

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina



"Determinación y evaluación del papel de ApoA-1, ApoB, ApoE y 24S-Hidroxicolesterol en la neurobiología del suicidio y su uso como potenciales biomarcadores en pacientes con síndrome depresivo mayor."

Por:

M.C. María Fernanda Serna Rodríguez

Como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias con orientación en Biología Molecular e Ingeniería Genética

Monterrey, N.L

Julio 2024

**Determinación y evaluación del papel de ApoA-1, ApoB y
24S-Hidroxicolesterol en la neurobiología del suicidio y su uso como
potenciales biomarcadores en pacientes con síndrome depresivo mayor.**

Aprobación de la Tesis:



Dr. en C. Antonio Ali Pérez Maya
Director de Tesis



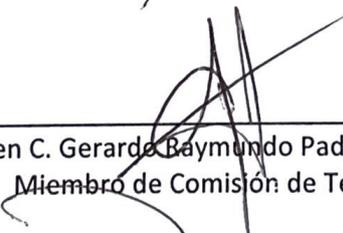
Dr. en C. Iván Alberto Marino Martínez
Co-Director de Tesis



Dr. med. José Alfonso Ontiveros Sánchez de la Barquera
Miembro de Comisión de Tesis



Dra. en C. Elvira Garza González
Miembro de Comisión de Tesis



Dr. en C. Gerardo Baymundo Padilla Rivas
Miembro de Comisión de Tesis



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

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mis padres, *Silvia y Protacio*, quienes me han apoyado incondicionalmente en cada etapa de mi vida. Estuvieron a mi lado en cada día bueno y malo, en las altas y las bajas. Gracias por estar pendiente de mí durante estos cuatro años, sin su apoyo nada de esto sería posible, los amo.

IN MEMORIAM

*En honor a mi abuelito Protasio Serna.
Aunque ya no estés físicamente con nosotros,
tu espíritu y cariño seguirán siempre conmigo.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer al *Dr. Antonio Alí Pérez Maya* por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme ser parte de su equipo de trabajo durante 6 años. Gracias por su apoyo, confianza, amistad y por la libertad que me dio de explotar mi creatividad científica. Siempre será un gusto trabajar con usted.

Al *Dr. Iván Marino*, *Dr. José Alfonso Ontiveros* y al *Dr. Ricardo Cerda*, gracias por su valioso tiempo, por la confianza que me dieron durante estos años, así como por sus consejos brindados desde la Maestría hasta el Doctorado.

Al *Dr. Mario Hernández* y *Dr. Gerardo Padilla* por su apoyo otorgado durante la realización de esta tesis, así como por la transmisión de conocimientos que fueron indispensables para la culminación de mis posgrados.

Quisiera agradecer también a la *Dra. Paula Cordero*, *Dra. Diana Rodríguez*, *Dra. Carmen Barboza* y la *Dra. Mónica Hernández* por abrirme las puertas de sus respectivos departamentos, así como por ayudarme con la recolección de muestras y escritura de artículos.

Gracias al equipo de trabajo encabezado por el *Dr. Alí: Toño, Rea, Jocelyn, Alondra y Larli*. Gracias por las pláticas, por hacer del laboratorio un lugar en armonía y por su apoyo a lo largo de mi estancia en Genómica y Bioinformática.

A mis amigos del departamento *Adriana, Cynthia, Michelle, Sofía, Paola, Antonio y Samuel* por las pláticas, las comidas, risas y apoyo tanto personal como profesional. Gracias por estar cuando los necesitaba y agradecida de conocerlos.

A mi familia, especialmente a mi hermana *Alejandra*, mi cuñado *Andrés* y mis *abuelitos Rodríguez* quienes son los que todos los días están al pendiente de mi y echándome porras en cada paso que doy. Su cariño y apoyo no tienen precio, los quiero mucho.

A mis amigos, ustedes saben quiénes son, la palabra gracias se queda corta. Ustedes son familia y siempre han estado a mi lado. Gracias por estar al pendiente de mí, por hacerme reír hasta llorar, por todos los buenos y malos momentos. Los adoro, sin duda alguna, mi vida no sería la misma sin ustedes en ella.

Gracias *Penélope, Taylor Swift* y *Checo Pérez* por mantener mi salud mental estable.

