporciones genotípicas de los grupos de casos y controles ($\chi^2=1.96$, $df=1$, $p=0.16195$). El genotipo más frecuente en casos y controles fue el heterocigoto A/C con el 58.0% y el 45.1%, respectivamente. Las frecuencias genotípicas de ambos grupos pueden consultarse en la tabla 29.

Tabla 29. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1080869 en el gen ALDH3A2 en casos (pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles.

| Genotipos | Casos | Controles | χ^2 | p | OR | CI 95% |
|--|------------|------------|----------|---------|-------|------------|
| n | 145 | 144 | 1.96 | 0.16195 | 1.399 | 0.873-2.24 |
| A/A | 51 (35.2%) | 59 (41.0%) | | | | |
| A/C | 84 (58.0%) | 65 (45.1%) | | | | |
| G/G | 20 (13.8%) | 21 (13.9%) | | | | |
| Equilibrio de Hardy - Weinberg (EHW)($p>0.05$) | | | | | | |

8.7.2.3 Polimorfismo rs470797

Por último, en el análisis de proporciones de las frecuencias genotípicas entre el grupo de casos y controles para el polimorfismo rs470797, el genotipo más frecuente en casos y controles fue el homocigoto del alelo ancestral C/C. Al igual que lo observado en el análisis de proporciones de las frecuencias alélicas, se observaron diferencias significativas en las proporciones genotípicas del grupo de casos y controles ($X^2=4.06$, $df=1$, $p=0.04386$). La proporción del genotipo homocigoto del alelo ancestral C fue de 53.2% en casos y 65.2% en controles; asimismo, la proporción de heterocigotos fue mayor en casos, con 40.1%, que en controles con el 32.0%. También, la proporción genotípica de homocigoto del alelo variante fue mayor en el grupo de casos con el 6.7% sobre el 2.8% de los controles. Por último, se obtuvo la razón de momios (OR=1.616, CI 95% 1.012-2.579) del homocigoto del alelo alternativo G y el heterocigoto la cual indicó una asociación estadísticamente significativa con las enfermedades psiquiátricas que eleva el 0.616 veces el riesgo de desarrollarlas. Debido a que el grupo de casos está conformado tanto por pacientes con síndrome depresivo mayor y otras enfermedades (como trastorno obsesivo compulsivo, esquizofrenia, etc.) con y sin ideación suicida, todavía no se puede establecer una asociación específicamente con la ideación ni las conductas suicidas. La tabla 30 da más detalles al respecto del análisis realizado para este polimorfismo.

Tabla 30. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs470797 en el gen MBP en casos (pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida) y controles.

| Genotipos | Casos | Controles | X^2 | p | OR | CI 95% |
|--|------------|------------|-------|---------|-------|-------------|
| N | 154 | 141 | 4.06 | 0.04386 | 1.616 | 1.012-2.579 |
| C/C | 82 (53.2%) | 92 (65.2%) | | | | |
| C/G | 63 (40.1%) | 45 (32.0%) | | | | |
| G/G | 9 (6.7%) | 5 (2.8%) | | | | |
| Equilibrio de Hardy - Weinberg (EHW)($p>0.05$) | | | | | | |

9 Discusión

9.1 Control de calidad de las lecturas de secuenciación

El set de datos crudo con el que se hizo el análisis bioinformático para el desarrollo de este trabajo de tesis puede ser considerado de alta calidad debido a que se produjeron poco más de 23 millones de lecturas. La proporción de llamados de base de nuestras lecturas con puntajes de calidad igual o mayor a 30 coincide con lo reportado en la literatura. El autor menciona que las corridas de secuenciación en un MiSeq tienen como rendimiento entre 12-30 millones de lecturas y con al menos el 75% de los llamados de base superando el Q30 (DiStefano, 2018).

Aunque de manera global, el dataset se considera de buena calidad, se obtuvieron muestras con un bajo rendimiento, unas en cuanto al número de lecturas producidas y otras en cuanto a la calidad en los llamados de bases de las lecturas. Como se mencionó anteriormente, las muestras S10 (29,077), S55 (11,975) y S59 (13,137) tenían una cantidad de lecturas de poco más de 200,000 por debajo de la media (244,636). De acuerdo con el fabricante, el mínimo de lecturas que debe generarse a partir de una muestra es de 5 millones, sin embargo, esto depende de la aplicación que se les dará a los datos y para un llamado de variantes de línea germinal que necesita profundidades de más de 30X, dicho cantidad resulta insuficiente, ya que la detección de los alelos variantes depende de la cantidad de secuencias que mapeen en el *locus* en cuestión (McKenna *et al.*, 2010). En estas tres muestras, el 30X de profundidad solo se obtuvo en una fracción de las regiones genómicas blanco menor al 35%. Con base en lo anterior, en futuros proyectos que usen los datos de las variantes obtenidas del análisis bioinformático, cualquier descubrimiento hecho en estos sujetos deberá tomarse con precaución y ser validadas por otros métodos de secuenciación.

Un punto a favor de las variantes obtenidas en este proyecto es que fueron llamadas con un método que no utiliza únicamente las lecturas de una sola muestra para hacer un llamado de variante, sino que éste se hace tomando las lecturas de todas

las muestras de la cohorte que hay sobre un *locus* específico. A esta modalidad de hacer este análisis se le conoce como genotipificación en conjunto o 'joint-genotyping' (Poplin *et al.*, 2017). En la literatura se menciona que esta modalidad de llamado de variantes, en donde se toman en cuenta los datos de múltiples muestras simultáneamente, ayuda a compensar la baja profundidad de secuenciación en muestras individuales, con lo cual se incrementa el poder de descubrimiento. Los autores lo proponen como estrategia viable para estudios de fenotipos complejos como lo es el nuestro y actualmente se considera una buena práctica para el llamado de variantes que se utilizarán para diagnóstico clínico (Koboldt, 2020; Li *et al.*, 2011).

Adicional a las muestras ya mencionadas, se obtuvieron otras dos muestras (S39 y S71) que en cantidad de lecturas no presentaba problemas, sin embargo, al momento de mapear a la referencia menos del 33% alineaban. Revisando los archivos de salida del programa FASTQC se encontró que las lecturas tenían calidades $Q < 20$ prácticamente a lo largo de todas las secuencias. Nuestros resultados coinciden con lo descrito en la literatura en donde se menciona que la calidad de los datos es afectada por la sobreclusterización en la celda de flujo, lo que causa sobrecarga de las intensidades de la señal, produciendo una disminución de la relación intensidad base con respecto a la del fondo, provocando errores en los llamados de bases. Estos errores en las secuencias son los causantes de la baja proporción de lecturas mapeando la referencia y de la pésima profundidad de cobertura (DiStefano, 2018).

Se decidió que ninguna de las 96 muestras pasara por un proceso de recorte a pesar de la mala calidad que tienen. De acuerdo a la literatura y a la documentación del GATK, el proceso de limpieza de datos crudos es necesario solamente cuando las lecturas contienen adaptadores de secuenciación para evitar introducir artefactos en los alineamientos y obtener llamados de variante falsos positivos. En nuestros datos de secuenciación crudos no se encontraron adaptadores (DePristo *et al.*, 2011). Adicional a lo anterior, la aplicación de este paso de recorte podría

afectar la proporción de lecturas que apoya cada llamado de variante, reduciendo la profundidad de las regiones blanco. Esto afectaría principalmente a aquellas muestras con muy pocas lecturas disponibles. Asimismo, en otro artículo donde comparan los resultados entre un llamado de variantes en genomas de bacterias en los que se usó un set de lecturas procesadas y otro no procesado, se obtuvo que no hay diferencias entre los conjuntos de variantes obtenidos a partir de dichos datos (S. J. Bush, 2020).

9.2 Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia

A pesar de la mala calidad y baja cantidad de lecturas de las cinco muestras ya mencionadas, la calidad de mapeo (MQ) de las lecturas que sí alinearon con el genoma de referencia estuvo muy por encima de lo recomendado en la literatura (una MQ por encima 40 es suficiente para realizar llamados de variante confiables). Esto también se observó con las otras 91 muestras de buena calidad. Nuestros resultados coinciden con el rendimiento esperado para el programa BWA-MEM de acuerdo con este mismo autor (Zanti *et al.*, 2021). Otros autores mencionan que el parámetro MQ no es robusto ya que se ha visto que a pesar de haber mismatches o incompatibilidades en los alineamientos debido a bases de mala calidad, estos no afectan este parámetro y se siguen generando MQ de 60, por lo cual se recomienda realizar el mapeo contra la referencia con diferentes herramientas y comparar los datos de salida, incluidas las variantes que se obtengan de dichos alineamientos (Chon & Huang, 2021).

9.3 Análisis de llamado de variantes

9.3.1 Llamado de variantes y control de calidad

Comparando nuestros resultados del llamado de variantes por cohorte de las 96 muestras con los de un análisis similar usando datos de secuenciación simulados para 5,200 muestras a partir de datos de una corrida real de un panel de 11 genes sobre 26 pacientes. Nuestros resultados referentes al número de variantes crudas

(pre-filtro) no coinciden con lo obtenido por De Summa y cols. (2017), ya que estos obtuvieron cantidades similares de SNV e indels en su set de datos, mientras que en el nuestro se obtuvieron alrededor de 5 veces más SNV que indels. Sin embargo, esta diferencia en las proporciones de SNV e indels entre ambos datasets pudiese deberse a sus distintos orígenes y a la profundidad de secuenciación utilizada. Por otra parte, las proporciones de SNV e indels post-filtro reportadas por los autores son similares a las nuestras. La tasa de SNV por indels (4.976 SNV/indel) identificada coincide con lo observado en estudios de genoma completo (Auton *et al.*, 2015). Además de esto, contrasta la proporción que ellos mantuvieron de SNV posterior a la aplicación de los filtros estrictos, los cuales toman en cuenta las mismas anotaciones que nuestro proceso. Por otro lado, en nuestra investigación no se perdió una proporción tan alta de indels como la que reportan estos mismos autores.

El número de variantes aquí obtenidas pre y post-filtro (3,573 pre-filtros y 1,494 post-filtros en 165,641 pb cubiertas) difiere de lo obtenido por Sikkema-Raddatz y cols. (2013), quienes obtuvieron 21,000 variantes en 323,651 pb cubiertas por un panel de 12 genes (solo regiones codificantes) en 84 pacientes. Tal diferencia en los resultados se debe a que estos autores secuenciaron el doble de pares de bases con 8 veces más profundidad, lo que sugiere que la forma de aumentar el poder de descubrimiento de variantes es mediante el aumento de la profundidad de cobertura de secuenciación.

9.3.2 Anotación funcional

Comparando la eficiencia de anotación funcional del set de variantes completo con lo reportado en la literatura, se observó que la proporción de variantes ya conocidas está por debajo de lo reportado por varios autores. Conjuntos de variantes obtenidas de secuenciación exomas completos anotados únicamente con las bases de datos dbSNP, HapMap-3 y 1000G pueden conseguir la anotación de más del 89.89% de las variantes (DePristo *et al.*, 2011). Por otro lado, otro autor reporta que, en un estudio en pacientes con Alzheimer, sets de variantes anotados con dbSNP y ExAc

(ahora llamado GnomAD) se obtuvieron proporciones entre 58.82-59.02% (Butkiewicz *et al.*, 2018), lo cual coincide con lo observado en nuestro proceso de anotación funcional con ambas herramientas (principalmente VEP) las cuales se alimentan también de dichas bases de datos (56.10%).

Sobre la fracción de variantes novel que identificamos (43.9%), otros investigadores reportan el hallazgo de proporciones similares de variantes nuevas, Burns y cols. (2017) reporta un 34%, mientras que Butkiewicz y compañía (2018) mencionan un 38.82%. También hay reportes de investigaciones que utilizan paneles de genes en los que se han encontrado desde 48.5% hasta 90% de variantes nuevas dentro de sus sets de datos (Bush *et al.*, 2016; Lek *et al.*, 2016; Nelson *et al.*, 2012; Walter *et al.*, 2015). Aunque los porcentajes de nuevas variantes son altos, esto debería depender ampliamente del grado de estudio de los genes que se están estudiando y la cantidad de registros en las bases de datos utilizadas para hacer la anotación.

Las regiones genómicas más enriquecidas en la cohorte de suicidio y en el set de variantes global de las 96 muestras son las regiones intrónicas (30%), las 3'UTR (16.69%), las regiones río arriba (13.34%), río abajo (13.41) y las exónicas (9.22%). Mientras que las regiones menos enriquecidas son las intergénicas (1.14%), sitios de splicing (1.54%) y las 5'UTR (2.30%). Nuestros resultados coinciden con lo reportado para un set de variantes obtenido de una secuenciación de exoma completo en una enfermedad compleja, especialmente en las proporciones de variantes en las regiones intrónicas, regiones río arriba y abajo, en los sitios de splicing (donadores y aceptores) y en las regiones 5' no traducibles, pero difieren en la proporción de variantes en regiones intergénicas (8%) , 3'UTR (<1.0%) y exónicas (2%). Nuestros resultados referentes a los números de efectos por tipo según la región genómica son similares a lo reportado por este mismo autor a pesar de que las anotaciones estén hechas con VEP y las nuestras con SnpEff (Ma *et al.*, 2015). Proporciones altas de enriquecimiento en intrones se reportan incluso en recuentos de variantes raras obtenidas a partir de secuenciación de exoma dirigido en pacientes con síndrome depresivo mayor (Xu *et al.*, 2020). De igual manera, las

proporción de variantes codificantes (con cambio de sentido, sinónimas, sin sentido y sitios de splicing) identificadas en este estudio, coinciden con lo encontrado en exomas completos de poblaciones europeas y africanas (Bamshad *et al.*, 2011).

Referente a la tasa de transiciones/transversiones (Ti/Tv), en los 96 sujetos secuenciados fue de 1.971 y en la cohorte de suicidio fue de 1.7657 (la tasa de Ti/Tv más baja de las cohortes de estudio analizadas). Nuestros resultados difieren con lo reportado en la literatura, ya que para datos de secuenciación de exoma la tasa de Ti/Tv es generalmente alrededor de 3.0 y de 2.0 para regiones fuera de las regiones exónicas (Lin *et al.*, 2020). Mientras que DePristo y cols. (2011) reportan una tasa de 2.15, más cercana a lo que se obtuvo en nuestro análisis de datos. Adicional a lo anterior, la literatura menciona que esta métrica no es indispensable de reportar para datos obtenidos a partir de paneles de genes porque los resultados podrían no ser representativos de la tasa que sucede a nivel de genoma o exoma completo (Jennings *et al.*, 2017).

Resulta interesante el hecho de que esta tasa es menor que lo esperado en el grupo de suicidio, ya que esto supone que en esta cohorte las transversiones son ligeramente más frecuentes a pesar del sesgo que existe hacia las transiciones a lo largo de genomas del reino animal y al cual se ha interpretado como una consecuencia de la base bioquímica fundamental de la mutación. Este sesgo se exhibe principalmente en sitios CpG debido a que son sitios metilados (Keller, Bensasson, y Nichols, 2007). De la misma manera es importante destacar que se obtuvieron en total 125 variantes exclusivas de la cohorte de sujetos suicidas de las cuales, un tercio tiene efectos sobre regiones regulatorias como promotores, enhancers, sitios de unión a factores de transcripción y de cromatina abierta reportados por las bases de datos. Esto llama la atención porque, según la literatura, las transversiones tienen un mayor impacto sobre la expresión génica mediante la interrupción de los sitios de unión de factores de transcripción o proteínas de unión al ADN debido a que generan cambios más amplios en la forma de su estructura (Guo *et al.*, 2017).

Estas variantes, ya sean transiciones o transversiones, podrían estar afectando la expresión génica modificando sitios CpG, alterando la metilación del ADN o sitios de unión a factores de transcripción u otros elementos de respuesta. Hay reportes de estos mecanismos de regulación en el cerebro de suicidas en los que se han implicado en la patología de este fenotipo (Dwivedi, 2012; Haghghi *et al.*, 2014). Sin embargo, los resultados no son concluyentes ya que hay autores que reportan una correlación positiva del suicidio de alteraciones regulatorias y otros en los que esta correlación no ha sido detectada o sugieren el uso de tamaños de muestra más grandes (Cabrera-Mendoza *et al.*, 2020; Fiori & Turecki, 2011).

Sumado a lo anterior, la literatura menciona que estudios de genoma completo han identificado regiones top para la conducta suicida dentro de regiones regulatorias en sujetos con trastorno bipolar y comportamientos suicidas (Monson *et al.*, 2017). Al igual que en la cohorte de suicidio, en las cohortes de pacientes con trastorno bipolar y depresión mayor con ideación suicida las tasas de Ti/Tv son más bajas de lo esperado, sin embargo, solamente 3 de las 18 variantes únicas de la ideación suicida tenían una anotación de efecto regulatorio

9.3.3 Genes con mayor y menor carga de variantes

Cada uno de los 33 genes incluidos dentro del panel de secuenciación cuentan con evidencia tanto genética como de expresión en tejidos como sangre y cerebro postmortem según lo reportado por Niculescu y cols. (2013). En nuestro estudio se encontraron variantes genéticas a lo largo de estos 33 genes, sin embargo, debido a factores como la longitud, su complejidad estructural, incluso el grado de conservación debido a la importancia de su función, algunos de estos presentaron más o menos variación a nivel de secuencia. Dentro de los genes con mayor cantidad de variantes en el grupo de suicidio se encontró a *SPTBN1*, *ARHGAP26*, *MBP*, *PTK2* y *SLC4A4*.

El enriquecimiento alto o bajo de variantes (raras o comunes) en un gen no refleja el grado de asociación con un fenotipo, sin embargo, el número de variantes identificadas incrementa levemente las probabilidades de descubrimiento de un factor genético a nivel de secuencia que pueda estar involucrado con el fenotipo o enfermedad (Li & Leal, 2009). Con base en esto, la afectación podría no estar a nivel de secuencia sino a nivel de regulación, por lo tanto, la ausencia de variantes no precisa que no exista asociación entre el gen y el suicidio.

MBP está involucrado primordialmente en el neurodesarrollo, en la acumulación de materia blanca y procesos de conectividad. Su expresión se ha visto disminuida en la fase depresiva del trastorno bipolar, conduciendo a una disminución de la transmisión del potencial de acción, una posible desconexión entre las regiones del cerebro y un retraso psicomotor externo (Patel *et al.*, 2010). De acuerdo con Niculescu y cols. (2015), este gen es uno de los mejores biomarcadores para predecir el estado depresivo en el trastorno bipolar y la vulnerabilidad a trastornos psiquiátricos (como la esquizofrenia) en respuesta al estrés. Niveles incrementados de acetilación a nivel del promotor han sido observados en pacientes psiquiátricos de edad avanzada (Tang, Dean, & Thomas, 2011). *MBP* es un gen a cuyas variantes hay que prestar atención debido a su compleja estructura ya que de acuerdo a la base de datos de Ensembl es un gen que produce al menos 40 transcritos diferentes.