Gracias a todos por tanto

ÍNDICE

	Página
Lista de Figuras	VI
Lista de Tablas	VII
Abreviaturas y Símbolos	IX
Capítulo I.- Introducción	
1.1 Epidemiología mundial del suicidio	1
1.2 Epidemiología del suicidio en México	1
1.3 Factores de riesgo	2
1.3.1 Factores psiquiátricos	4
1.3.1.1 Síndrome Depresivo Mayor	4
1.3.1.2 Depresión Mayor	5
1.3.1.3 Trastorno Bipolar	5
1.3.2 Factores genéticos y biológicos	6
1.4 Ideación y conducta suicida	6
1.5 Evaluación de riesgo suicida	7
1.5.1 Entrevista clínica	7
1.5.2 Escalas de evaluación	8
1.6 Medicina personalizada hacia la prevención del suicidio	9
1.6.1 Búsqueda de biomarcadores asociados al suicidio	9
1.7 Niveles séricos de colesterol y el suicidio.	10
1.7.1 24S-Hidroxicolesterol.	11
1.7.2 ApoA-1 y el eflujo del colesterol.	11
1.7.3 Apolipoproteína B	12
1.7.4 Apolipoproteína E	13

Capítulo II.- Justificación	14
Capítulo III.- Hipótesis	16
Capítulo IV.- Objetivos	
4.1 Objetivo General	17
4.2 Objetivos Específicos	17
Capítulo V.- Diseño Experimental	
5.1 Estrategia general	18
5.2 Diseño del experimento	19
5.3 Muestra de estudio	20
5.3.1 Criterios de inclusión	21
5.3.2 Criterios de exclusión	21
5.3.3 Criterios de eliminación	21
Capítulo VI.- Materiales	
6.1 Material biológico	22
6.2 Material de laboratorio	22
6.3 Equipos	23
6.4 Reactivos y kits	24
Capítulo VII.- Métodos	
7.1 Entrevista clínica y aplicación de escalas de evaluación psiquiátrica.	26
7.2 Selección de muestras	27
7.3 Extracción de ADN	27
7.3.1 Extracción de ADN de biopsias de tejido.	27
7.3.2 Extracción de ADN de sangre periférica mediante la técnica fenol-cloroformo.	28
7.3.3 Extracción de ADN de sangre periférica mediante kit de extracción.	29
7.3.4 Control de calidad de las muestras de ADN	30
7.4 Recolección de suero	31

7.5 Determinación de 24S-Hidroxicolesterol, ApoA-1, ApoB y ApoE sérico mediante ELISA.	31
7.5.1 Determinación de 24S-Hidroxicolesterol sérico.	31
7.5.2 Determinación de ApoA-1 sérico.	32
7.5.3 Determinación de ApoB sérico.	34
7.5.4 Determinación de ApoE sérico.	35
7.6 Genotipificación mediante qPCR.	37
7.6.1 Análisis de polimorfismos.	37
7.7 Evaluación de variantes asociadas al suicidio en <i>APOE</i> derivadas de SNG.	40
Capítulo VIII.- Resultados	
8.1 Control de calidad de banco de muestras.	43
8.2 Características clínicas, patológicas y epidemiológicas de la población en estudio.	44
8.3 Evaluar la posible asociación de los niveles séricos de 24S-Hidroxicolesterol, ApoA-1, ApoB y ApoE con el síndrome depresivo mayor y el suicidio.	47
8.3.1 Niveles séricos de 24S-Hidroxicolesterol.	47
8.3.2 Niveles séricos de Apolipoproteína A1.	50
8.3.3 Niveles séricos de Apolipoproteína B.	53
8.3.4 Niveles séricos de Apolipoproteína E.	55
8.4 Identificar mediante qPCR polimorfismos en el gen <i>CYP46A1</i> para determinar su relación con los niveles de 24S-Hidroxicolesterol y su probable asociación con el síndrome depresivo mayor y el suicidio.	59
8.4.1 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs754203 de <i>CYP46A1</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	59
8.4.2 Análisis en base a género para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs754203 de <i>CYP46A1</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	60