SPTBN1 tiene un rol crítico en el desarrollo del proceso neuronal y la formación de sinapsis inhibitorias (Cousin *et al.*, 2021). Su expresión se ha encontrado disminuida en pacientes con trastornos del estado ánimo y conductas suicidas y, además, se ha involucrado en anormalidades de la materia blanca (Le-Niculescu *et al.*, 2013). En años recientes se ha determinado como biomarcador para predecir la suicidabilidad en pacientes masculinos con trastorno bipolar (Niculescu *et al.*, 2017).

Por su parte, *SLC4A4* codifica para un cotransportador de bicarbonato de sodio involucrado en la regulación de la secreción y absorción de bicarbonato y el pH

intracelular y en el transporte de iones a través de la barrera hematoencefálica (Sweeney *et al.*, 2019). Solo una mutación sin sentido en este gen ha sido ligada con un fenotipo relacionado a afectaciones en el SNC (Igarashi *et al.*, 2001) y más reciente con la migraña, la cual es una enfermedad previamente relacionada por su background genético, con las enfermedades psiquiátricas (Gil-Perotín *et al.*, 2021). Recientemente, Niculescu y colaboradores (2017) confirmaron a este gen como un predictor de desarrollo de conductas suicidas y futuras hospitalizaciones por intentos de suicidio.

Por último el gen *ARHGAP26* se ha observado con una expresión incrementada en pacientes con conductas suicidas (Le-Niculescu *et al.*, 2013) y se ha involucrado en la ataxia cerebelosa y pacientes psicóticos (Jarius *et al.*, 2015). Hay evidencia limitada acerca de este gen en relación con el suicidio y los trastornos psiquiátricos.

El gen *PTK2* es un miembro de la subfamilia de proteína tirosina quinasas de la quinasa de adhesión focal 47 y tiene la capacidad de combinar la estructura del dominio citoplásmico de los receptores de citocinas de tipo I / II y luego transferir las señales de las citocinas a través de las subunidades del receptor de fosforilación. Se ha propuesto como marcador neuroquímico para depresión mayor en cerebro postmortem, ya que se ha encontrado regulado a la alta en la región del cuerpo estriado cerebral de pacientes con diagnóstico de depresión mayor (Gao *et al.*, 2015).

Los antecedentes mencionados para los genes que presentaron alta variación, a excepción de *ARHGAP26*, sustentan nuestros resultados pues dejan en claro que existe una posible relación genética de estos con el suicidio, ya sea porque tales genes tienen funciones en el neurodesarrollo o el correcto funcionamiento del SNC, o bien, porque hay evidencia de factores genéticos que se han asociado con trastornos psiquiátricos los cuales están íntimamente ligados con el suicidio y la conducta suicida.

Dos de los genes con menor número de variantes en la cohorte de suicidio son *CD24* y *SAT1*, los cuales son los genes con la mayor información funcional convergente de acuerdo con lo reportado con Niculescu y compañía (2013). En otros estudios de los mismos autores, estos mencionan que *SAT1*, *IL6* (gen dentro de los 5 con menor cantidad de variantes) y *FOXN3* (gen dentro de los 5 con mayor número de variantes) no son biomarcadores específicos para suicidio, sino que también pueden ser biomarcadores para predecir el riesgo a padecer un trastorno mental por su rol en la regulación de la respuesta al estrés (Niculescu *et al.*, 2015). Por otra parte, en el mismo estudio, *CD24*, aunque cuenta con evidencia previa de estar involucrado con la suicidabilidad, se menciona que éste no cumplió los criterios para ser tomado en cuenta como un biomarcador de dicho fenotipo.

Por último, en la literatura se menciona que *APOE* tiene mecanismos complejos de regulación transcripcional lo cual coincide con nuestros resultados en los que se observa que las afectaciones no están a nivel de secuencia sino en las redes de regulación transcripcional en las que está involucrado este gen. Asimismo, este autor menciona que se han hallado polimorfismos en este gen en sitios CpG dentro del exon 4 los cuales tienen una actividad potenciadora de la transcripción. Dichos sitios se han encontrado hipermetilados en linfocitos y cerebros postmortem en pacientes con enfermedad de Alzheimer (Forero *et al.*, 2018).

9.3.4 Variantes categorizadas por frecuencias alélicas e impacto funcional

La categorización de variantes por frecuencia alélica e impacto funcional fue relevante para saber qué proporción de nuestro conjunto de datos tenía la mayor probabilidad de estar asociado con el genotipo, puesto que, según la literatura, las variantes disruptivas raras tienen una relativa alta penetrancia que contribuye al componente genético de enfermedades comunes y que estas representan un porcentaje substancial de la heredabilidad no determinada en fenotipos y enfermedades complejas (Rhoades, Jackson, y Teng, 2019). La variación común solo determina el 30% de la heredabilidad de estas enfermedades. Existe evidencia

de una convergencia de la actividad de variantes genéticas comunes y raras en la regulación a la baja de la función sináptica en el autismo y la esquizofrenia (Gandal *et al.*, 2018)

Comparando nuestros resultados de esta categorización contra lo encontrado en la secuenciación de exoma completo en pacientes de Alzheimer, la proporción de variantes raras y poco comunes que estos autores obtuvieron (1.30%) difiere con la nuestra según las bases de datos de los 1000G y GnomAD, 10.91-18.94%, respectivamente (Butkiewicz *et al.*, 2018). Esta diferencia entre ambos estudios podría ser debido a las diferencias entre profundidades utilizadas en la secuenciación. Estos autores mencionan que utilizaron datos con pobre profundidad para hacer el llamado de variantes lo cual lo hace más susceptible a obtener variantes falsas positivas. Por otra lado, en un proyecto de secuenciación de 14,002 individuos utilizando un panel de genes que comprendía 202 genes blanco para fármacos (864 kb cubiertas) con una profundidad de 27X reportan que el 94% de las variantes identificadas eran raras (Nelson *et al.*, 2012).

En la cohorte de suicidio, el gen con mayor carga de variantes raras fue el gen *SPTBN1* según la base de datos de los 1000G y *RECK* según la base de datos de exomas de GnomAD. En el grupo de ideación suicida fue *SPTBN1* (1000G) y *MBP* (GnomAD). De acuerdo con Rosenfeld y cols (2021), *SPTBN1* es un gen intolerante a variantes disruptoras, las cuales son generalmente raras. En coincidencia con lo anterior, las variantes identificadas en nuestro estudio son variantes con efectos sobre los intrones y regiones 3'UTR. Aún así, existen antecedentes de mutaciones en *SPTBN1* que se han ligado con discapacidad intelectual, afectaciones en el neurodesarrollo y autismo, estos dos primeros fenotipos han sido ligados ampliamente con el suicidio y la conducta suicida (Cousin *et al.*, 2021; Rosenfeld *et al.*, 2021). Por su parte, en el gen *RECK* también se han encontrado variantes raras contribuyendo a fenotipos complejos como el del cáncer y el de la enfermedad de las arterias coronarias (Shivakumar *et al.*, 2019; Vancheri *et al.*, 2021). Para *MBP* no hay reportes de variantes raras afectando la función de este gen.

Respecto al recuento de variantes con impacto funcional predicho por SIFT/PolyPhen y CADD, nuestros resultados coinciden con los reportados por la literatura en un estudio de exoma completo en 280 pacientes con cáncer de próstata en el que se identificaron 150,787 variantes. Aquí se menciona que de ese total de variantes solo 3.2% de ellas son variantes con potencial dañino o deletéreo, mientras que en nuestro set de datos se obtuvo un 2.5% correspondiente a esta clase de variantes. La proporción de variantes dañinas obtenidas por puntaje de CADD difiere por un margen considerable con lo encontrado por este mismo autor, quien reporta que 25% de todas las variantes tenían este impacto sobre la función del producto (Mijuskovic *et al.*, 2018).

Con respecto al conjunto de variantes exclusivas de la cohorte de suicidio consumado, de acuerdo con la base de datos, al menos 20 variantes de las 125 se han asociado a fenotipos ligados a afectaciones en el SNC. Entre estos están la macrocefalia, el autismo, discapacidad intelectual, arteriopatía cerebral subcortical, neuropatía axonal, enfermedad de Alzheimer y retraso mental (Hamilton *et al.*, 2006; Schiffer *et al.*, 2011; Yamazaki *et al.*, 2021; M. Yuan *et al.*, 2012). Las variantes exclusivas de la cohorte de ideación suicida han sido asociadas a malformaciones arteriovenosas cerebrales y a otros fenotipos similares a los mencionados previamente.

9.4 Polimorfismos seleccionados para su evaluación mediante qPCR en pacientes con síndrome depresivo mayor.

Como ya se mencionó antes, los polimorfismos cumplen con los criterios de selección establecidos en la metodología. Dos de ellos, los SNP rs470797 (*MBP*) y rs1062677 (*SLC4A4*) tienen reporte de estar asociados con alteraciones en el volumen cerebral y con el retraso mental, respectivamente (Demirci *et al.*, 2006; van der Meer *et al.*, 2020). Estos fenotipos han sido ligados previamente no solo con el desarrollo de enfermedades psiquiátricas sino también con el suicidio.

El polimorfismo del gen *ALDH3A2* rs1080869 no se asoció previamente con otro fenotipo, sin embargo, la literatura menciona que los genes de la familia *ALDH* están enriquecidos de variantes raras en sujetos que han intentado el suicidio, lo que lo resulta interesante por la estrecha relación entre el consumo de alcohol y la conducta suicida (Inskip, Harris, & Barraclough, 1998; Monson *et al.*, 2016).

9.4.1 Análisis de las frecuencias alélicas, genotípicas, Odds ratio (OR) y equilibrio de Hardy-Weinberg de los SNP seleccionados.

En cuanto a los análisis de proporciones alélicas y genotípicas de los tres polimorfismos evaluados, para los polimorfismos rs1062677 y rs1080869 no se encontraron diferencias significativas entre las proporciones alélicas, ni genotípicas de casos de pacientes psiquiátricos y controles sanos. No hay estudios de casos y controles en polimorfismos específicamente en el gen *ALDH3A2*, sin embargo, la familia *ALDH* ha sido ampliamente estudiada por la relación alcoholismo-suicidio, siendo los trastornos por consumo de sustancias un factor de riesgo de suicidio. En una población asiática conformada por 575 casos y 530 controles se evaluaron 5 polimorfismos en el gen *ALDH2* de los cuales, ninguno mostró diferencias significativas entre las proporciones genotípicas de casos y controles, ni analizados individualmente ni en haplotipos (Kuo *et al.*, 2008). Lo anterior coincide con nuestros resultados. Contrario a esto, el polimorfismo rs671 en el gen *ALDH2* fue asociado

significativamente con la dependencia y abuso del de alcohol en una población asiática conformada por 9,678 casos y 7,331 controles (Li, Zhao, & Gelernter, 2012).

En nuestro estudio el polimorfismo rs1062677 en el gen *SLC4A4* tampoco mostró asociación significativa con los trastornos psiquiátricos. Sin embargo, Niculescu y colaboradores (2015) lo propusieron en el pasado como el mejor biomarcador predictor de ideación suicida en pacientes con diagnóstico de alguna enfermedad psiquiátrica. Este acarreador de solutos está involucrado en la regulación del pH en el espacio extracelular en el cerebro. Desbalances en el pH del cerebro ha sido implicado en la patofisiología de los ataques de pánico agudo, un tipo de trastorno psiquiátrico derivado de la ansiedad. Otros genes codificantes de acarreadores de solutos de la familia SLC han sido asociados a trastornos psiquiátricos. Un ejemplo es *SLC1A1* el cual transporta al glutamato del espacio sináptico hasta las terminales presinápticas. En este gen se evaluaron tanto haplotipos como polimorfismos individuales. El SNP rs2228622, similar al nuestro, tiene un impacto funcional en la proteína y una frecuencia poblacional alta (MAF=40%). Los autores reportan que alelo alternativo se encontró en una mayor proporción en los casos que en controles exhibiendo una diferencia estadísticamente significativa (Stewart *et al.*, 2007). Esto no coincide con lo encontrado en nuestro estudio. Otros acarreadores de soluto como *SLC6A4* (polimorfismo 5-HTTLPR y rs16965628) han sido asociados con conductas suicidas en estudios de casos y controles (Clayden *et al.*, 2012).

Con respecto a estos dos polimorfismos es necesario evaluarlos en una población con suficiente poder estadístico de pacientes diagnosticados con síndrome depresivo mayor e ideación suicida para así determinar realmente su asociación con las conductas suicidas y no solamente con trastornos mentales.

Finalmente, se evaluó el polimorfismo rs470797 del gen *MBP* en los grupos de casos y controles y se encontró que había una diferencia notable en las frecuencias alélicas. El alelo variante A estaba mayormente representado en el grupo de casos que en el de controles, mientras que el genotipo heterocigoto y el homocigoto del

alelo variante A se encontraron en mayor proporción en el grupo de casos que en controles con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.04386$). Además, se obtuvo una razón de momios que indica que el genotipo heterocigoto eleva de manera estadísticamente significativa el riesgo de padecer una enfermedad psiquiátrica con un $OR= 1.616$ (CI 95% 1.012-2.579). Niculescu y colaboradores reportaron a *MBP*, junto a otros 5 genes involucrados en la mielinización, como uno de los biomarcadores con mayor información convergente y con valor predictivo de la conducta suicida y el suicidio consumado en distintos trastornos psiquiátricos y principalmente en pacientes bipolares tanto en estado depresivo, como psicótico (Le-Niculescu *et al.*, 2009; Niculescu *et al.*, 2015; Patel *et al.*, 2010). No hay estudios de polimorfismos individuales en este gen para trastornos psiquiátricos, pero sí se ha investigado su asociación con otras enfermedades complejas. Williamson y colaboradores (2013) reportaron cuatro polimorfismos, uno de ellos con impacto funcional (rs9676113) que mostró una asociación significativa con un fenotipo complejo, lo cual coincide con lo obtenido en este trabajo de tesis. En otro estudio de casos y control sobre el gen *MAG*, también involucrado en la mielinización, se encontraron dos polimorfismos localizados en los intrones del gen, asociados con la esquizofrenia (Wan *et al.*, 2005). El rs720309 muestra proporciones genotípicas similares a las encontrada en nuestro estudio, en donde los genotipos homocigoto del alelo variante y el heterocigoto están en una mayor proporción en casos, que en controles con una diferencia estadísticamente significativa ($X^2=14.58$, $df=2$, $p=0.0008$). Sin embargo, esta diferencia no se observa en las frecuencias alélicas. El rs720308, otro polimorfismo en este mismo gen, muestra diferencias significativas entre las proporciones genotípicas ($X^2=6.424$, $df=2$, $p=0.0401$) y frecuencias alélicas ($X^2=6.211$, $df=1$, $p=0.013$) de casos y controles, lo cual coincide con nuestros resultados. Aquí, el genotipo heterocigoto y homocigoto para el alelo variante se encontraban en mayor proporción en casos que en controles y esta misma diferencia significativa se observaba en las frecuencias alélicas. El genotipo homocigoto del alelo variante del SNP rs720308 ($OR= 1.42$, CI 95%= 1.06-1.91) y los genotipos heterocigoto y homocigoto del alelo variante del SNP rs720309

(OR=1.54, CI 95%=1.17-2.04) elevan el riesgo de esquizofrenia, lo cual coincide con lo encontrado en nuestros análisis.

Estos antecedentes respaldan que la mielinización juega un papel importante en el correcto funcionamiento del SNC y que alteraciones a nivel genético tienen un impacto considerable que contribuye a la aparición de enfermedades mentales, sin embargo, para poder corroborar su papel también en el desarrollo de ideación suicida en pacientes únicamente con síndrome depresivo mayor es importante evaluar este polimorfismo en una cohorte de pacientes exclusivamente con trastorno bipolar o depresión mayor con conductas suicidas e incluso, en una cohorte de suicidio consumado.

10 Conclusiones

1.-Se obtuvo un set de lecturas crudas con una buena calidad global (Q30=88.81%) que no requirieron pasos de limpieza adicionales.

2.-Se realizó el mapeo del 93.47% de las lecturas crudas contra el genoma de referencia con una calidad promedio de 59.83.

3.- En el grupo de sujetos que consumaron el suicidio, se identificó el menor número de variantes genómicas en los genes *SAT1*, *CD24* y *APOE*.

4.- En el grupo de sujetos que consumaron el suicidio, los genes que presentaron mayor enriquecimiento de variantes genómicas fueron *SPTBN1*, *ARHGAP26* y *MBP*.

5.- Una tercera parte de las variantes exclusivas del grupo de suicidio y de los pacientes con ideación suicida tienen efectos en regiones regulatorias sugiriendo un papel importante de éstas en la modulación de la expresión de los genes candidatos estudiados.

6.- Para el SNP rs470797 del gen *MBP*, el alelo variante A se encontró asociado a los trastornos mentales en pacientes psiquiátricos con y sin ideación suicida.

7.- Los polimorfismos rs1080869 (*ALDH3A2*) y rs1062677 (*SLC4A4*) no mostraron asociación con los trastornos psiquiátricos ni con la ideación suicida.

8- Para el polimorfismo rs470797 del gen *MBP*, se encontró asociación significativa de los genotipos homocigoto del alelo variante A y heterocigoto con las enfermedades psiquiátricas. Estos genotipos elevan el riesgo 0.616 veces a desarrollarlas para los portadores en comparación con la población general.

11 Perspectivas

Se necesita realizar el curado de la lista de variantes de manera manual para tomar aquellas que tengan mayor potencial de asociación al suicidio con base en su contexto genómico y poder así evaluarlas en pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida, pero se debe desarrollar un método de priorización que nos ayude a seleccionar de entre los cientos de variantes genómicas identificadas a aquellas con mayor potencial biomarcador del riesgo suicida con base en las proporciones genotípicas y frecuencias alélicas . Asimismo, estas variantes se deberán validar funcionalmente para investigar sus mecanismos de regulación y su participación en el fenotipo.

Por otro lado, se realizará la validación de las variantes noveles mediante secuenciación Sanger, así como de las variantes con potencial asociación que resulten de los análisis estadísticos.

Se realizarán análisis enfocados en la carga de variantes raras para observar si existen loci asociados con el suicidio y a las conductas suicidas. También, se realizará un análisis de haplotipos a partir de los datos contenidos en los formatos de llamado de variantes.

Por último, es necesario evaluar los polimorfismos rs1080869, rs1062677 y rs470797 en muestras de suicidio consumado para así determinar si son útiles en la predicción de pacientes que pudiesen intentar o consumir el suicidio.

12 Referencias

1. Adzhubei, I. A., Schmidt, S., Peshkin, L., Ramensky, V. E., Gerasimova, A., Bork, P., ... Sunyaev, S. R. (2010). A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature Methods*, 7(4), 248–249.
<https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248>
2. Alec-Roy, M. B. (1983). Family History of Suicide. *Archives of General Psychiatry*, 40(Sept 1983), 971–974.
3. Álvarez, A. M., Atienza, M. G., Canedo, M. C., Castro, B. M., Combarro, M. J., De las Heras, L. E., & Maceira, R. M. C. (2012). *Guía de práctica clínica de prevención y tratamiento de la conducta suicida* (2012th ed.; avalia-t. C. de S. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia, ed.).
4. Andrews, S. (2015). *FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]*. Retrieved from
<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
5. Ansel, F. M. (2003). *Current Protocols in Molecular Biology (Current Protocols)*. New York, NY: Brooklyn, NY and Wiley and Sons--Interscience.
6. Apisquían, R., Fresán, A., & Nicolini, H. (2000). *Evaluación de la psicopatología: Escalas en español* (1st editio). CDMX: Ciencia y cultura Latinoamérica S.A. de C.V.
7. Auton, A., Abecasis, G. R., Altshuler, D. M., Durbin, R. M., Bentley, D. R., Chakravarti, A., ... Schloss, J. A. (2015, September 30). A global reference for human genetic variation. *Nature*, Vol. 526, pp. 68–74.
<https://doi.org/10.1038/nature15393>
8. Bamshad, M. J., Ng, S. B., Bigham, A. W., Tabor, H. K., Emond, M. J., Nickerson, D. A., & Shendure, J. (2011). Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nature Reviews Genetics*, 12(11), 745–755. <https://doi.org/10.1038/nrg3031>
9. Bobes, J., Giner, J., & Sainz, J. (2011). Suicidio y psiquiatría. In *España - Sociedad Española de Psiquiatría*. Retrieved from
http://www.fepsm.org/files/publicaciones/Suicidio_y_Psiquiatría-Texto.pdf

10. Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, *30*(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
11. Bondy, B., Buettner, A., & Zill, P. (2006). Genetics of suicide. *Molecular Psychiatry*, *11*, 336–351. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001803>
12. Borrego-Soto, G., Costilla-Esquivel, A., Padilla-Rivas, G. R., Cázares-Samaniego, P. J., Posadas-Valay, R., Velasco-Castañón, J. G., ... Rojas-Martínez, A. (2015). Análisis de frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes CYP2A6*12 y rs16969968 de CHRNA5 y su asociación con el hábito de fumar y el índice de masa corporal (IMC) en sujetos jóvenes del noreste de México. *Revista Medica de Chile*, *143*(11), 1377–1385. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872015001100002>
13. Brent, D. A., Bridge, J., Barbara, A., Johnson, M. D., & Connolly, J. (1996). Suicidal Behavior Runs in Families: A Controlled Family Study of Adolescent Suicide Victims. *Archives of General Psychiatry*, *53*(December), 1145–1152.
14. Burns, C., Bagnall, R. D., Lam, L., Semsarian, C., & Ingles, J. (2017). Multiple Gene Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy in the Era of Next-Generation Sequencing. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, *10*(4). <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001666>
15. Bush, S. J. (2020). Read trimming has minimal effect on bacterial SNP-calling accuracy. *Microbial Genomics*, *6*(12), 1–13. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000434>
16. Bush, W. S., Crosslin, D. R., Owusu-Obeng, A., Wallace, J., Almoguera, B., Basford, M. A., ... Ritchie, M. D. (2016). Genetic variation among 82 pharmacogenes: The PGRNseq data from the eMERGE network. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *100*(2), 160–169. <https://doi.org/10.1002/cpt.350>
17. Butkiewicz, M., Blue, E. E., Leung, Y. Y., Jian, X., Marcora, E., Renton, A. E., ... Bush, W. S. (2018). Functional annotation of genomic variants in studies of late-onset Alzheimer's disease. *Bioinformatics*, *34*(16), 2724–

2731. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty177>
18. Cabrera-Mendoza, B., Fresno, C., Monroy-Jaramillo, N., Fries, G. R., Walss-Bass, C., Glahn, D. C., ... Nicolini, H. (2020). Sex differences in brain gene expression among suicide completers. *Journal of Affective Disorders*, 267, 67–77. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.01.167>
 19. Chen, D., Chen, M., Altmann, T., & Klukas, C. (2014). Bridging Genomics and Phenomics. In *Approaches in Integrative Bioinformatics: Towards the Virtual Cell* (pp. 1–386). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-41281-3>
 20. Chon, A., & Huang, X. (2021). SRAMM: Short Read Alignment Mapping Metrics. *International Journal on Bioinformatics & Biosciences*, 11(02), 01–07. <https://doi.org/10.5121/ijbb.2021.11201>
 21. Cingolani, P., Platts, A., Wang, L. L., Coon, M., Nguyen, T., Wang, L., ... Ruden, D. M. (2012). A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly*, 6(2), 80–92. <https://doi.org/10.4161/fly.19695>
 22. Clayden, R. C., Zaruk, A., Meyre, D., Thabane, L., & Samaan, Z. (2012). The association of attempted suicide with genetic variants in the SLC6A4 and TPH genes depends on the definition of suicidal behavior: a systematic review and meta-analysis. *Translational Psychiatry*, Vol. 2. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.96>
 23. Conner, K. R., Duberstein, P. R., Conwell, Y., Seidlitz, L., & Caine, E. D. (2001). Psychological Vulnerability to Completed Suicide : A Review of Empirical Studies. *Suicide and Life-Threatening Behavior*, 31(4), 367–385.
 24. Courtet, P. (2017). Understanding suicide: From Diagnosis to Personalized Treatment. In *Springer* (Vol. 36). https://doi.org/10.1300/J004v21n02_04
 25. Cousin, M. A., Creighton, B. A., Breau, K. A., Spillmann, R. C., Torti, E., Dontu, S., ... Lorenzo, D. N. (2021). Pathogenic SPTBN1 variants cause an autosomal dominant neurodevelopmental syndrome. *Nature Genetics*, 53(7), 1006–1021. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00886-z>
 26. De Summa, S., Malerba, G., Pinto, R., Mori, A., Mijatovic, V., & Tommasi, S.

- (2017). GATK hard filtering: Tunable parameters to improve variant calling for next generation sequencing targeted gene panel data. *BMC Bioinformatics*, 18. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1537-8>
27. Demirci, F. Y. K., Chang, M.-H., Mah, T. S., Romero, M. F., & Gorin, M. B. (2006). Proximal renal tubular acidosis and ocular pathology: a novel missense mutation in the gene (SLC4A4) for sodium bicarbonate cotransporter protein (NBCe1). *Molecular Vision*, 12(35–36), 324–330.
28. DePristo, M. ., Banks, E., Poplin, R., Garimella, K. V., Maguire, J. R., Hartl, C., ... Daly, M. J. (2011). A framework for variation discovery and genotyping using next- generation DNA sequencing data M.A. *Nat Genet.*, 43(5), 491–498. <https://doi.org/10.1038/ng.806.A>
29. Diekstra, R. F. W., & Egrnond, M. Van. (1989). Suicide and attempted suicide in general practice , 1979-1986. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 79, 268–275.
30. DiStefano, J. K. (2018). Disease Gene Identification: Method and Protocols. In J. M. Walker (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (2nd Editio, Vol. 1706, pp. 223–232). <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7471-9>
31. Duns, G., Hofstra, R. M. W., Sietzema, J. G., Hollema, H., van Duivenbode, I., Kuik, A., ... Kok, K. (2012). Targeted exome sequencing in clear cell renal cell carcinoma tumors suggests aberrant chromatin regulation as a crucial step in ccRCC development. *Human Mutation*, 33(7), 1059–1062. <https://doi.org/10.1002/humu.22090>
32. Dwivedi, Y. (2012). The Neurobiological Basis of Suicide. In S. A. Simon (Ed.), *The Neurobiological Basis of Suicide*. <https://doi.org/10.1201/b12215>
33. Fiori, L. M., & Turecki, G. (2011). Epigenetic regulation of spermidine/spermine N1-acetyltransferase (SAT1) in Suicide. *Journal of Psychiatric Research*, 45(9), 1229–1235. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.03.015>
34. Forero, D. A., López-León, S., González-Giraldo, Y., Dries, D. R., Pereira-Morales, A. J., Jiménez, K. M., & Franco-Restrepo, J. E. (2018, March 1).

- APOE gene and neuropsychiatric disorders and endophenotypes: A comprehensive review. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, Vol. 177, pp. 126–142.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32516>
35. Fu, Q., Heath, A. C., Bucholz, K. K., Nelson, E. C., Glowinski, A. L., Goldberg, J., ... Eisen, S. A. (2002). A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men. *Psychological Medicine*, 32, 11–24. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S0033291701004846>
36. Gandal, M. J., Haney, J. R., Parikshak, N. N., Leppa, V., Ramaswami, G., Hartl, C., ... Liu, C. (2018). *Shared molecular neuropathology across major psychiatric disorders parallels polygenic overlap*. 697(February), 693–697.
37. Gao, L., Gao, Y., Xu, E., & Xie, J. (2015). Microarray analysis of the major depressive disorder mRNA profile data. *Psychiatry Investigation*, 12(3), 388–396. <https://doi.org/10.4306/pi.2015.12.3.388>
38. Gil-Perotín, S., Jaijo, T., Verdú, A. G., Rubio, P., Mazón, M., Gasqué-Rubio, R., & Díaz, S. (2021). Epilepsy, status epilepticus, and hemiplegic migraine coexisting with a novel SLC4A4 mutation. *Neurological Sciences*, 42(9), 3647–3654. <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04961-x>
39. Goñi-Sarriés, A., Blanco, M., Azcárate, L., Peinado, R., & López-Goñi, J. J. (2018). Are previous suicide attempts a risk factor for completed suicide? *Psicothema*, 30(1), 33–38. <https://doi.org/10.7334/psicothema2016.318>
40. Guest, P. C. (2019). *Reviews on Biomarker Studies in Psychiatric and Neurodegenerative Disorders* (Vol. 1118; D. Martins-de-Souza, Ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-030-05542-4>
41. Guintivano, J., Brown, T., Newcomer, A., Jones, M., Cox, O., Maher, B. S., ... Kaminsky, Z. A. (2014). Identification and replication of a combined epigenetic and genetic biomarker predicting suicide and suicidal behaviors. *American Journal of Psychiatry*, 171(12), 1287–1296.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2014.14010008>
42. Guo, C., McDowell, I. C., Nodzenski, M., Scholtens, D. M., Allen, A. S., Lowe, W. L., & Reddy, T. E. (2017). Transversions have larger regulatory

- effects than transitions. *BMC Genomics*, 18(1), 1.
<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3785-4>
43. Haghghi, F., Xin, Y., Chanrion, B., O'donnell, A. H., Ge, Y., Dwork, A. J., ... Mann, ; J John. (2014). Increased DNA methylation in the suicide brain. In *Dialogues Clin Neurosci* (Vol. 16). Retrieved from www.dialogues-cns.org
44. Hamilton, G., Samedi, F., Knight, J., Archer, N., Foy, C., Walter, S., ... Powell, J. F. (2006). Polymorphisms in the phosphate and tensin homolog gene are not associated with late-onset Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 401(1–2), 77–80. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.03.021>
45. Helyar, S. J., Hemmer-Hansen, J., Bekkevold, D., Taylor, M. I., Ogden, R., Limborg, M. T., ... Nielsen, E. E. (2011). Application of SNPs for population genetics of nonmodel organisms: New opportunities and challenges. *Molecular Ecology Resources*, 11(SUPPL. 1), 123–136.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02943.x>
46. Hidalgo-Rasmussen, C., & Hidalgo-San Martín, A. (2009). Suicidal-related behaviors and quality of life according to gender in adolescent Mexican high school students. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 15(4), 46–54. <https://doi.org/10.1590/1413-812320152011.18692014>
47. Hughes, S. L., & Neimeyer, R. A. (2007). Cognitive predictors of suicide risk among hospitalized psychiatric patients : A prospective study. *Death Studies*, 17(2), 103–124. <https://doi.org/10.1080/07481189308252609>
48. Igarashi, T., Inatomi, J., Sekine, T., Seki, G., Shimadzu, M., Tozawa, F., ... Endou, H. (2001). *Novel Nonsense Mutation in the Na /HCO 3 Cotransporter Gene (SLC4A4) in a Patient with Permanent Isolated Proximal Renal Tubular Acidosis and Bilateral Glaucoma.*
49. INEGI. (2017). Estadística a propósito del día mundial para la prevención del suicidio. *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*, 1–9.
<https://doi.org/10.1787/factbook-2014-99-en>
50. Inskip, H. M., Harris, E. C., & Barraclough, B. (1998). Lifetime risk of suicide for affective disorder, alcoholism and schizophrenia. *British Journal of Psychiatry*, 172(JAN.), 35–37. <https://doi.org/10.1192/bjp.172.1.35>

51. Jacobs, D. G., Baldessarini, R. J., Conwell, Y., Fawcett, J. A., Horton, L., Meltzer, H., ... Simon, R. I. (2010). Practice Guideline For The Assessment and Treatment of Patients With Suicidal Behaviors. In *American Psychiatric Association*.
52. Jarius, S., Wildemann, B., Stöcker, W., Moser, A., & Wandinger, K. P. (2015). Psychotic syndrome associated with anti-Ca/ARHGAP26 and voltage-gated potassium channel antibodies. *Journal of Neuroimmunology*, 286, 79–82. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.07.009>
53. Jennings, L. J., Arcila, M. E., Corless, C., Kamel-Reid, S., Lubin, I. M., Pfeifer, J., ... Nikiforova, M. N. (2017, May 1). Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing–Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 19, pp. 341–365. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.01.011>
54. Kato, T. (2015). Whole genome/exome sequencing in mood and psychotic disorders. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 69(2), 65–76. <https://doi.org/10.1111/pcn.12247>
55. Keller, I., Bensasson, D., & Nichols, R. A. (2007). Transition-transversion bias is not universal: A counter example from grasshopper pseudogenes. *PLoS Genetics*, 3(2), 0185–0191. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030022>
56. Kim, C. D., Seguin, M., Therrien, N., Riopel, G., Chawky, N., Lesage, A. D., ... Turecki, G. (2005). *Familial Aggregation of Suicidal Behavior: A Family Study of Male Suicide Completers From the General Population*. 162(May), 1017–1019.
57. Koboldt, D. C. (2020, December 1). Best practices for variant calling in clinical sequencing. *Genome Medicine*, Vol. 12. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00791-w>
58. Kumar, P., Henikoff, S., & Ng, P. C. (2009). Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature Protocols*, 4(7), 1073–1082. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.86>

59. Kuo, P. H., Kalsi, G., Prescott, C. A., Hodgkinson, C. A., Goldman, D., Van Den Oord, E. J., ... Riley, B. P. (2008). Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of alcohol dependence (IASPSAD) Sample. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(5), 785–795. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00642.x>
60. Le-Niculescu, H., Kurian, S. M., Yehyawi, N., Dike, C., Patel, S. D., Edenberg, H. J., ... Niculescu, a B. (2009). Identifying blood biomarkers for mood disorders using convergent functional genomics. *Molecular Psychiatry*, 14(2), 156–174. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.73>
61. Le-Niculescu, H., Levey, D. F., Ayalew, M., Palmer, L., Gavrin, L. M., Jain, N., ... Niculescu, A. (2013). Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality. *Molecular Psychiatry*, 18(12), 1249–1264. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.95>
62. Lek, M., Karczewski, K. J., Minikel, E. V., Samocha, K. E., Banks, E., Fennell, T., ... Williams, A. L. (2016). Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*, 536(7616), 285–291. <https://doi.org/10.1038/nature19057>
63. Li, B., & Leal, S. M. (2009). Discovery of rare variants via sequencing: Implications for the design of complex trait association studies. *PLoS Genetics*, 5(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000481>
64. Li, D., Zhao, H., & Gelernter, J. (2012). Strong protective effect of the aldehyde dehydrogenase gene (ALDH2) 504lys (*2) allele against alcoholism and alcohol-induced medical diseases in Asians. *Human Genetics*, 131(5), 725–737. <https://doi.org/10.1007/s00439-011-1116-4>
65. Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14), 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>
66. Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., ... Durbin, R. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078–2079.

- <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
67. Li, Y., Sidore, C., Kang, H. M., Boehnke, M., & Abecasis, G. R. (2011). Low-coverage sequencing: Implications for design of complex trait association studies. *Genome Research*, *21*(6), 940–951.
<https://doi.org/10.1101/gr.117259.110>
68. Lieb, R., Ph, D., Bronisch, T., Höfler, M., Schreier, A., Wittchen, H., & Ph, D. (2005). Maternal Suicidality and Risk of Suicidality in Offspring : Findings From a Community Study. *American Journal of Psychiatry*, *164*(September), 1665–1671.
69. Lin, H., Wang, F., Rosato, A. J., Farrer, L. A., & David, C. (2020). Prefrontal cortex eQTLs / mQTLs enriched in genetic variants associated with alcohol use disorder and other diseases. *Epigenomics*, *12*(9).
<https://doi.org/https://doi.org/10.2217/epi-2019-0270>
70. Lonigro, R. J., Grasso, C. S., Robinson, D. R., Jing, X., Wu, Y. M., Cao, X., ... Chinnaiyan, A. M. (2011). Detection of somatic copy number alterations in cancer using targeted exome capture sequencing. *Neoplasia*, *13*(11), 1019–1025. <https://doi.org/10.1593/neo.111252>
71. Lubotsky, B., & Ardis, L. (2020). Foundations of Behavioral Health. In B. Lubotsky & L. Ardis (Eds.), *Foundations of Behavioral Health*.
<https://doi.org/10.1007/978-3-030-18435-3>
72. Ma, M., Ru, Y., Chuang, L. S., Hsu, N. Y., Shi, L. S., Hakenberg, J., ... Chen, R. (2015). Disease-associated variants in different categories of disease located in distinct regulatory elements. *BMC Genomics*, *16*(8), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S8-S3>
73. McGuffin, P., Maruši, A., & Farmer, A. (2001). What Can Psychiatric Genetics Offer Suicidology ? *Crisis Intervention and Suicide Prevention*, *22*(2), 61–65.
74. McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytzky, A., ... DePristo, M. A. (2010). The genome analysis toolkit: A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research*, *20*(9), 1297–1303.