8.4.3 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs754203 que mostró asociación con el suicidio.	60
8.4.4 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs4900442 de <i>CYP46A1</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	61
8.4.5 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs4900442 que mostró asociación con el suicidio.	62
8.5 Evaluar variantes asociadas al suicidio derivadas de SNG del gen <i>APOE</i> en muestras de pacientes con diagnóstico de DM con y sin ideación suicida.	63
8.5.1 Control de calidad de las lecturas de secuenciación.	63
8.5.2 Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia.	63
8.5.3 Identificación de las variantes genómicas asociadas al suicidio.	64
8.5.4 Selección de las variantes con posible asociación al suicidio.	65
8.5.5 Genotipificación mediante qPCR de las variantes seleccionadas en casos (muerte por suicidio) vs controles.	67
8.5.5.1 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs7412 de <i>APOE</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	67
8.5.5.2 Análisis en basado en sexo para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs7412 de <i>APOE</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	67
8.5.5.3 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs7412 que mostró asociación con el suicidio.	68
8.5.5.4 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs405509 de <i>APOE</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	69
8.5.5.5 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs405509.	69

8.5.5.6 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs440446 de <i>APOE</i> en casos (muerte por suicidio) vs controles.	70
8.5.5.7 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs440446.	71
8.6 Integrar los resultados obtenidos para proponer un perfil de potenciales biomarcadores para el diagnóstico de síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida.	71
8.6.1 Relación entre los genotipos de SNPs del <i>CYP46A1</i> y los niveles séricos de 24S-OHC.	72
8.6.2 Relación entre los genotipos de SNPs de <i>APOE</i> y los niveles séricos de ApoE.	73
Capítulo IX.- Discusión	75
Capítulo X.- Conclusiones	81
Capítulo XI.- Perspectivas	83
BIBLIOGRAFÍA	84
ANEXOS	91

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estrategia general.	19
Figura 2. Localización de los polimorfismos en el gen <i>CYP46A1</i> .	38
Figura 3. Sondas TaqMan®.	39
Figura 4. Gráfica de discriminación alélica.	40
Figura 5. Genómica Funcional Convergente.	41
Figura 6. Amplificación mediante PCR de β -globina en muestras de casos y controles.	44
Figura 7. Niveles séricos de 24S-OH-Chol en pacientes con SDM vs Controles.	47
Figura 8. Niveles séricos de 24S-OH-Chol según el sexo.	48
Figura 9. Niveles séricos de 24S-OH-Chol en muestras de pacientes según la severidad de la depresión.	49
Figura 10. Niveles séricos de 24S-OH-Chol y la ideación/conducta suicida.	49
Figura 11. Niveles séricos de ApoA1 en pacientes con SDM vs Controles.	50
Figura 12. Niveles séricos de ApoA1 según sexo.	51
Figura 13. Niveles séricos de ApoA1 en muestras de pacientes según la severidad de la depresión.	52
Figura 14. Niveles séricos de ApoA1 y la ideación/conducta suicida.	52
Figura 15. Niveles séricos de ApoB en pacientes con SDM vs Controles.	53
Figura 16. Niveles séricos de ApoB según sexo.	54
Figura 17. Niveles séricos de ApoB en muestras de pacientes según la severidad de la depresión.	55
Figura 18. Niveles séricos de ApoB y la ideación/conducta suicida.	55
Figura 19. Niveles séricos de ApoE en pacientes con SDM vs Controles.	56
Figura 20. Niveles séricos de ApoE según sexo.	57
Figura 21. Niveles séricos de ApoE en muestras de pacientes según la severidad de la depresión.	58
Figura 22. Niveles séricos de ApoE y la ideación/conducta suicida.	58
Figura 23. Relación entre genotipos de los SNPs rs754203 y rs490042 de <i>CYP46A1</i> con los niveles séricos de 24S-OHC.	73

Figura 24.	Relación entre genotipos de los SNPs rs7412, rs405509 y rs440446 de <i>APOE</i> con los niveles séricos de ApoE.	74
-------------------	--	----