<https://doi.org/10.1101/gr.107524.110>

75. McLaren, W., Gil, L., Hunt, S. E., Riat, H. S., Ritchie, G. R. S., Thormann, A., ... Cunningham, F. (2016). The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biology*, 17(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0974-4>
76. Mijuskovic, M., Saunders, E. J., Leongamornlert, D. A., Wakerell, S., Whitmore, I., Dadaev, T., ... Kote-Jarai, Z. (2018). Rare germline variants in DNA repair genes and the angiogenesis pathway predispose prostate cancer patients to develop metastatic disease. *British Journal of Cancer*, 119(1), 96–104. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0141-7>
77. Monson, E. T., Klerk, K. De, Gaynor, S. C., Wagner, A. H., Breen, M. E., Parsons, M., ... Willour, V. L. (2016). Whole-Gene Sequencing Investigation of SAT1 in Attempted Suicide. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 1–8. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32462>
78. Monson, E. T., Pirooznia, M., Parla, J., Kramer, M., Goes, F. S., Gaine, M. E., ... Willour, V. L. (2017). Assessment of Whole-Exome Sequence Data in Attempted Suicide within a Bipolar Disorder Cohort. *Molecular Neuropsychiatry*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.1159/000454773>
79. Nelson, M. R., Wegmann, D., Ehm, M. G., Kessner, D., St. Jean, P., Verzilli, C., ... Mooser, V. (2012). An abundance of rare functional variants in 202 drug target genes sequenced in 14,002 people. *Science*, 336(6090), 100–104. <https://doi.org/10.1126/science.1217876>
80. Niculescu, A. B., Le-Niculescu, H., Levey, D. F., Phalen, P. L., Dainton, H. L., Roseberry, K., ... Salomon, D. R. (2017). Precision medicine for suicidality: From universality to subtypes and personalization. *Molecular Psychiatry*, 22(9), 1250–1273. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.128>
81. Niculescu, A. B., Levey, D. F., Phalen, P. L., Le-Niculescu, H., Dainton, H. D., Jain, N., ... Salomon, D. R. (2015). Understanding and predicting suicidality using a combined genomic and clinical risk assessment approach. *Molecular Psychiatry*, 20(11), 1266–1285. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.112>
82. Okonechnikov, K., Conesa, A., & García-Alcalde, F. (2016). Qualimap 2:

- Advanced multi-sample quality control for high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*, 32(2), 292–294.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv566>
83. Oliveros, J. C. (2015). *Venny: An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams*. Retrieved from
<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>
84. Organización Mundial de la Salud. (2014). Prevención del suicidio suicidio, un imperativo global. *Organización Mundial de La Salud*, 4.
<https://doi.org/10.1002/9780470774120>
85. Palmer, B., Pankratz, S., & Bostwick, J. M. (2005). The lifetime risk of suicide in schizophrenia: a reexamination. *Archives of General Psychiatry*, 62(3), 247–253. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.3.247>
86. Patel, S. D., Le-Niculescu, H., Koller, D. L., Green, S. D., Lahiri, D. K., McMahon, F. J., ... Niculescu, A. B. (2010). Coming to grips with complex disorders: Genetic risk prediction in bipolar disorder using panels of genes identified through convergent functional genomics. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 153(4), 850–877.
<https://doi.org/10.1002/ajmg.b.31087>
87. Pawlak, J., Dmistrz-Weglarz, M., Wilkosc, M., Szczepankiewicz, A., Leszczynska-Rodziewicz, A., Zaremba, D., ... Hauser, J. (2016). Suicide behavior as a quantitative trait and its genetic background. *Journal of Affective Disorders*, 206, 241–250. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.07.029>
88. Poplin, R., Ruano-Rubio, V., DePristo, M. A., Fennell, T. J., Carneiro, M. O., Van der Auwera, G. A., ... Banks, E. (2017). Scaling accurate genetic variant discovery to tens of thousands of samples. *BioRxiv*.
<https://doi.org/10.1101/201178>
89. Posner, K., Brown, G. K., Stanley, B., Brent, D. A., Yershova, K. V., Oquendo, M. ., ... Mann, J. J. (2010). The Columbia–Suicide Severity Rating Scale: Initial Validity and Internal Consistency Findings From Three Multisite Studies With Adolescents and Adults. *American Journal of Psychiatry*, 168(12), 1266–1277.

- <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.10111704>.The
90. Radomsky, E. D., Haas, G. L., Mann, J. J., & Sweeney, J. A. (1999). Suicidal behavior in patients with schizophrenia and other psychotic disorders. *American Journal of Psychiatry*, *156*(10), 1590–1595. <https://doi.org/10.1176/ajp.156.10.1590>
91. Rentzsch, P., Witten, D., Cooper, G. M., Shendure, J., & Kircher, M. (2019). CADD: Predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic Acids Research*, *47*(D1), D886–D894. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1016>
92. Rhoades, R., Jackson, F., & Teng, S. (2019). Discovery of rare variants implicated in schizophrenia using next-generation sequencing. *Journal of Translational Genetics and Genomics*. <https://doi.org/10.20517/jtgg.2018.26>
93. Rosenfeld, J. A., Xiao, R., Bekheirnia, M. R., Kanani, F., Parker, M. J., Koenig, M. K., ... Lee, B. H. (2021). Heterozygous variants in SPTBN1 cause intellectual disability and autism. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, *185*(7), 2037–2045. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62201>
94. Satterstrom, F. K., Kosmicki, J. A., Wang, J., Breen, M. S., De Rubeis, S., An, J. Y., ... Buxbaum, J. D. (2020). Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell*, *180*(3), 568-584.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.036>
95. Savitz, J. B., Cupido, C. L., & Ramesar, R. S. (2006). Trends in suicidology: Personality as an endophenotype for molecular genetic investigations. *PLoS Medicine*, *3*(5), 619–623. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030107>
96. Schiffer, D., Caldera, V., Mellai, M., Annovazzi, L., Piazzini, A., Lanotte, M., & Cassoni, P. (2011). Antigenic and genotypic similarity between primary glioblastomas and their derived neurospheres. *Journal of Oncology*. <https://doi.org/10.1155/2011/314962>
97. Schreiber, M., Dorschner, M., & Tsuang, D. (2013). Next-generation sequencing in schizophrenia and other neuropsychiatric disorders. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*,

- 162(7), 671–678. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32156>
98. Shivakumar, M., Miller, J. E., Dasari, V. R., Gogoi, R., & Kim, D. (2019). Exome-Wide Rare Variant Analysis From the DiscovEHR Study Identifies Novel Candidate Predisposition Genes for Endometrial Cancer. *Frontiers in Oncology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00574>
99. Sikkema-Raddatz, B., Johansson, L. F., de Boer, E. N., Almomani, R., Boven, L. G., van den Berg, M. P., ... Sinke, R. J. (2013). Targeted Next-Generation Sequencing can Replace Sanger Sequencing in Clinical Diagnostics. *Human Mutation*, 34(7), 1035–1042. <https://doi.org/10.1002/humu.22332>
100. Stewart, S. E., Fagerness, J. A., Platko, J., Smoller, J. W., Scharf, J. M., Illmann, C., ... Pauls, D. L. (2007). Association of the SLC1A1 glutamate transporter gene and obsessive-compulsive disorder. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 144(8), 1027–1033. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30533>
101. Stone, D., Holland, K., Bartholow, B., Crosby, A., Davis, S., & Wilkins, N. (2017). *Preventing Suicide: A Technical Package of Policy, Programs, and Practices*. Retrieved from <https://www.cdc.gov/violenceprevention/pdf/suicidetechnicalpackage.pdf>
102. Sweeney, M. D., Zhao, Z., Montagne, A., Nelson, A. R., & Zlokovic, B. V. (2019). From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev*, 99, 21–78. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2017>.-The
103. Tang, B., Dean, B., & Thomas, E. A. (2011). Disease- and age-related changes in histone acetylation at gene promoters in psychiatric disorders. *Translational Psychiatry*, 1(November), 1–9. <https://doi.org/10.1038/tp.2011.61>
104. Tidemalm, D., Runeson, B., Waern, M., Frisell, T., & Carlstro, E. (2011). *Familial clustering of suicide risk: a total population study of 11 . 4 million individuals*. 2527–2534. <https://doi.org/10.1017/S0033291711000833>
105. Turck, C. W. [Ed]. (2008). Biomarkers for psychiatric disorders. *Biomarkers for Psychiatric Disorders*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387->

79251-4

106. Van der Auwera, G. A., Carneiro, M. O., Hartl, C., Poplin, R., del Angel, G., Levy-Moonshine, A., ... De Pisto, M. A. (2014). From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Current Protocols in Bioinformatics*, 11(1110), 483–492.
<https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1110s43>
107. Van der Auwera, G. A., & O'Connor, B. D. (2020). *Genomics in the Cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra* (2da. Edici). California: O'Reilly Media, Inc.
108. van der Meer, D., Frei, O., Kaufmann, T., Shadrin, A. A., Devor, A., Smeland, O. B., ... Dale, A. M. (2020). Understanding the genetic determinants of the brain with MOSTest. *Nature Communications*, 11(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17368-1>
109. Vancheri, C., Morini, E., Prandi, F. R., Alkhoury, E., Celotto, R., Romeo, F., ... Amati, F. (2021). Two reek splice variants (Long and short) are differentially expressed in patients with stable and unstable coronary artery disease: A pilot study. *Genes*, 12(6).
<https://doi.org/10.3390/genes12060939>
110. Voracek, M., & Loibl, L. M. (2007). Genetics of suicide : a systematic review of twin studies. *Wien Klin Wochenschr*, 119(15–16), 463–475.
<https://doi.org/10.1007/s00508-007-0823-2>
111. Walter, K., Min, J. L., Huang, J., Crooks, L., Memari, Y., McCarthy, S., ... Zhang, W. (2015). The UK10K project identifies rare variants in health and disease. *Nature*, 526(7571), 82–89. <https://doi.org/10.1038/nature14962>
112. Wan, C., Yang, Y., Feng, G., Gu, N., Liu, H., Zhu, S., ... Wang, L. (2005). Polymorphisms of myelin-associated glycoprotein gene are associated with schizophrenia in the Chinese Han population. *Neuroscience Letters*, 388(3), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.06.051>
113. Warr, A., Robert, C., Hume, D., Archibald, A., Deeb, N., & Watson, M. (2015). Exome sequencing: Current and future perspectives. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 5(8), 1543–1550.

<https://doi.org/10.1534/g3.115.018564>

114. Wender, P. H., Kety, S. S., Rosenthal, D., Schulsinger, F., Ortmann, J., & Lunde, I. (1986). Psychiatric-Disorders in the Biological and Adoptive Families of Adopted Individuals with Affective-Disorders. *Archives of General Psychiatry*, 43(10), 923–929.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.1986.01800100013003>
115. Williamson, D., Ann-Marrie, R., Ashley-Koch, A., & Satten, G. (2013). Interaction of HLA-DRB1*1501 and TNF-Alpha in a Population-based Case-control Study of Multiple Sclerosis. *Immunology and Infectious Diseases*, 1(1), 10–17. <https://doi.org/10.13189/iid.2013.010102>
116. Xu, B., Roos, J. L., Dexheimer, P., Boone, B., Plummer, B., Levy, S., ... Karayiorgou, M. (2011). Exome sequencing supports a de novo mutational paradigm for schizophrenia. *Nature Genetics*, 43(9), 864–868.
<https://doi.org/10.1038/ng.902>
117. Xu, Z., Xie, C., Xia, L., Yuan, Y., Zhu, H., Huang, X., ... Zhang, Z. (2020). Targeted exome sequencing identifies five novel loci at genome-wide significance for modulating antidepressant response in patients with major depressive disorder. *Translational Psychiatry*, 10(1).
<https://doi.org/10.1038/s41398-020-0689-x>
118. Yamazaki, O., Yamashita, M., Li, J., Ochiai-Homma, F., Yoshida, T., Hirahashi, J., & Shibata, S. (2021). A novel I551F variant of Na⁺/HCO₃⁻-cotransporter NBCe1-A shows reduced cell surface expression, resulting in diminished transport activity. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1152/ajprenal.00584.2020>
119. Yuan, M., Wang, X., Zhan, Q., Duan, X., Yang, Q., & Xia, J. (2012). Association of PTEN genetic polymorphisms with atherosclerotic cerebral infarction in the Han Chinese population. *Journal of Clinical Neuroscience*, 19(12), 1641–1645. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2011.11.042>
120. Yuan, X., Bai, J., Zhang, J., Yang, L., Duan, J., Li, Y., & Gao, M. (2020). CONDEL: Detecting Copy Number Variation and Genotyping Deletion Zygosity from Single Tumor Samples Using Sequence Data.

IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics,
17(4), 1141–1153. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2018.2883333>

121. Zanti, M., Michailidou, K., Loizidou, M. A., Machattou, C., Pirpa, P., Christodoulou, K., ... Hadjisavvas, A. (2021). Performance evaluation of pipelines for mapping, variant calling and interval padding, for the analysis of NGS germline panels. *BMC Bioinformatics*, 22(1).
<https://doi.org/10.1186/s12859-021-04144-1>

13 ANEXOS

Anexo 1. Carta de aprobación del Comité de ética.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. C. ANTONIO ALI PEREZ MAYA
Investigador principal
Departamento de Bioquímica
Presente.-

Estimado Dr. Pérez:

En respuesta a su solicitud con número de Ingreso **PI18-00052** con fecha del **21 de Febrero del 2018**, recibida en las Oficinas de la Secretaría de Investigación Clínica de la Subdirección de Investigación, se extiende el siguiente **DICTAMEN FAVORABLE** con fundamento en los artículos 4° párrafo cuarto y 16 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; así como los artículos 14-16, 99 párrafo tercero, 102, 106 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud; así como de los artículos 111, 112 y 119 del Decreto que modifica a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud publicado el día 2 de abril del 2014; Además Punto 4.4, 4.7, 6.2, 8 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos; así como por el Reglamento interno de Investigación de Nuestra Institución.

Se informa que el Comité de Investigación ha determinado que el Protocolo de Investigación clínica abajo mencionado cuenta con la calidad técnica, aspectos metodológicos y mérito científico requeridos.

"Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio" participando además la QCB. María Fernanda Serna Rodríguez, registrado con la clave **B118-00002**.

De igual forma los siguientes documentos:

- **Protocolo en extenso, versión 2.0 de fecha 21 de marzo de 2018.**

Le reitero que es su obligación presentar a este Comité de Investigación un informe técnico parcial a más tardar el día en que se cumpla el año de emisión de este oficio, así como notificar la conclusión del estudio.

Será nuestra obligación realizar visitas de seguimiento a su sitio de investigación para que todo lo anterior este debidamente consignado, en caso de no apegarse, este Comité tiene la autoridad de suspender temporal o definitivamente la investigación en curso, todo esto con la finalidad de resguardar el beneficio y seguridad de todo el personal y sujetos en investigación.

Atentamente.-
"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey, Nuevo León 29 de Mayo del 2018

DR. C. GUILLERMO ELIZONDO RIOJAS
Presidente del Comité de Investigación

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Comité de Investigación

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n, Col. Mitras Centro, C.P. 64460, Monterrey, N.L. México
Teléfonos: 81 8329 4050, Ext. 2870 a 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanel.com



Septiembre 18, 2017

Anexo 2. Consentimiento informado.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

| | |
|--|---|
| Título del Estudio | IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES GENÓMICOS ASOCIADOS AL SUICIDIO. |
| Nombre del Investigador Principal | Dr. Antonio Ali Pérez Maya |
| Servicio/Departamento | Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL |
| Teléfono de Contacto | 8186536078 |
| Persona de Contacto | LBG. Antonio Ovalle Carcaño |
| Versión de Documento | 3 |
| Fecha de Documento | 27 de abril de 2018 |

Usted ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud. Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

El propósito de este estudio es que en un futuro sea posible la detección temprana de pacientes con verdadero riesgo de cometer suicidio por medio de la identificación de un patrón de variantes en la información genética asociado al suicidio.

La investigación en la que Usted participará es importante porque con los resultados obtenidos se espera poder orientar a los psiquiatras clínicos para que brinden un tratamiento más preciso, junto con asesoría médica oportuna a los familiares para que estén alerta de factores en el entorno del paciente que puedan detonar pensamientos suicidas o el acto suicida mismo. Los resultados de estos estudios serán publicados en revistas nacionales e internacionales. En ninguna de las exposiciones o publicaciones aparecerán nombres o datos personales de Usted ni de ningún participante de esta investigación.

¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración del estudio será de 45 minutos y será por única ocasión. La duración de nuestra investigación será de aproximadamente tres años. Sin embargo, sus muestras podrían ser almacenadas durante un tiempo mayor.

El Investigador espera incluir un total de 700 sujetos de investigación los cuales serán asignados a dos grupos, uno de casos con 400 pacientes físicamente saludables y que presenten ideación suicida, y otro grupo de controles con 300 pacientes físicamente saludables y que no presentan ideación suicida.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio. Versión 3 0 27 de Abril de 2018 Dr. Antonio Ali Pérez Maya

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR
Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mibras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail. bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y de exclusión son los siguientes:

Criterios de inclusión:

- **Casos (grupo de estudio).**

- Para que Usted, ya sea hombre o mujer, pueda participar es necesario que sea mayor de 18 años, que Usted esté físicamente saludable y después de ser valorado, el psiquiatra dictamine que Usted presenta ideación suicida.

- **Controles**

- Para que Usted, ya sea hombre o mujer, pueda participar es necesario que sea mayor de 18 años, que Usted esté físicamente saludable y después de ser valorado, el psiquiatra dictamine que Usted no presenta ideación suicida.

Criterios de exclusión:

- **Casos (grupo de estudio):**

- Usted, ya sea hombre o mujer, no podrá participar si usted no está físicamente saludable y después de ser valorado, el psiquiatra dictamine que Usted no presenta ideación suicida.

- Usted no podrá participar si tiene infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), hepatitis B, infecciones bacterianas o virales no controladas.

- Tampoco podrá participar si sus funciones cognitivas o emocionales disminuyen significativamente su juicio y raciocinio, lo que lo incapacite a usted de dar su consentimiento.

- **Controles**

- Usted, ya sea hombre o mujer, no podrá participar si usted no está físicamente saludable y después de ser valorado, el psiquiatra dictamine que presenta ideación suicida.

- Usted no podrá participar si tiene infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), hepatitis B, infecciones bacterianas o virales no controladas.

- Tampoco podrá participar si sus funciones cognitivas o emocionales disminuyen significativamente su juicio y raciocinio, lo que lo incapacite a usted de dar su consentimiento.

- **Criterios de eliminación:**

- Si por voluntad propia usted decide dejar de participar en el estudio su muestra será eliminada de nuestro estudio.

- Muestras cuya cantidad o calidad de sus ácidos nucleicos no sea la adecuada para llevar a cabo los experimentos.

- Muestras en estado putrefacto.

¿CUÁL ES EL TRATAMIENTO DEL ESTUDIO?