LISTA DE TABLAS

	Página	
Tabla 1.	Factores de riesgo asociados al suicidio.	3
Tabla 2.	Aspectos que evaluar en un paciente con ideación y/o conductas suicidas.	8
Tabla 3.	Criterios de inclusión para muestras, pacientes y controles.	21
Tabla 4.	Criterios de exclusión para muestras, pacientes y controles.	21
Tabla 5.	Condiciones de reacción para la amplificación de β -globina.	31
Tabla 6.	Programa de temperaturas para la amplificación de β -globina.	31
Tabla 7.	Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP).	37
Tabla 8.	Condiciones de genotipificación por PCR-Tiempo Real.	38
Tabla 9.	Programa de temperaturas para la genotipificación.	38
Tabla 10.	Características clínicas y demográficas de casos y controles.	45
Tabla 11.	Características psicosociales de casos y controles.	46
Tabla 12.	Frecuencias genotípicas de rs754203 en casos (muerte por suicidio) y controles.	59
Tabla 13.	Frecuencias genotípicas de rs754203 en hombres en muestras de casos (muerte por suicidio) y controles.	60
Tabla 14.	Frecuencias genotípicas de rs754203 en pacientes y controles.	61
Tabla 15.	Frecuencias genotípicas de rs4900442 en casos (muerte por suicidio) y controles.	62
Tabla 16.	Frecuencias genotípicas de rs4900442 en pacientes y controles.	62
Tabla 17.	Variantes en <i>APOE</i> encontradas en el grupo de suicidio consumado.	65
Tabla 18.	Variantes en <i>APOE</i> encontradas en el grupo de controles.	65
Tabla 19.	Variantes en <i>APOE</i> que fueron seleccionadas con posible asociación al suicidio.	66

Tabla 20.	Frecuencias genotípicas de rs7412 en casos (muerte por suicidio) y controles.	67
Tabla 21.	Frecuencias genotípicas de rs7412 en mujeres en muestras de casos (muerte por suicidio) y controles.	68
Tabla 22.	Frecuencias genotípicas de rs7412 en pacientes y controles.	68
Tabla 23.	Frecuencias genotípicas de rs405509 en casos (muerte por suicidio) y controles.	69
Tabla 24.	Frecuencias genotípicas de rs405509 en pacientes y controles.	70
Tabla 25.	Frecuencias genotípicas de rs440446 en casos (muerte por suicidio) y controles.	70
Tabla 26.	Frecuencias genotípicas de rs440446 en pacientes y controles.	71
Tabla 27.	Biomarcadores del metabolismo del colesterol en pacientes con SDM.	72

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ABCA-1	Transportador dependiente de ATP
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ApoA-1	Apolipoproteína A1
ApoB	Apolipoproteína B
ApoE	Apolipoproteína E
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BWA	Burrow-Wheeler Aligner
CFG	Genómica Funcional Convergente
CFI-S	Información Funcional Convergente
Chr	Cromosoma
C-SSRS	Escala de Gravedad de Suicidio de Columbia
CYP46A1	Citocromo P450 46A1
DM	Depresión Mayor
dsRNA	ADN de doble cadena
DO	Densidad óptica
DP	Depth coverage
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EHW	Equilibrio de Hardy-Weinberg
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
Fwd	Forward
HDL	Lipoproteína de alta densidad
IC	Intervalo de confianza
IDB	Escala de Desesperanza de Beck
IMC	Índice de masa corporal
IS	Ideación suicida
kDA	Kilodalton
kg	Kilogramo
LCAT	Lecitin colesterol aciltransferasa

LDL	Lipoproteína de baja densidad
Lnc	Largo no codificante
M	Molar
Min.	Minuto
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
μL	Microlitro
μM	Micromolar
NaCl	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
ng	Nanogramo
OR	Odds ratio
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Px	Paciente
qPCR	PCR-Tiempo real
RAI	Red de Apoyo a la Investigación
Rev	Reverse
RNA	Ácido ribonucleico
rpm	Revoluciones por minuto
SAM	Sequence Alignment/Map
SDM	Síndrome Depresivo Mayor
SNC	Sistema Nervioso Central
SNG	Secuenciación de Nueva Generación
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
TB	Trastorno Bipolar
TGS	Targeted Gene Sequencing
24S-OHC	24S-Hidroxicolesterol

RESUMEN

"Determinación y evaluación del papel de ApoA-1, ApoB, ApoE y 24S-hidroxicolesterol en la neurobiología del suicidio y su uso como potenciales biomarcadores en pacientes con síndrome depresivo mayor."