No se le realizará ningún tratamiento. Si usted ya lleva una terapia o tratamiento continuará con la misma sin cambios debido a su participación en esta investigación. Solamente requeriremos su muestra biológica voluntaria.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio. Versión 3.0 27 de Abril de 2016. Dr. Antonio Ali Pérez Mays

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR
Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mitras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329 41 73 / 8329 4174 Fax 8333 77 47
E-mail. bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



2
Visión
2020
UANL

"Educación de clase mundial,
un compromiso social"

COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

Los procedimientos que se le realizarán serán los siguientes:

- Se le tomará una muestra de sangre periférica equivalente a 4 cucharaditas (dos tubos, aproximadamente 8 ml) con una jeringa o un adaptador Vacutainer de una vena de su brazo. Todo el material utilizado para la toma de muestras será completamente nuevo y estéril.
- Se le requerirá que conteste brevemente una forma con cierta información personal como antecedentes clínicos relevantes para el estudio, su edad, y otras cuestiones indispensables para la base de datos de la investigación.

¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si Usted da su consentimiento para participar, se le pedirá que done una muestra de sangre periférica (dos tubos) con una jeringa o un adaptador Vacutainer de una vena de su brazo. También, se le requerirá que conteste brevemente una forma con cierta información personal como antecedentes clínicos relevantes para el estudio, su edad y otras cuestiones indispensables para la base de datos de la investigación.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

No existe riesgo grave previsible asociado a su participación en el estudio debido a que se le realizará solamente una toma de muestra sanguínea de rutina. Podrían presentarse riesgos mínimos como molestia ligera en el sitio de toma de muestra, hemorragia mínima, moretón, mareos, náuseas y en ocasiones muy raras infección ligera en el sitio de punción. Por esta razón, la toma de todas las muestras se hará con equipo totalmente nuevo y esterilizado y será realizado por personas capacitadas para ello.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?

Es probable que Usted no obtenga ningún beneficio directo por participar como voluntario en este proyecto. Sin embargo, su colaboración ayudará a realizar una investigación innovadora en el campo de la psiquiatría a nivel molecular que proyecta tener un gran impacto en el diagnóstico, tratamiento y manejo de los pacientes con trastornos psiquiátricos que conllevan riesgo de ideación suicida, siendo esto de impacto en la salud pública nacional. Los resultados tendrán un beneficio para el sector salud sobre el manejo del entorno clínico, social y familiar de los pacientes en riesgo de cometer suicidio.

¿QUÉ OTROS PROCEDIMIENTOS O TRATAMIENTOS PODRÍAN ESTAR DISPONIBLES PARA USTED?

En caso de encontrar alteraciones genéticas de interés médico, los resultados de los estudios genómicos podrán ser discutidos con su médico o psiquiatra tratante para evaluar la posibilidad de mejorar su tratamiento o los de otros pacientes con las mismas alteraciones genéticas en un futuro.

¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para Usted por participar en este estudio.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio. Versión 3.0 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Al Pérez Mays.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR
Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Miras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 3329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail: bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



3
"Visión 2020 UANL"

"Educación de clase mundial, un compromiso social"



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?

A Usted no se le proporcionará ninguna compensación para sus gastos de transportación.

¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Usted no recibirá ningún pago por la participación en este estudio.

¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

Autorizar el almacenamiento de sus muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones de su enfermedad no le generará un costo a Usted. Sus muestras serán utilizadas sólo para esta investigación y no se comercializarán ni serán usadas para crear líneas celulares inmortales. La investigación que se realice con ellas puede llevar al desarrollo de nuevos productos o medicamentos en un futuro. Usted no recibirá ninguna compensación ahora o en el futuro por el uso de estas muestras. Las muestras serán almacenadas en el Laboratorio de Genómica y Bioinformática del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina por un lapso de 30 años. Una vez transcurrido ese lapso, las muestras serán destruidas.

¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si Usted sufre una lesión o enfermedad durante su participación en el estudio, debe buscar tratamiento a través de su médico de cabecera o centro de atención médica de elección y debe informárselo inmediatamente al médico del estudio.

Los gastos que genere dicha lesión o enfermedad sólo le serán pagados si el médico del estudio ha decidido que la lesión / enfermedad está directamente relacionada con los procedimientos del estudio.

¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Si decide participar en este estudio, Usted tiene derecho a ser tratado con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no en el estudio. Usted es libre de terminar su participación en este estudio en cualquier momento.

¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

Su participación también podrá ser suspendida o terminada por el médico del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genéticos asociados al suicidio. Versión 3.0. 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Al Pérez Maya.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR
Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mitras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail. bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



4
Visión
2020
UANL

"Educación de clase mundial,
un compromiso social"



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.
- Que no ha seguido las indicaciones del médico lo que pudiera traer como consecuencias problemas en su salud.

Si Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:

- Notificar a su médico tratante del estudio
- Deberá regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por su seguridad, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, su información médica recabada hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar su expediente clínico, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio u otra información personal.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genómicos asociados al síndrome.
Versión 3.0 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Alí Pérez Maya.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR

Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mitras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail. bioquimicaymedicinamoleculard@hotmail.com



5
Visión
2020
UANL

"Educación de clase mundial.
un compromiso social"



COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a sus derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario podrá contactar al **Dr. José Gerardo Garza Leal**, Presidente del Comité de Ética en Investigación de nuestra Institución o al **Lic Antonio Zapata de la Riva** en caso de tener dudas en relación a sus derechos como paciente.

Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".

Av. Francisco I. Madero y Av. Gonzalitos s/n
Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León México.
CP 66460
Teléfonos: (81) 83294000 ext. 2870 a 2874
Correo electrónico: investigacionclinica@meduanl.com

RESUMEN CONSENTIMIENTO

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- Mi participación es completamente voluntaria.
- Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre mi participación. Sé con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.
- Entiendo que las secciones de mis anotaciones médicas serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad regulatoria para proteger mi participación en el estudio.
- Acepto que mis datos personales se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- Acepto que mis materiales biológicos (sangre) recolectados puedan usarse para los fines que convengan a este estudio.
- Acepto que mi médico general sea informado de mi participación en este estudio.
- Acepto que la información acerca de este estudio y los resultados de cualquier examen o procedimiento pueden ser incluidos en mi expediente clínico.



6

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genéticos asociados al síndrome.
Versión 3.0. 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Ali Pérez Mays

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR
Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mitras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail. bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



Vision 2020 UANL

"Educación de clase mundial, un compromiso social"



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

- Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre del Sujeto de Investigación

Firma

Fecha

PRIMER TESTIGO

Nombre del Primer Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

SEGUNDO TESTIGO

Nombre del Segundo Testigo

Firma

Dirección

Fecha

Relación con el Sujeto de Investigación

PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento

Firma

Fecha

COMITE DE ETICA EN INVESTIGACION

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado. Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio. Versión 3.0 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Al Pérez Moya.

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR

Ave. Francisco I. Madero y Dr. Eduardo Aguirre Pequeño s/n Col. Mitras Centro Monterrey, N. L., México C.P. 64460

Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47

E-mail: bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



7
"Visión 2020 UANL"

"Educación de clase mundial, un compromiso social"

Anexo 3. Hoja de recolección de datos.

Proyecto: IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES GENÓMICAS ASOCIADOS AL SUICIDIO

Hoja de Recolección de Datos

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Número de Muestra: _____

Lugar de recolección de datos: _____ Fecha: ____/____/____

Nombre: _____

Nacionalidad: _____ Fecha de nacimiento: ____/____/____

Estado de nacimiento: _____ Edad: _____

Domicilio: _____

Teléfono: _____ Teléfono Opcional: _____

Teléfono Celular: _____ Correo Electrónico: _____

Religión: _____

| | | | | | | | |
|-------------------------------|--|--|--|--|---|---|--|
| Sexo | <input type="checkbox"/> Femenino | <input type="checkbox"/> Masculino | | | | | |
| Estado Civil | <input type="checkbox"/> Soltero | <input type="checkbox"/> Casado | <input type="checkbox"/> Separado | <input type="checkbox"/> Divorciado | <input type="checkbox"/> Viudo | <input type="checkbox"/> Unión libre | |
| Raza/Etnia | <input type="checkbox"/> Latina | <input type="checkbox"/> Blanca | <input type="checkbox"/> Afroamericana | <input type="checkbox"/> Asiática | <input type="checkbox"/> Otra | Especificar _____ | |
| Escolaridad | <input type="checkbox"/> Primaria (6 años) | <input type="checkbox"/> Secundaria o equivalente (7-9 años) | <input type="checkbox"/> Preparatoria o equivalente (10-12 años) | <input type="checkbox"/> Estudios Universitarios no terminados | <input type="checkbox"/> Título Universitario | <input type="checkbox"/> Posgrado | Años de estudio _____ |
| Ocupación | <input type="checkbox"/> Empleado | <input type="checkbox"/> Ama de casa | <input type="checkbox"/> Negocio propio | <input type="checkbox"/> Jubilación | <input type="checkbox"/> Invalidez | <input type="checkbox"/> Estudiante | <input type="checkbox"/> Otro |
| No. de Hijos | <input type="checkbox"/> Ninguno | <input type="checkbox"/> 1 | <input type="checkbox"/> 2 | <input type="checkbox"/> 3 | <input type="checkbox"/> Otro | | |
| Peso | _____ kg | IMC | _____ | | | | |
| Estatura | _____ m | | | | | | |
| Tipo de obesidad | <input type="checkbox"/> Ginecoide | <input type="checkbox"/> Androide | | | | | |
| ¿Toma café o te negro? | No. de tazas al día _____ | <input type="checkbox"/> No | | | | | |
| ¿Consumo alcohol? | <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No | ¿Cuántas bebidas consume en un día de consumo normal? | <input type="checkbox"/> 1 o 2 | <input type="checkbox"/> 3 o 4 | <input type="checkbox"/> 5 o 6 | <input type="checkbox"/> 7, 8 o 9 | <input type="checkbox"/> 10 o más |
| | | ¿Con qué frecuencia consume alguna bebida alcohólica? | <input type="checkbox"/> Nunca | <input type="checkbox"/> 1 o 2 veces al mes | <input type="checkbox"/> 2 o 4 veces al mes | <input type="checkbox"/> 2 a 3 veces en la semana | <input type="checkbox"/> 4 o más veces a la semana |

Hoja de Recolección de Datos Versión 3.0, Proyecto: "IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES GENÓMICOS ASOCIADOS AL SUICIDIO", fechado 30 de Agosto de 2018, Monterrey, Nuevo León, México, Dr. Antonio Alí Pérez Maya

Tabaquismo No fumador Ocasional Leve Moderado Alto

Consumo diario de tabaco _____ cigarros por día Edad de inicio _____

Años de tabaquismo _____ Edad en que se suspendió _____

¿Con qué frecuencia fuma? Diario Algunos días en la semana Solo algunos días sueltos al mes

¿Consumo alguna otra droga? Sí No ¿Cuál? Derivados del cannabis (marihuana) Cocaína Heroína Tranquilizantes Otros

¿Hace cuánto que los consume? (Número de meses o años) Alcohol _____
 Marihuana _____
 Otras drogas _____

ANTECEDENTES MÉDICOS

¿Tiene enfermedades base? Diabetes Hipertensión Hipercolesterolemia Otra (Especifique) _____ ¿Hace cuánto? _____

Cirugías previas Sí No *Especifique* _____ ¿Sufre alguna discapacidad? Sí No *Especifique* _____

¿Está bajo algún tratamiento hormonal? Sí No *Especifique* _____ ¿Está bajo algún otro tipo de tratamiento? Sí No *Especifique* _____ ¿Hace cuánto? _____

¿Sufre algún padecimiento que le provoque dolor físico? Sí No *Especifique* _____ ¿Hace cuánto? _____

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

Familiares con cáncer 0 1 2 3

Tipo de cáncer de familiar 1 Cáncer de mama Cáncer de ovario Cáncer de colon *Especifique* Línea materna Línea paterna Edad _____

| | | | | | | | |
|------------------------------|---|---|--|--------------------------|--|--|------------|
| Tipo de cáncer de familiar 2 | <input type="checkbox"/> Cáncer de mama | <input type="checkbox"/> Cáncer de ovario | <input type="checkbox"/> Cáncer de colon | <i>Especifique</i> _____ | <input type="checkbox"/> Línea materna | <input type="checkbox"/> Línea paterna | Edad _____ |
| Tipo de cáncer de familiar 3 | <input type="checkbox"/> Cáncer de mama | <input type="checkbox"/> Cáncer de ovario | <input type="checkbox"/> Cáncer de colon | <i>Especifique</i> _____ | <input type="checkbox"/> Línea materna | <input type="checkbox"/> Línea paterna | Edad _____ |

GENEALOGÍA

| | |
|--|--|
| Procedencia del padre _____ | Procedencia de la madre _____ |
| Procedencia del abuelo paterno _____ | Procedencia del abuelo materno _____ |
| Procedencia de la abuela paterna _____ | Procedencia de la abuela materna _____ |

ACTIVIDAD FÍSICA

¿Realiza algún tipo de ejercicio? Sí No

¿Qué tipo de ejercicio? Caminata Correr Spinning Yoga Pesas Natación *Especifique* _____

Frecuencia Diario Tercer día Semanal *Especifique* _____

Tiempo dedicado 30 minutos 45 minutos 60 minutos *Especifique* _____

Tiempo desde inicio de actividad física 1 semana 1 mes 6 meses 1 año 1 año y medio *Especifique* _____

HISTORIAL PSIQUIÁTRICA FAMILIAR

| Historial familiar de | No sabe | No | Sí | ¿Quién? |
|--|---------|----|----|---------|
| Esquizofrenia | | | | |
| Trastorno Bipolar | | | | |
| Depresión Mayor | | | | |
| Alcoholismo | | | | |
| Drogadicción | | | | |
| Distimia (trastorno depresivo persistente) | | | | |
| Ataques de pánico | | | | |
| Agorafobia (fobia a espacios abiertos) | | | | |
| Trastorno obsesivo-compulsivo | | | | |
| Fobia social | | | | |
| Fobia específica | | | | |
| Ansiedad generalizada | | | | |
| Demencia | | | | |
| Retardo mental | | | | |
| Trastorno de personalidad | | | | |
| Otro (especifique) | | | | |

Hoja de Recolección de Datos Versión 3.0, Proyecto: "IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES GENÓMICOS ASOCIADOS AL SUICIDIO", fechado 30 de Agosto de 2018, Monterrey, Nuevo León, México, Dr. Antonio Alí Pérez Maya

| DIAGNÓSTICO | FECHA DE INICIO | |
|-------------------|---------------------|-----------------|
| | PADECIMIENTO ACTUAL | EPISODIO ACTUAL |
| DEPRESIÓN MAYOR | | |
| TRASTORNO BIPOLAR | | |
| ESQUIZOFRENIA | | |
| OTRO: | | |
| | | |
| | | |

| TRATAMIENTO ACTUAL | DOSIS | FECHA DE INICIO |
|--------------------|-------|-----------------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

| ESCALAS DE EVALUACIÓN | FECHA | PUNTAJE |
|-----------------------|-------|---------|
| MADRS | | |
| PANSS | | |
| YOUNG | | |
| CGI | | |
| C-SSRS | | |
| IDB | | |
| CFI-S | | |
| OTRA: | | |

Persona que recolecta los datos (Nombre y Firma):

Persona que toma las muestras (Nombre y Firma) :

Anexo 4. Escala de Columbia para evaluar la seriedad de la ideación suicida (C.-SSRS).

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| DATE: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;">2</td><td style="width: 15px; height: 15px;">0</td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td></tr><tr><td style="font-size: 8px;">d</td><td style="font-size: 8px;">d</td><td style="font-size: 8px;">m</td><td style="font-size: 8px;">m</td><td style="font-size: 8px;">a</td><td style="font-size: 8px;">y</td><td style="font-size: 8px;">y</td><td style="font-size: 8px;">y</td><td style="font-size: 8px;">y</td><td style="font-size: 8px;">y</td></tr></table> | | | | | | 2 | 0 | | | | d | d | m | m | a | y | y | y | y | y | SUBJECT ID: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td></tr></table> RATER INITIALS: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td><td style="width: 15px; height: 15px;"></td></tr></table> | | | | | | | | | |
| | | | | | 2 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| d | d | m | m | a | y | y | y | y | y | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ESCALA DE VALORACIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE COLUMBIA SOBRE LA INTENSIDAD DE IDEAS SUICIDAS (C-SSRS)

Versión de primera evaluación/monitoreo
Versión 14/01/2009

*Posner, K.; Brent, D.; Lucas, C.; Gould, M.; Stanley, B.; Brown, G.; Fisher, P.; Zelazny, J.;
Burke, A.; Oquendo, M.; Mann, J.*

Limitación de responsabilidad:

La presente escala se diseñó con el fin de que la utilicen individuos que hayan sido entrenados para su administración. Las preguntas que se incluyen en la Escala de Valoración de la Universidad de Columbia sobre la Intensidad de Ideas Suicidas (C-SSRS, por sus siglas en inglés) corresponden a los sondeos sugeridos. En última instancia, la determinación de la presencia de ideas o comportamiento suicida depende del juicio de la persona que administra la escala.

*En esta escala, las definiciones de conductas suicidas se basan en las que utiliza **The Columbia Suicide History Form**, cuyos autores son John Mann, MD y Maria Oquendo, MD, Conte Center for the Neuroscience of Mental Disorders (CCNMD), New York State Psychiatric Institute, 1051 Riverside Drive, New York, NY, 10032. (Oquendo M. A., Halberstam B. & Mann J. J., Risk factors for suicidal behavior: utility and limitations of research instruments. En M.B. First [Ed.] Standardized Evaluation in Clinical Practice, pp. 103 -130, 2003).*

Para obtener copias de la escala de valoración C-SSRS, comuníquese con Kelly Posner, Ph.D., New York State Psychiatric Institute, 1051 Riverside Drive, New York, New York, 10032; para solicitar más información y necesidad de entrenamiento, escriba a posnerk@nyspi.columbia.edu

© 2008 The Research Foundation for Mental Hygiene, Inc.

C-SSRS Baseline Screening - Mexico/Spanish - Version of 07 Apr 14 - Mapi
ID 7661 / C-SSRS-Baseline-Screening_AU6_1_spa-MX.doc

R092670FSY2015_Screening_Without-PP1M-PP3M_MEX-Spanish_24APR2016

2068

SUBJECT ID:

| IDEAS SUICIDAS | Durante el transcurso de vida del participante - Momento en que tuvo con mayor intensidad ideas suicidas | Últimos <u> </u> meses |
|--|--|---|
| <p><i>Formule las preguntas 1 y 2. Si la respuesta a ambas preguntas es negativa, pase a la sección "Conducta suicida". Si la respuesta a la pregunta 2 es "SI", formule las preguntas 3, 4 y 5. Si la respuesta a la pregunta 1 y/o 2 es "SI", conteste la sección de "Gravedad de las ideas" que se encuentra abajo.</i></p> | | |
| <p>1. Deseo de estar muerto(a) El(la) participante confirma que ha tenido ideas relacionadas con el deseo de estar muerto(a) o de no seguir viviendo, o el deseo de quedarse dormido(a) y no despertar. <i>¿Ha deseado estar muerto(a) o poder dormirse y no despertar?</i> Si la respuesta es sí, describa:</p> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| <p>2. Ideas suicidas activas no específicas Pensamientos generales y no específicos relativos al deseo de poner fin a su vida (por ejemplo, "He pensado en suicidarme") sin ideas sobre cómo quitarse la vida (métodos relacionados, intención o plan) durante el periodo de evaluación. <i>¿Ha tenido realmente la idea de suicidarse?</i> Si la respuesta es sí, describa:</p> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| <p>3. Ideas suicidas activas con cualquier método (no un plan) sin la intención de actuar El(la) participante confirma que ha tenido ideas suicidas y ha pensado en al menos un método durante el periodo de evaluación. Esto se diferencia de un plan específico con detalles elaborados de hora, lugar o método (por ejemplo, la idea de un método para matarse, pero sin un plan específico). Esto incluye a un(a) participante que diría: "He tenido la idea de ingerir una sobredosis, pero nunca tuve un plan específico sobre el momento, lugar y cómo lo haría realmente...y nunca lo haría". <i>¿Ha pensado en cómo llevaría esto a cabo?</i> Si la respuesta es sí, describa:</p> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| <p>4. Ideas suicidas activas con cierta intención de actuar, sin un plan específico Se presentan ideas suicidas activas de quitarse la vida y el(la) participante refiere que ha tenido cierta intención de llevar a cabo tales ideas, a diferencia de "Tengo los pensamientos, pero definitivamente no haré nada al respecto". <i>¿Ha tenido estas ideas y en cierto grado la intención de llevarlas a cabo?</i> Si la respuesta es sí, describa:</p> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| <p>5. Ideas suicidas activas con un plan específico e intención Se presentan ideas de quitarse la vida con un plan detallado y parcial o totalmente elaborado, y el(la) participante tiene cierta intención de llevar a cabo este plan. <i>¿Ha comenzado a elaborar o ha elaborado los detalles sobre cómo suicidarse? ¿Tiene intenciones de llevar a cabo este plan?</i> Si la respuesta es sí, describa:</p> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> | Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> |
| GRAVEDAD DE LAS IDEAS | | |
| <p><i>Las siguientes características deberán evaluarse con respecto al tipo más grave de ideación suicida (por ejemplo, 1-5 de arriba, donde 1 es el menos grave y 5 es el más grave). Pregunte acerca del momento en que el (la) participante tuvo con mayor intensidad ideas suicidas.</i></p> <p>Durante el transcurso de vida - Idea más grave: _____ Tipo N° (1-5) _____ Descripción de la idea _____</p> <p>Últimos X meses - Idea más grave: _____ Tipo N° (1-5) _____ Descripción de la idea _____</p> | Más grave | Más grave |
| <p>Frecuencia <i>¿Cuántas veces ha tenido estas ideas?</i> (1) Menos de una vez a la semana. (2) Una vez a la semana. (3) De 2 a 5 veces a la semana. (4) Diario o casi diario. (5) Muchas veces cada día.</p> | — | — |
| <p>Duración <i>Cuando tiene estas ideas, ¿cuánto tiempo duran éstas?</i> (1) Son breves (algunos segundos o minutos). (2) Menos de una hora o algo de tiempo. (3) De 1 a 4 horas o bastante tiempo. (4) De 4 a 8 horas o la mayor parte del día. (5) Más de 8 horas (persistentemente) o en forma continua.</p> | — | — |
| <p>Capacidad de controlarlas <i>Cuando usted ha querido, ¿ha podido o puede dejar de pensar en suicidarse o querer morir?</i> (1) Puede controlar sus pensamientos con facilidad. (2) Puede controlar sus pensamientos con poca dificultad. (3) Puede controlar sus pensamientos con alguna dificultad. (4) Puede controlar sus pensamientos con bastante dificultad. (5) Es incapaz de controlar sus pensamientos. (0) No intenta controlar sus pensamientos.</p> | — | — |
| <p>Elementos disuasivos <i>¿Existen factores - alguien o algo (por ejemplo, familia, religión, dolor al morir) - que hayan acabado con su deseo de morir o llevar a cabo sus ideas de suicidarse?</i> (1) Los elementos disuasivos definitivamente lo(la) detuvieron antes de que intentara suicidarse. (2) Los elementos disuasivos probablemente lo(la) detuvieron. (3) No existe la certeza de que lo(la) hayan detenido elementos disuasivos. (4) Es muy probable que no lo(la) hayan detenido elementos disuasivos. (5) Definitivamente no lo(la) detuvieron elementos disuasivos. (0) No aplica.</p> | — | — |
| <p>Razones que causan estas ideas <i>¿Qué tipo de razones lo(la) motivaron a pensar en querer morir o suicidarse? ¿Fue para poner fin al dolor o a la forma en que se estaba sintiendo (en otras palabras, no podía seguir viviendo con este dolor o en la forma en que usted se sentía) o fue para llamar la atención, por venganza o para obtener una reacción de otras personas? ¿O ambos?</i> (1) Únicamente para llamar la atención, por venganza o para obtener una reacción de otras personas. (2) Principalmente para llamar la atención, por venganza o para obtener una reacción de otras personas. (3) Tanto para llamar la atención, por venganza o para obtener una reacción de otras personas, como para poner fin al dolor o detenerlo. (4) Principalmente para poner fin al dolor o detenerlo (usted no podía seguir viviendo con el dolor o en la forma en que usted se estaba sintiendo). (5) Únicamente para poner fin al dolor o detenerlo (usted no podía seguir viviendo con el dolor o en la forma en que usted se estaba sintiendo). (0) No aplica.</p> | — | — |

SUBJECT ID:

| CONDUCTA SUICIDA <i>(Marque todo aquello que corresponda, siempre y cuando sean eventos separados; debe preguntar sobre todos los tipos).</i> | Durante el transcurso de vida del participante | Últimos años |
|--|--|--|
| Intento real: Una acción que pueda provocar lesiones a sí mismo(a), cometida con al menos cierto deseo de morir, como consecuencia del acto. La conducta se pensó en parte como un método para matarse. No es necesario que la intención equivalga a un 100%. Si existe cualquier intención o deseo de morir relacionado con el acto, entonces éste puede considerarse un intento real de suicidio. <i>No es necesario que haya daño o lesión física, sólo la posibilidad de que éstos se produzcan.</i> Si la persona tira del gatillo cuando la pistola está en su boca, pero el arma no funciona y en consecuencia no hay lesiones, esto se considera como un intento. Deducción de la intención: incluso si un(a) participante niega la intención o deseo de morir, es posible deducir clínicamente que este deseo existe a partir de la conducta o las circunstancias. Por ejemplo, un acto con una alta probabilidad de causar la muerte y que claramente no es un accidente, de forma que no puede deducirse otra intención más que la de suicidarse (por ejemplo, disparo a la cabeza, salto desde una ventana de un piso en altura). Además, puede deducirse que esta intención existe si el(la) participante niega la intención de morir, pero pena lo que hizo podría haber causado su muerte. ¿Ha intentado suicidarse? ¿Ha hecho algo para dañarse a sí mismo(a)? ¿Ha hecho algo peligroso que pudiera haber ocasionado su muerte? ¿Qué fue lo que hizo? ¿Usted se _____ como forma de poner fin a su vida? ¿Deseaba morir (aunque fuera un poco) cuando usted _____? ¿Intentaba poner fin a su vida cuando usted _____? ¿O pensaba que podría haber muerto como resultado de _____? ¿O lo hizo únicamente por otros motivos, sin NINGUNA intención de quitarse la vida (para aliviar el estrés, sentirse mejor, obtener compasión o lograr que otra cosa sucediera)? (Conducta para provocar lesiones a sí mismo[a] sin intención suicida.) Si la respuesta es sí, describa: | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos _____ | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos _____ |
| Intento interrumpido: Cuando se interrumpe a la persona (con una circunstancia externa) antes de que comience a realizar el acto que potencialmente podría dañarlo(a) (si no fuera por esta circunstancia, se habría producido un intento real). Sobredosis: la persona tiene píldoras en la mano, pero se evita que las ingiera. Cuando la persona ya ha ingerido una o más píldoras, se convierte más bien en un intento que en un intento interrumpido. Disparo: la persona tiene el arma apuntando a sí misma, alguien más le quita el arma, o de alguna manera se evita que tire del gatillo. Cuando la persona tira del gatillo, incluso si el arma no se dispara, ya es un intento. Saltar: la persona está lista para saltar al vacío, la sujetan y la alejan del borde. Abocamiento: la persona tiene una soga alrededor del cuello, pero aún no comienza a ahorcarse - se evita que lo haga. ¿Alguna vez comenzó a hacer algo para quitarse la vida, pero alguien o algo lo(la) detuvo antes de que realmente lo hiciera? Si la respuesta es sí, describa: | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos interrumpidos _____ | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos interrumpidos _____ |
| Intento abortado: Cuando la persona comienza a hacer lo necesario para intentar suicidarse, pero se detiene antes de llevar a cabo realmente cualquier conducta autodestructiva. Los ejemplos son similares a los intentos interrumpidos, con la excepción de que el(la) participante se detiene a sí mismo(a), en vez de que algo más lo(la) detenga. ¿Alguna vez comenzó a hacer algo para tratar de quitarse la vida, pero se detuvo antes de que realmente lo hiciera? Si la respuesta es sí, describa: | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos abortados _____ | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Número total de intentos abortados _____ |
| Acciones o conductas de preparación de un suicidio: Preparación o acciones cuyo fin es un inminente intento suicida. Estos incluyen cualquier acción que vaya más allá de la expresión oral o la idea, tal como la organización de un método específico (por ejemplo, comprar píldoras o comprar un arma) o la preparación para la propia muerte a causa del suicidio (por ejemplo, regalar cosas o escribir una nota suicida). ¿Ha realizado cualquier acción cuyo fin es intentar suicidarse o prepararse para quitarse la vida (tal como juntar píldoras, conseguir un arma, regalar objetos de valor o escribir una nota suicida)? Si la respuesta es sí, describa: | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |
| Conducta suicida: ¿Presenta conducta suicida durante el periodo de evaluación? | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> | Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> |
| Respuesta sólo en caso de intentos reales | Fecha del intento más reciente: | Fecha del intento más letal: |
| Letalidad real o lesión física: 0. No se presentan lesiones físicas o éstas son muy leves (por ejemplo, rasguños superficiales). 1. Lesiones físicas menores (por ejemplo, aletargamiento del habla, quemaduras de primer grado, ligera pérdida de sangre, esguinces). 2. Lesiones físicas moderadas; se requiere atención médica (por ejemplo, estado de conciencia, pero con somnolencia, algo de reacción frente a estímulos, quemaduras de segundo grado, hemorragia de un vaso sanguíneo de importancia). 3. Lesiones físicas de gravedad moderada; se requiere hospitalización y probablemente terapia intensiva (por ejemplo, estado de coma con reflejos intactos, quemaduras de tercer grado en menos del 20% del cuerpo, abundante pérdida de sangre, pero recuperable, fracturas de importancia). 4. Lesiones físicas graves; se requiere hospitalización con terapia intensiva (por ejemplo, estado de coma sin reflejos, quemaduras de tercer grado en más del 20% del cuerpo, abundante pérdida de sangre con signos vitales inestables, lesión de importancia en un área vital). 5. Muerte | Ingrese el código _____ | Ingrese el código _____ |
| Letalidad potencial: sólo responda si la letalidad real=0 Probable letalidad de un intento real aunque no se presentaron lesiones físicas (los siguientes ejemplos, aunque no causaron lesiones físicas reales, tuvieron el potencial de ser muy letales: se metió un arma en la boca y tiró del gatillo, pero el arma no se disparó, de manera que no se produjo lesión física; se tendió en la vía cuando un tren se acercaba, pero se quitó antes de ser atropellado(a)). 0 = Conducta que probablemente no causará lesión. 1 = Conducta que probablemente causará lesiones, pero no la muerte. 2 = Conducta que probablemente causará la muerte, a pesar de los cuidados médicos disponibles. | Ingrese el código _____ | Ingrese el código _____ |

Anexo 5. Inventario de la Depresión de Beck (IDB).

INVENTARIO DE DEPRESIÓN DE BECK (IDB)

| | |
|-----------|---|
| 7 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No me siento descontento conmigo mismo/a. ○ Me siento descontento conmigo mismo/a. ○ Me desprecio. ○ Me odio y me asqueo. |
| 8 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No creo ser peor que otros. ○ Me critico a mi mismo por debilidad y mis errores. ○ Me culpo todo el tiempo por mis errores. ○ Me siento culpable por todo lo que sucede. |
| 9 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No tengo ninguna idea acerca de suicidarme. ○ Tengo ideas de suicidarme, pero no lo haría. ○ Quisiera suicidarme. ○ Me suicidaría si tuviera la oportunidad. |
| 10 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No lloro más de lo habitual. ○ Lloro más que antes. ○ Lloro todo el tiempo. ○ Antes podía llorar y ahora no lloro, ni aunque quiera. |
| 11 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No estoy más irritable. ○ Me irrito más fácil que antes. ○ Estoy irritado todo el tiempo. ○ Ya no me irrita lo que antes me irritaba. |
| 12 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No he perdido el interés en la gente. ○ La gente no me interesa como antes. ○ He perdido la mayoría del interés en la gente. ○ La gente no me interesa para nada en absoluto. |
| 13 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Tomo decisiones tan bien como siempre. ○ Pospongo la toma de decisiones más que antes. ○ Se me complica tomar decisiones. ○ No puedo tomar decisiones para nada. |
| 14 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No siento que haya empeorado mi aspecto. ○ Me preocupa verme feo/a y viejo/a. ○ Siento que hay cambios en mi apariencia que me hacen que me vea feo. ○ Creo que me veo horrible y repulsivo. |

INVENTARIO DE DEPRESIÓN DE BECK (IDB)

| | |
|-----------|---|
| 15 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Puedo trabajar tan bien como antes. ○ Tengo que hacer un esfuerzo extra para iniciar algo. ○ Tengo que obligarme a hacer cualquier cosa. ○ No puedo trabajar para nada. |
| 16 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Duermo tan bien como antes. ○ No duermo tan bien como antes. ○ Me despierto 1 o 2 horas antes de lo acostumbrado y me es difícil volver a dormirme. ○ Me despierto muchas horas antes de lo acostumbrado y no puedo volver a dormirme. |
| 17 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No me canso más de lo habitual. ○ Me canso más fácilmente que antes. ○ Me canso de hacer casi cualquier cosa. ○ Me siento muy cansado de hacer cualquier cosa y no puedo hacer nada. |
| 18 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Mi apetito es igual que siempre. ○ Mi apetito no es tan bueno como antes. ○ Casi no tengo apetito. ○ No tengo apetito en absoluto. |
| 19 | <ul style="list-style-type: none"> ○ No he perdido peso o casi nada. ○ He perdido más de 2.5 kg. ○ He perdido más de 5 kg. ○ He perdido más de 7.5 kg (Estoy a dieta SI___ NO___). |
| 20 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Mi salud me preocupa más que antes. ○ Me preocupan molestias como dolores de cabeza, malestar estomacal o estreñimiento. ○ Estoy tan preocupado por mis molestias físicas que es difícil que pueda pensar en otra cosa. ○ Estoy tan preocupado por mis molestias físicas que ya no puedo pensar en nada más. |
| 21 | <ul style="list-style-type: none"> ○ Mi interés por el sexo es igual que antes. ○ Estoy menos interesado en el sexo que antes. ○ Ahora estoy mucho más interesado en el sexo que antes. ○ He perdido completamente mi interés en el sexo. |

Anexo 6. Escala de Información Funcional Convergente para el suicidio de Niculescu y cols.

CONVERGENT FUNCTIONAL INFORMATION FOR SUICIDE (CFI-S) SCALE

Niculescu AB, Levey DF, Phalen PL, Le-Niculescu H, Dainton HD, Jain N, Belanger E, James A, George S, Weber H, Graham DL, Schweitzer R, Ladd TB, Learman R, Niculescu EM, Vanipenta NP, Khan FN, Mullen J, Shankar G, Cook S, Humbert C, Ballew A, Yard M, Gelbart T, Shekhar A, Schork NJ, Kurian SM, Sandusky GE, Salomon DR. Understanding and predicting suicidality using a combined genomic and clinical risk assessment approach. *Mol Psychiatry*. 2015 Aug 18. doi: 10.1038/mp.2015.112. [Epub ahead of print]. PMID: 26283638.

Los elementos se califican como 1 para sí y 0 para no. El puntaje total máximo posible es de 22. El puntaje final se divide entre el número de elementos puntuados. Algunos elementos pueden tener información no disponible y estos no se tomarán en cuenta.

| Elementos | Si | No | NA | Dominio | Tipo (Razones incrementadas IR; Barreras decrecientes DB) |
|---|----|----|----|----------------------|---|
| 1. Enfermedad psiquiátrica diagnosticada y tratada | | | | Salud mental | IR |
| 2. Con pobre obediencia al tratamiento | | | | Salud mental | DB |
| 3. Historia familiar de suicidio en parientes consanguíneos | | | | Salud mental | IR |
| 4. Conocer a alguien personalmente que haya cometido suicidio | | | | Factores culturales | DB |
| 5. Antecedente de abuso: sexual, físico, emocional, negligencia | | | | Satisfacción de vida | IR |
| 6. Enfermedad mental aguda o severa, incluyendo dolor (No puedo soportar este dolor) en los últimos 3 meses | | | | Salud física | IR |
| 7. Estrés agudo: pérdidas, dolor (en los últimos tres meses) | | | | Estrés ambiental | IR |
| 8. Estrés crónico: no sentirse necesitado, sentirse poco o nada útil | | | | Estrés ambiental | IR |
| 9. Antecedente de introversión excesiva, escurpulosidad (incluyendo intentos suicidas) | | | | Salud mental | IR |

| | | | | | |
|---|--|--|--|----------------------|----|
| 10. Insatisfacción con la vida en este momento | | | | Satisfacción de vida | IR |
| 11. Falta de esperanzas a futuro | | | | Satisfacción de vida | IR |
| 12. Abuso de sustancias actual | | | | Adicciones | DB |
| 13. Antecedente de comportamiento o intentos suicidas | | | | Salud mental | DB |
| 14. Falta de creencias religiosas | | | | Factores culturales | DB |
| 15. Estrés agudo: Rechazo (en los últimos tres meses) | | | | Estrés ambiental | IR |
| 16. Estrés crónico: falta de relaciones positivas, aislamiento social | | | | Estrés ambiental | DB |
| 17. Antecedente de extroversión excesiva y actos impulsivos (incluyendo ira, enojo, peleas físicas, búsqueda de venganza) | | | | Salud mental | DB |
| 18. Falta de habilidades de afrontamiento hacia el estrés (quiebre bajo presión) | | | | Salud mental | DB |
| 19. Falta de hijos. Si tiene hijos no mantiene contacto con ellos o no los cuida. | | | | Satisfacción de vida | DB |
| 20. Antecedente de alucinaciones con daño a si mismo | | | | Salud mental | IR |
| 21. Edad: Mayor de 60 y menor de 25 años | | | | Edad | IR |
| 22. Género: Masculino | | | | Género | DB |

Anexo 7. Formato de llamado de variantes (VCF).

| | | |
|-----------|-----------------------------------|--|
| 1: CHROM | 1 | Cromosoma en dónde se ubica la variante |
| 2: POS | 1053827 | Posición de la variante en el cromosoma |
| 3: ID | rs74685771 | Identificador de la variante |
| 4: REF | G | Alelo de referencia |
| 5: ALT | C | Alelo encontrado en la muestra |
| 6: QUAL | 856.77 | Score de calidad de la variante |
| 7: FILTER | PASS | Flag de calidad de la variante |
| 8:INFO | AC=1; | Número de alelos alternos encontrados |
| | AF=0.500; | Frecuencia alelica (alelo alternativo) |
| | AN=2; | Número total de alelos para una variante |
| | BaseQRankSum=-2.129 | Z-score de la calidad de las bases mapeadas en el alelo alternativo vs el alelo de referencia empleando una prueba de Wilcoxon |
| | ClippingRankSum=-0.286; | Z-score del número de lecturas con calidad de mapeo bajas para el alelo alternativo vs el alelo de referencia empleando una prueba de Wilcoxon |
| DB; | Indica si la variante pertenece a | |

| | | |
|----------|-----------------------|---|
| | | |
| | DP=63; | número de lecturas mapeadas en la posición de la variante |
| | FS=0; | P-value ajustado para determinar sesgo hacia una cadena de DNA empleando una prueba exacta de Fisher |
| | MLEAC=1; | Máxima verosimilitud esperada para el número de alelos observados (depende del número de muestras). |
| | MLEAF=0.500; | Máxima verosimilitud esperada para las frecuencias alélicas (depende del número de muestras). |
| | MQ=60.00; | Calidad media de mapeo en la posición de la variante. |
| | MQRankSum=-0.0.635; | Z-score de la calidad de mapeo las bases alineadas en el alelo alterno vs el alelo de referencia empleando una prueba de Wilcoxon |
| | QD=13.60; | Confianza del alelo observado (Quality over depth) |
| | ReadPosRankSum=0.621; | Z-score del sesgo posicional (con respecto de la longitud de la lectura) del alelo alternativo vs el alelo de referencia (depende del número de muestras) |
| | SOR=0.768; | Suma simétrica de la razón de momios del número de lecturas que presentan la variante cerca del final de la lectura, vs las lecturas que la presentan cerca del inicio de la lectura. |
| | VQSLOD=3.39; | Logaritmo de la razón de momios de que la variante sea verdadera vs que sea un falso positivo. |
| | culprit=qd | El descriptor que presentó la métrica más desfavorable |
| 9:FORMAT | GT | Genotipo |
| | AD | Profundidad de los alelos observados (Ref,Alt) |
| | DP | Profundidad total (número de lecturas) |
| | GQ | Calidad del genotipado |
| | PL | Verosimilitud de genotipos (Obs,Nul,Alt) |
| 10:g204 | 0/1 | Heterocigoto |

| | | |
|--|------------|---------------------------|
| | | |
| | 37,26 | (G)37 reads + (C)26 reads |
| | 63 | |
| | 99 | |
| | 885,0,1386 | |

ANEXO 8: Detalles de los genes que conforman el panel personalizado de secuenciación de exoma dirigido.

| Tipo | Gen | Cromosoma | Inicio | Final | Longitud (pb) | # de amplicones | Bases totales | Bases cubiertas | Bases no cubiertas | Cobertura general | # de exones |
|------|----------|-----------|-------------|-------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|--------------------|-------------------|-------------|
| GENE | JUN | chr1 | 58,780,791 | 58,784,047 | 3257 | 14 | 3373 | 3355 | 18 | 0.995 | 1 |
| GENE | GBP1 | chr1 | 89,052,319 | 89,065,230 | 12,912 | 19 | 3600 | 3600 | 0 | 1 | 11 |
| GENE | PTEN | chr10 | 87,863,625 | 87,971,930 | 108,306 | 45 | 9361 | 9158 | 203 | 0.978 | 12 |
| GENE | HTRA1 | chr10 | 122,458,551 | 122,514,907 | 56,357 | 13 | 2570 | 2174 | 396 | 0.846 | 9 |
| GENE | PAFAH1B2 | chr11 | 117,144,284 | 117,178,173 | 33,890 | 30 | 6863 | 6468 | 395 | 0.942 | 12 |
| GENE | PCDH9 | chr13 | 66,302,834 | 67,230,445 | 927,612 | 26 | 6477 | 6477 | 0 | 1 | 5 |
| GENE | LHFP | chr13 | 39,209,116 | 39,603,528 | 394,413 | 12 | 2358 | 2348 | 10 | 0.996 | 4 |
| GENE | FOXP3 | chr14 | 89,124,871 | 89,619,165 | 494,295 | 38 | 8492 | 8362 | 130 | 0.985 | 8 |
| GENE | SKA2 | chr17 | 59,109,857 | 59,155,260 | 45,404 | 15 | 3347 | 3331 | 16 | 0.995 | 5 |
| GENE | ALDH3A2 | chr17 | 19,648,136 | 19,685,760 | 37,625 | 22 | 4377 | 4352 | 25 | 0.994 | 12 |
| GENE | PIK3R5 | chr17 | 8,878,911 | 8,965,712 | 86,802 | 32 | 5612 | 5566 | 46 | 0.992 | 21 |
| GENE | MBP | chr18 | 76,978,827 | 77,133,708 | 154,882 | 33 | 7400 | 7111 | 289 | 0.961 | 12 |
| GENE | BCL2 | chr18 | 63,123,346 | 63,320,280 | 196,935 | 26 | 6770 | 6756 | 14 | 0.998 | 4 |
| GENE | AKT1S1 | chr19 | 49,869,033 | 49,878,459 | 9,427 | 17 | 3360 | 3249 | 111 | 0.967 | 9 |
| GENE | APOE | chr19 | 44,905,791 | 44,909,395 | 3,605 | 11 | 1760 | 1452 | 308 | 0.825 | 8 |
| GENE | SPTBN1 | chr2 | 54,456,317 | 54,671,446 | 215,130 | 68 | 14874 | 14838 | 36 | 0.998 | 38 |
| GENE | IL1B | chr2 | 112,829,751 | 112,836,843 | 7,093 | 9 | 1848 | 1848 | 0 | 1 | 7 |
| GENE | PKP4 | chr2 | 158,456,952 | 158,682,879 | 225,928 | 32 | 5871 | 5424 | 447 | 0.924 | 25 |
| GENE | GSK3B | chr3 | 119,821,321 | 120,095,823 | 274,503 | 35 | 7718 | 7489 | 229 | 0.97 | 12 |
| GENE | CD47 | chr3 | 108,043,091 | 108,094,200 | 51,110 | 28 | 5896 | 5620 | 276 | 0.953 | 11 |
| GENE | SLC4A4 | chr4 | 71,062,646 | 71,572,087 | 509,442 | 44 | 9310 | 8951 | 359 | 0.961 | 27 |
| GENE | ARHGAP26 | chr5 | 142,770,370 | 143,229,011 | 458,642 | 48 | 10191 | 10148 | 43 | 0.996 | 24 |
| GENE | ATP6VOE1 | chr5 | 172,983,771 | 173,035,445 | 51,675 | 6 | 1082 | 1082 | 0 | 1 | 4 |
| GENE | CD24 | chr6 | 106,969,831 | 106,976,855 | 7,025 | 15 | 3409 | 3145 | 264 | 0.923 | 6 |
| GENE | CD164 | chr6 | 109,366,514 | 109,382,812 | 16,299 | 20 | 3412 | 3412 | 0 | 1 | 8 |
| GENE | MARCKS | chr6 | 113,857,345 | 113,863,475 | 6,131 | 21 | 4406 | 4205 | 201 | 0.954 | 2 |
| GENE | IL6 | chr7 | 22,725,884 | 22,732,002 | 6,119 | 8 | 1434 | 1434 | 0 | 1 | 5 |
| GENE | PTK2 | chr8 | 140,657,900 | 141,002,216 | 344,317 | 46 | 6509 | 6246 | 263 | 0.96 | 37 |
| GENE | LPAR1 | chr9 | 110,873,252 | 111,038,998 | 165,747 | 14 | 3418 | 3345 | 73 | 0.979 | 5 |
| GENE | RECK | chr9 | 36,036,905 | 36,124,455 | 87,551 | 38 | 6857 | 6840 | 17 | 0.998 | 26 |
| GENE | MAOB | chrX | 43,766,610 | 43,882,450 | 115,841 | 19 | 3345 | 3345 | 0 | 1 | 15 |
| GENE | SAT1 | chrX | 23,783,158 | 23,786,226 | 3,069 | 9 | 1537 | 1537 | 0 | 1 | 7 |
| GENE | PGK1 | chrX | 77,910,739 | 78,129,295 | 218,557 | 16 | 2973 | 2973 | 0 | 1 | 11 |

ANEXO 9: Variantes exclusivas previamente reportadas del grupo de suicidio consumado.

| ID | Ubicación | Alelo | Efecto | Gen | AA | Codón | SIFT | PolyPhen | FA (1KG) | FA (GnomAD) |
|--------------|------------|----------|---------------------------------|----------|-------------|------------|------------------|---------------|----------|-------------|
| rs1232590837 | 82602-5874 | T | missense_variant | JUN | G/S | Ggc/Agc | tolerated(0.5) | benign(0.017) | - | 0 |
| rs1397173746 | 84024-5874 | A | 5_prime_UTR_variant | JUN | - | - | - | - | - | - |
| rs747396979 | 56120-8901 | CTTCTCT | inframe_deletion | GBP1 | LEEEV/LEEVE | GAAGtg/ctA | - | - | - | 7.96E-06 |
| rs17130717 | 58974-8901 | G | missense_variant | GBP1 | E/D | gaG/gaC | tolerated(0.3) | benign(0.009) | 0.009 | 0.01994 |
| rs35736544 | 63879-878 | A | 5_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | 0.0062 | - |
| rs34413673 | 63922-878 | GCGGCGGC | 5_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs889404566 | 63995-878 | A | 5_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs555895 | 61150-879 | G | intron_variant | PTEN | - | - | - | - | 0.4325 | 0.3733 |
| rs761378460 | 69417-879 | TTATT | 3_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs41284074 | 70015-879 | G | 3_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | 0.0431 | - |
| rs974736962 | 71325-879 | T | 3_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs948740450 | 61389-122 | A | upstream_gene_variant | HTRA1 | - | - | - | - | - | - |
| rs1214281338 | 14159-122 | G | intron_variant | HTRA1 | - | - | - | - | - | 3.98E-06 |
| rs1408457816 | 44460-117 | A | intron_variant | PAFAH1B2 | - | - | - | - | - | 0 |
| rs12273027 | 70475-117 | T | downstream_gene_variant | PAFAH1B2 | - | - | - | - | 0.0088 | - |
| rs570371151 | 76314-117 | C | upstream_gene_variant | SIDT2 | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| rs61905521 | 78304-117 | A | upstream_gene_variant | SIDT2 | - | - | - | - | 0.016 | - |
| rs985991772 | 43623-393 | C | 3_prime_UTR_variant | LHFPL6 | - | - | - | - | - | - |
| rs540687752 | 03337-396 | GGGGGG | upstream_gene_variant | LHFPL6 | - | - | - | - | - | - |
| rs1246155055 | 03347-396 | T | upstream_gene_variant | LHFPL6 | - | - | - | - | - | - |
| rs1017650634 | 04530-663 | T | 3_prime_UTR_variant | PCDH9 | - | - | - | - | - | - |
| rs957266665 | 25617-672 | T | missense_variant | PCDH9 | A/T | Gct/Act | tolerated(0.3) | damaging | - | 3.98E-06 |
| rs947750494 | 59527-891 | C | downstream_gene_variant | FOXP3 | - | - | - | - | - | - |
| rs1199530983 | 60925-891 | AAAAAA | downstream_gene_variant | FOXP3 | - | - | - | - | - | - |
| rs540682710 | 61537-891 | A | 3_prime_UTR_variant | FOXP3 | - | - | - | - | 0.001 | - |
| rs202116271 | 61587-891 | GTG | 3_prime_UTR_variant | FOXP3 | - | - | - | - | - | - |
| rs774391467 | 12379-894 | A | missense_variant | FOXP3 | K/M | aAg/aTg | deleterious(0.6) | benign(0.051) | - | 3.98E-06 |
| rs1319079155 | 05835-890 | C | intron_variant,NMD_transcript_v | PIK3R5 | - | - | - | - | - | - |
| rs182576547 | 09263-890 | A | intron_variant,NMD_transcript_v | PIK3R5 | - | - | - | - | 0.0006 | - |
| rs112515680 | 11601-891 | A | intron_variant,NMD_transcript_v | PIK3R5 | - | - | - | - | 0.003 | - |
| rs146742699 | 72006-196 | GCGGCGC | intron_variant | ALDH3A2 | - | - | - | - | 0.9922 | 0.003848 |
| rs1181766207 | 31049-591 | A | intron_variant | SKA2 | - | - | - | - | - | - |
| rs905223073 | 55390-591 | TTTTTTTT | upstream_gene_variant | PRR11 | - | - | - | - | - | - |
| rs117640948 | 26288-631 | A | 3_prime_UTR_variant | BCL2 | - | - | - | - | - | - |
| rs4987848 | 27683-631 | T | 3_prime_UTR_variant | BCL2 | - | - | - | - | 0.0014 | - |
| COSV61373122 | 27909-631 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs114373512 | 18708-633 | A | 5_prime_UTR_variant | BCL2 | - | - | - | - | 0.0343 | 0.006956 |
| rs368841079 | 84714-769 | C | intron_variant | MBP | - | - | - | - | - | - |
| rs114952201 | 90036-769 | T | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.0254 | 0.005853 |
| rs767145851 | 90109-769 | A | intron_variant | MBP | - | - | - | - | - | 2.50E-05 |
| rs549825712 | 13766-770 | A | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.001 | - |
| rs148530136 | 16383-770 | T | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.002 | - |
| rs768330784 | 16789-770 | TTTT | intron_variant | MBP | - | - | - | - | - | 4.15E-06 |
| rs138484926 | 16844-770 | G | synonymous_variant | MBP | R | cgG/cgC | - | - | 0.0058 | 0.01294 |
| rs117933381 | 66435-770 | A | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.0018 | 0.004672 |
| rs752409518 | 08608-449 | A | synonymous_variant | APOE | A | gcG/gcA | - | - | - | 8.18E-06 |
| rs1399588262 | 08698-449 | A | synonymous_variant | APOE | V | gtG/gtA | - | - | - | 0 |
| rs749202282 | 73191-498 | T | upstream_gene_variant | TBC1D17 | - | - | - | - | - | 3.21E-05 |
| rs728899 | 77981-498 | T | intron_variant | TBC1D17 | - | - | - | - | 0.0018 | - |
| rs13394958 | 58590-545 | T | 5_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0473 | - |
| rs6719237 | 21569-546 | T | intron_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0082 | - |
| rs896592935 | 30832-546 | A | intron_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | 3.14E-05 |
| rs114352511 | 56087-546 | G | intron_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0054 | - |
| rs185861084 | 56101-546 | G | intron_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs146042204 | 59293-546 | A | intron_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs17046095 | 60533-546 | A | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs929698729 | 68822-546 | C | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs561583220 | 58910-546 | AAT | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs72806656 | 69163-546 | G | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs8769 | 69173-546 | A | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0633 | - |
| rs180904302 | 70222-546 | C | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | 0.0014 | - |
| rs761948239 | 81442-112 | C | intron_variant | IL1B | - | - | - | - | - | 7.96E-06 |

| | | | | | | | | | | | |
|--------------|------------|----------|-----------------------------|----------|-----|---------|--------------|---------------|--------|--------|-----------|
| COSV54521804 | 35575-1124 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs62182660 | 57351-1584 | C | upstream_gene_variant | CCDC148 | - | - | - | - | - | - | - |
| COSV67677270 | 42571-1584 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs140542585 | 44304-1084 | C | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | 0.0008 | - |
| rs1456674998 | 44415-1084 | AAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs770386704 | 49694-1084 | C | intron_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - | 4.87E-05 |
| rs75680983 | 79908-1084 | T | intron_variant | CD47 | - | - | - | - | - | 0.0379 | - |
| rs556302460 | 23266-1194 | A | 3_prime_UTR_variant | GSK3B | - | - | - | - | - | 0.0006 | - |
| rs750822479 | 76531-1194 | T | intron_variant | GSK3B | - | - | - | - | - | - | 4.53E-05 |
| rs72971026 | 94530-1204 | A | upstream_gene_variant | GSK3B | - | - | - | - | - | 0.0184 | - |
| rs761573966 | 72766-7144 | G | missense_variant | SLC4A4 | I/V | Att/Gtt | tolerated(1) | benign(0.003) | - | - | 0.0001356 |
| rs72650362 | 72872-7144 | G | missense_variant | SLC4A4 | K/R | aAg/aGg | eterious(0) | bly_damag | 0.0016 | - | 0.002114 |
| rs990743061 | 47550-7154 | G | intron_variant | SLC4A4 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs773041908 | 70788-7154 | G | 3_prime_UTR_variant | SLC4A4 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs140027102 | 72124-7154 | G | downstream_gene_variant | SLC4A4 | - | - | - | - | - | 0.0004 | - |
| COSV99191734 | 13235-1424 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs55793640 | 14205-1434 | G | intron_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| COSV50825566 | 22270-1434 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs769286465 | 22272-1434 | - | intron_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs920935835 | 23846-1434 | G | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs770360432 | 25408-1434 | T | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs189191140 | 26219-1434 | A | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs114419174 | 34761-1734 | A | 3_prime_UTR_variant | ATP6V0E1 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs111388243 | 66735-1094 | AAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD164 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs11542731 | 66927-1094 | C | 3_prime_UTR_variant | CD164 | - | - | - | - | - | 0.0182 | - |
| rs57478604 | 67838-1094 | A | 3_prime_UTR_variant | CD164 | - | - | - | - | - | 0.0182 | - |
| COSV99248772 | 70494-1094 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs377505131 | 77889-1094 | C | intron_variant | CD164 | - | - | - | - | - | - | 7.96E-06 |
| rs1283299946 | 59440-1134 | C | intron_variant | MARCKS | - | - | - | - | - | - | - |
| rs893263671 | 60743-1134 | C | 3_prime_UTR_variant | MARCKS | - | - | - | - | - | - | - |
| rs552654189 | 60760-1134 | G | 3_prime_UTR_variant | MARCKS | - | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| rs1169322694 | 61087-1134 | - | 3_prime_UTR_variant | MARCKS | - | - | - | - | - | - | - |
| rs352083 | 61962-1134 | T | 3_prime_UTR_variant | MARCKS | - | - | - | - | - | 0.0523 | - |
| rs45448797 | 63218-1134 | C | downstream_gene_variant | MROCK1 | - | - | - | - | - | 0.001 | - |
| rs34827890 | 63595-1134 | C | downstream_gene_variant | MROCK1 | - | - | - | - | - | 0.0218 | - |
| rs1386740836 | 59630-1404 | C | missense_variant | PTK2 | N/D | Aac/Gac | lerated(0.1) | benign(0.095) | - | - | - |
| rs59811767 | 59657-1404 | AA | intron_variant | PTK2 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs41272411 | 62292-1404 | G | intron_variant | PTK2 | - | - | - | - | - | 0.0042 | - |
| rs73373526 | 18165-1404 | A | intron_variant | PTK2 | - | - | - | - | - | 0.026 | - |
| rs202046739 | 90533-1404 | C | intron_variant | PTK2 | - | - | - | - | - | 0.0014 | 0.001291 |
| rs139893051 | 37047-3604 | A | missense_variant | RECK | A/T | Gcc/Acc | lerated(0.4) | benign(0) | 0.0098 | - | 0.001454 |
| rs200662164 | 58823-3604 | G | e_region_variant,intron_var | RECK | - | - | - | - | - | - | 8.55E-06 |
| rs139106894 | 87911-3604 | T | synonymous_variant | RECK | L | ctC/ctT | - | - | - | 0.0014 | 0.0002311 |
| rs375477269 | 08146-3614 | A | missense_variant | RECK | V/I | Gtt/Att | lerated(0.1) | benign(0.091) | 0.0002 | - | 9.50E-05 |
| rs188160177 | 17183-3614 | A | e_region_variant,intron_var | RECK | - | - | - | - | - | 0.0004 | 0.0004313 |
| rs111613206 | 23054-3614 | A | 3_prime_UTR_variant | RECK | - | - | - | - | - | 0.006 | 0.001972 |
| rs79950608 | 73692-1104 | A | downstream_gene_variant | LPAR1 | - | - | - | - | - | - | - |
| rs34483952 | 42133-1104 | A | synonymous_variant | LPAR1 | N | aaC/aaT | - | - | - | 0.0106 | 0.00266 |
| rs35736544 | ATCH:8786 | A | upstream_gene_variant | KLLN | - | - | - | - | - | 0.0062 | - |
| rs34413673 | ATCH:8786 | GCGGCGGC | upstream_gene_variant | KLLN | - | - | - | - | - | - | - |
| rs889404566 | ATCH:8786 | A | upstream_gene_variant | KLLN | - | - | - | - | - | - | - |
| rs555895 | ATCH:8796 | G | intron_variant | PTEN | - | - | - | - | - | 0.4325 | - |
| rs761378460 | ATCH:8796 | TTATT | downstream_gene_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - | - |
| rs41284074 | ATCH:8796 | G | downstream_gene_variant | PTEN | - | - | - | - | - | 0.0431 | - |
| rs974736962 | ATCH:8797 | T | downstream_gene_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - | - |
| rs1251696044 | 85616-2374 | C | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | - | - | - |
| rs113541391 | 86237-2374 | A | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | - | 0.0178 | - |
| rs746228550 | 67196-4374 | T | 3_prime_UTR_variant | MAOB | - | - | - | - | - | 0.0003 | - |
| rs148113949 | 68646-4374 | C | e_region_variant,intron_var | MAOB | - | - | - | - | - | 0.017 | 0.004358 |
| rs751217398 | 69300-4374 | G | e_region_variant,intron_var | MAOB | - | - | - | - | - | 0.0003 | 6.15E-06 |
| rs1468252491 | 38794-4384 | T | intron_variant | MAOB | - | - | - | - | - | - | - |
| rs78165041 | 13798-7814 | A | synonymous_variant | PGK1 | S | tcG/tcA | - | - | - | 0.0042 | 0.0004256 |
| rs995427711 | 26346-7814 | G | downstream_gene_variant | TAF9B | - | - | - | - | - | - | - |

ANEXO 10: Variantes exclusivas previamente reportadas del grupo de suicidio con efecto regulatorio.

| ID | Posición | Alelo | Gen | Biotipo | FA (1000G) | FA (GnomAD) |
|--------------|------------------------|-----------|----------|--------------------------|------------|-------------|
| rs1232590837 | 1:58782602-58782602 | T | JUN | promoter | - | 0 |
| rs1397173746 | 1:58784024-58784024 | A | JUN | promoter | - | - |
| rs35736544 | 10:87863879-87863879 | A | PTEN | promoter | 0.0062 | - |
| rs34413673 | 10:87863922-87863931 | GCGGCGGC | PTEN | promoter | - | - |
| rs889404566 | 10:87863995-87863995 | A | PTEN | promoter | - | - |
| rs555895 | 10:87961150-87961150 | G | PTEN | promoter_flanking_region | 0.4325 | 0.3733 |
| rs41284074 | 10:87970015-87970015 | G | PTEN | enhancer | 0.0431 | - |
| rs948740450 | 10:122461389-122461389 | A | HTRA1 | promoter | - | - |
| rs1408457816 | 11:117144460-117144460 | A | PAFAH1B2 | promoter | - | 0 |
| rs12273027 | 11:117170475-117170475 | T | PAFAH1B2 | open_chromatin_region | 0.0088 | - |
| rs61905521 | 11:117178304-117178304 | A | PAFAH1B2 | promoter | 0.016 | - |
| rs540687752 | 13:39603337-39603338 | GGGGGG | LHFPL6 | promoter | - | - |
| rs1246155055 | 13:39603347-39603347 | T | LHFPL6 | promoter | - | - |
| rs540682710 | 14:89161537-89161537 | A | FOXN3 | open_chromatin_region | 0.001 | - |
| rs202116271 | 14:89161587-89161599 | GTG | FOXN3 | open_chromatin_region | - | - |
| rs774391467 | 14:89412379-89412379 | A | FOXN3 | promoter_flanking_region | - | 3.98E-06 |
| rs146742699 | 17:19672006-19672006 | GGCGGC | ALDH3A2 | promoter_flanking_region | 0.9922 | 0.003848 |
| rs905223073 | 17:59155390-59155391 | TTTTTTT | SKA2 | promoter | - | - |
| rs117640948 | 18:63126288-63126288 | A | BCL2 | enhancer | - | - |
| rs114373512 | 18:63318708-63318708 | A | BCL2 | promoter | 0.0343 | 0.006956 |
| rs728899 | 19:49877981-49877981 | T | AKT1S1 | promoter | 0.0018 | - |
| rs13394958 | 2:54558590-54558590 | T | SPTBN1 | promoter | 0.0473 | - |
| rs896592935 | 2:54630832-54630832 | A | SPTBN1 | promoter_flanking_region | - | 3.14E-05 |
| rs146042204 | 2:54659293-54659293 | A | SPTBN1 | promoter_flanking_region | - | - |
| rs62182660 | 2:158457351-158457351 | C | PKP4 | promoter | - | - |
| rs1456674998 | 3:108044415-108044448 | AAAAAAAAA | CD47 | open_chromatin_region | - | - |
| rs750822479 | 3:119876531-119876531 | T | GSK3B | enhancer | - | 4.53E-05 |
| rs72971026 | 3:120094530-120094530 | A | GSK3B | promoter | 0.0184 | - |
| rs555793640 | 5:143214205-143214205 | G | ARHGAP26 | promoter_flanking_region | 0.0002 | - |
| rs189191140 | 5:143226219-143226219 | A | ARHGAP26 | promoter_flanking_region | - | - |
| rs1283299946 | 6:113859440-113859440 | C | MARCKS | promoter | - | - |
| rs893263671 | 6:113860743-113860743 | C | MARCKS | promoter | - | - |
| rs552654189 | 6:113860760-113860760 | G | MARCKS | promoter | 0.0002 | - |
| rs1169322694 | 6:113861087-113861089 | - | MARCKS | promoter | - | - |
| rs352083 | 6:113861962-113861962 | T | MARCKS | promoter | 0.0523 | - |
| rs1386740836 | 8:140659630-140659630 | C | PTK2 | promoter_flanking_region | - | - |
| rs59811767 | 8:140669657-140669658 | AA | PTK2 | promoter_flanking_region | - | - |
| rs73373526 | 8:140818165-140818165 | A | PTK2 | enhancer | 0.026 | - |
| rs139893051 | 9:36037047-36037047 | A | RECK | promoter | 0.0098 | 0.001454 |
| rs111613206 | 9:36123054-36123054 | A | RECK | promoter_flanking_region | 0.006 | 0.001972 |
| rs1251696044 | X:23785616-23785616 | C | SAT1 | promoter | - | - |
| rs113541391 | X:23786237-23786237 | A | SAT1 | promoter | 0.0178 | - |

ANEXO 11: Variantes exclusivas previamente reportadas del grupo de pacientes psiquiátricos con ideación suicida.

| ID | Ubicación | Allele | Consequence | SYMBOL | AA | Codón | SIFT | PolyPhen | FA (1KG) | FA (gnomAD) |
|--------------|------------------------|-----------|-------------------------|----------|-----|----------------------------|------|----------|----------|-------------|
| rs4647009 | 1:58783688-58783688 | TGTG | 5_prime_UTR_variant | JUN | - | - | - | - | 0.8988 | - |
| rs1048815733 | 1:58784156-58784156 | G | upstream_gene_variant | JUN | - | - | - | - | - | - |
| rs2296884 | 1:89063311-89063311 | C | intron_variant | GBP1 | - | - | - | - | 0.0819 | - |
| rs17130722 | 1:89065177-89065177 | G | 5_prime_UTR_variant | GBP1 | - | - | - | - | 0.0813 | - |
| rs71022512 | 10:87864103-87864104 | - | 5_prime_UTR_variant | PTEN | - | - | - | - | 1 | - |
| rs201076013 | 10:87932975-87932979 | TTTTT | intron_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs571179150 | 10:87942808-87942809 | AAAAAAAAA | intron_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs1208681206 | 10:87960880-87960880 | C | intron_variant | PTEN | - | - | - | - | - | - |
| rs200142222 | 10:122489046-122489046 | T | intron_variant | HTRA1 | - | - | - | - | 0.0002 | 0.0001086 |
| COSV64564954 | 10:122489593-122489593 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs187664854 | 10:122506675-122506675 | A | intron_variant | HTRA1 | - | - | - | - | 0.0012 | 0.001715 |
| rs1160017010 | 11:117144457-117144457 | G | intron_variant | PAFAH1B2 | - | - | - | - | - | 0 |
| rs771942216 | 11:117174895-117174895 | A | upstream_gene_variant | SIDT2 | - | - | - | - | - | 7.16E-05 |
| rs61955830 | 13:66302961-66302961 | A | 3_prime_UTR_variant | PCDH9 | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| rs910014390 | 13:66303055-66303056 | TTTTT | 3_prime_UTR_variant | PCDH9 | - | - | - | - | - | - |
| rs55837718 | 13:66304261-66304276 | AAAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | PCDH9 | - | - | - | - | - | - |
| rs1323444834 | 13:66304286-66304286 | G | 3_prime_UTR_variant | PCDH9 | - | - | - | - | - | - |
| rs146618643 | 13:67228381-67228381 | A | synonymous_variant | PCDH9 | S | tcC/tcT | - | - | 0.0018 | 0.002124 |
| rs201008151 | 14:89161306-89161311 | TTTTTT | downstream_gene_variant | FOXN3 | - | - | - | - | - | - |
| rs1479402894 | 14:89161585-89161599 | GTG | 3_prime_UTR_variant | FOXN3 | - | - | - | - | - | - |
| rs796371053 | 14:89161591-89161599 | GTG | 3_prime_UTR_variant | FOXN3 | - | - | - | - | - | - |
| rs749220881 | 14:89619037-89619037 | T | 5_prime_UTR_variant | FOXN3 | - | - | - | - | - | - |
| rs1158083802 | 14:89619110-89619110 | T | 5_prime_UTR_variant | FOXN3 | - | - | - | - | - | - |
| COSV99353191 | 17:8886307-8886307 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs1031238858 | 17:8965520-8965520 | C | intron_variant | PIK3R5 | - | - | - | - | - | - |
| rs60107647 | 17:19673387-19673388 | TTTTTTTTT | intron_variant | ALDH3A2 | - | - | - | - | - | - |
| rs4648606 | 17:19677613-19677614 | TTTTTTTTT | downstream_gene_variant | ALDH3A2 | - | - | - | - | - | - |
| rs962560312 | 18:63123435-63123439 | ACAAA | 3_prime_UTR_variant | BCL2 | - | - | - | - | - | - |
| rs202112192 | 18:63127091-63127092 | TTTTTTTTT | 3_prime_UTR_variant | BCL2 | - | - | - | - | - | - |
| rs34008680 | 18:76979962-76979963 | AAAAAAAAA | downstream_gene_variant | MBP | - | - | - | - | - | 0.000272 |
| rs145141322 | 18:76980410-76980410 | T | 3_prime_UTR_variant | MBP | - | - | - | - | 0.0026 | 0.003618 |
| rs149486356 | 18:76984929-76984929 | A | intron_variant | MBP | - | - | - | - | - | - |
| rs145031965 | 18:77016784-77016785 | TT | intron_variant | MBP | - | - | - | - | - | 0.03357 |
| rs145604835 | 18:77066253-77066253 | A | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.0108 | 0.003308 |
| rs78045313 | 18:77105297-77105297 | G | intron_variant | MBP | - | - | - | - | 0.0194 | 0.01827 |
| rs1370426995 | 19:44906802-44906802 | C | intron_variant | APOE | - | - | - | - | - | - |
| rs949418767 | 19:49877020-49877020 | T | upstream_gene_variant | TBC1D17 | - | - | - | - | - | - |
| rs1052627796 | 19:49877902-49877902 | G | intron_variant | TBC1D17 | - | - | - | - | - | - |
| rs1451463430 | 2:54456487-54456487 | A | 5_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| COSV61687908 | 2:54629894-54629894 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| rs5831316 | 2:54668789-54668791 | TTTTTTTTT | 3_prime_UTR_variant | SPTBN1 | - | - | - | - | - | - |
| rs145667254 | 2:112836614-112836620 | GAGAGAGAG | intron_variant | IL1B | - | - | - | - | - | - |
| rs79473991 | 2:158621197-158621197 | G | intron_variant | PKP4 | - | - | - | - | 0.0106 | 0.02032 |
| rs368532664 | 2:158666578-158666578 | G | intron_variant | PKP4-AS1 | - | - | - | - | - | 4.50E-06 |
| rs55777019 | 3:108044416-108044434 | AAAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - |
| rs1214884874 | 3:108044417-108044449 | AAAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - |
| rs1242632438 | 3:108044418-108044449 | AAAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - |
| rs1188297854 | 3:108044420-108044449 | AAAAAAAAA | 3_prime_UTR_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - |
| rs897282232 | 3:108058224-108058225 | AAAAAAAAA | intron_variant | CD47 | - | - | - | - | - | - |
| rs146013974 | 3:108058435-108058435 | A | splice_region_variant | CD47 | - | - | - | - | 0.0068 | 0.001629 |
| rs1231291191 | 4:71255253-71255253 | T | missense_variant | SLC4A4 | P/L | Cg/cTgterious(d benign(0) | - | - | - | 4.01E-06 |
| rs746413153 | 4:71563810-71563810 | G | synonymous_variant | SLC4A4 | S | tcA/tcG | - | - | - | 6.80E-05 |
| rs1578206972 | 4:71569546-71569546 | G | 3_prime_UTR_variant | SLC4A4 | - | - | - | - | - | - |
| rs1316220747 | 5:143037138-143037138 | C | intron_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - |
| rs1218508902 | 5:143223070-143223070 | T | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - |
| rs75900378 | 5:143224777-143224777 | T | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | 0.0274 | - |
| rs78962621 | 5:143228385-143228385 | A | 3_prime_UTR_variant | ARHGAP26 | - | - | - | - | - | - |
| rs879192170 | 6:106969972-106969972 | AAA | 3_prime_UTR_variant | CD24 | - | - | - | - | - | - |
| rs547325750 | 6:109382476-109382476 | AAA | upstream_gene_variant | CD164 | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| rs879867167 | 7:22731497-22731497 | G | missense_variant | IL6 | D/G | Ac/gGGrated(C benign(0) | - | - | - | - |
| rs185796736 | 8:140701018-140701018 | C | missense_variant | PTK2 | S/C | tCt/tGtterious(d benign(0) | - | - | 0.0002 | 0.0002392 |
| rs6476517 | 9:36056823-36056823 | G | intron_variant | RECK | - | - | - | - | 0.0312 | - |
| rs16932881 | 9:36063892-36063892 | C | intron_variant | RECK | - | - | - | - | 0.0312 | 0.007638 |
| rs200084594 | 9:36085559-36085560 | AAAAA | intron_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs984855921 | 9:36085731-36085731 | G | intron_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs534991649 | 9:36086134-36086134 | A | intron_variant | RECK | - | - | - | - | 0.0002 | - |
| rs914752261 | 9:36086210-36086210 | G | intron_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs896790734 | 9:36086262-36086262 | C | intron_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs1364423094 | 9:36121508-36121508 | A | intron_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs7042392 | 9:36123132-36123132 | C | 3_prime_UTR_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs10523829 | 9:36124053-36124057 | CT | 3_prime_UTR_variant | RECK | - | - | - | - | - | - |
| rs561484562 | 9:110972097-110972097 | A | synonymous_variant | LPAR1 | S | tcC/tcT | - | - | 0.0002 | 7.97E-06 |
| rs1047302919 | 9:111037942-111037942 | T | 5_prime_UTR_variant | LPAR1 | - | - | - | - | - | - |
| rs145980431 | X:23783385-23783385 | A | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | 0.0003 | 0.0002852 |
| rs762247036 | X:23783650-23783651 | CCCCC | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | - | 1.92E-05 |
| rs369343665 | X:23785374-23785374 | A | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | 0.0019 | 0.0001362 |
| rs757525953 | X:23785931-23785934 | T | downstream_gene_variant | Y_RNA | - | - | - | - | - | - |
| rs201652104 | X:43766575-43766576 | T | downstream_gene_variant | MAOB | - | - | - | - | - | - |
| rs200971609 | X:43781346-43781347 | AAAAAAAAA | intron_variant | MAOB | - | - | - | - | - | - |
| rs7892217 | X:43781557-43781557 | A | intron_variant | MAOB | - | - | - | - | 0.0781 | 0.0305 |

ANEXO 12. Diagrama de flujo detallado del análisis bioinformático.