Nombre: M.C. María Fernanda Serna Rodríguez

Institución: Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina

Localización: Monterrey, Nuevo León

Fecha de titulación: 2024

Introducción: Anualmente, alrededor de 703 000 personas se suicidan a nivel mundial, y muchas más lo intentan. A la fecha, no hay herramientas objetivas y confiables para evaluar y rastrear los cambios en el riesgo suicida sin preguntar directamente a las personas. En la búsqueda de posibles biomarcadores biológicos asociados al suicidio y/o trastornos psiquiátricos, se han explorado ampliamente los niveles séricos de colesterol. Varios estudios han sugerido que una alteración en el perfil de lípidos puede ocurrir a personas con este tipo de trastornos; sin embargo, esta sigue siendo controversial y muy heterogénea entre poblaciones y respecto al género.

Objetivo: Identificar la posible asociación entre biomarcadores del metabolismo del colesterol y el suicidio en la población mexicana con síndrome depresivo mayor.

Métodos: Se analizaron 620 muestras de sangre periférica divididas en tres grupos: 247 personas fallecidas por suicidio, 168 pacientes con síndrome depresivo mayor y 205 controles sanos. Se recolectó suero y ADN para evaluar biomarcadores moleculares mediante ELISA y biomarcadores genéticos mediante secuenciación de exoma dirigido y genotipificación por PCR-tiempo real.

Resultados: Se identificaron como factores de riesgo demográficos y psicosociales significativos el ser hombre joven adulto, el antecedente de abuso, y la percepción de rechazo o inutilidad. Los niveles séricos de ApoA-1 estaban significativamente disminuidos en pacientes con IS, mientras que los niveles de ApoB eran significativamente menores en pacientes con depresión grave. En cuanto a los biomarcadores genéticos, se analizaron 2 SNPs en el gen *CYP46A1* donde el polimorfismo rs754203, el alelo variante G se encontró asociado en personas que se habían suicidado representando un riesgo 2.059 veces más alto al presentar el genotipo homocigoto variante G/G. Para este mismo SNP, en hombres vimos que el genotipo A/G presentaban un riesgo 2 veces mayor a riesgo suicida. Por otro lado, se evaluaron 3 SNPs en el gen *APOE*, de los cuales para polimorfismo rs7412, el genotipo homocigoto T/T se encontró con probable asociación a riesgo 4 veces mayor en mujeres.

Conclusiones: La ideación y conducta suicida se pueden ver influenciados por factores clínicos y psicosociales, siendo estos de gran importancia al momento de realizar una evaluación clínica para así brindar un tratamiento adecuado. Los pacientes con IS presentaron niveles séricos disminuidos de ApoA-1 y los pacientes con depresión grave mostraron niveles séricos de ApoB disminuidos en comparación de aquellos con depresión leve. Reportamos la primera probable asociación entre los portadores del alelo G (A/G + G/G) de rs754203 de *CYP46A1* con un mayor riesgo de suicidio, principalmente en hombres. Para el polimorfismo rs7412 del gen *APOE*, el genotipo homocigoto T/T se encontró con probable asociado de un riesgo 4 veces mayor sobre la población en general en mujeres.



Dr. en C. Antonio Ali Pérez Maya
Director de Tesis

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Epidemiología mundial del suicidio.

El suicidio se define como la muerte autoinfligida con evidencia de intención explícita de terminar con la vida ^[1]. Esta categoría incluye todas las muertes que son resultado directo o indirecto de acciones llevadas a cabo por la propia víctima, quien la mayoría de las veces es consciente de la meta que desea lograr ^[2].

A nivel mundial, aproximadamente 703 000 personas se quitan la vida cada año y muchas más lo intentan, lo que representa una muerte cada 40 segundos. En el 2019, el suicidio fue la cuarta causa principal de mortalidad en el grupo etario de 15 a 29 años en todo el mundo ^[3]. Se estima que, por cada adulto que se suicida, posiblemente más de 20 intentan hacerlo ^[4].

Las tasas de suicidio en hombres son significativamente más altas en comparación con las mujeres, donde el 77% de aquellos que mueren por suicidio en el primer intento son hombres ^[4]. El suicidio no solo se produce en los países de altos ingresos, sino que es un fenómeno global que afecta a todas las regiones del mundo. En 2019, más del 77% de los suicidios en todo el mundo tuvieron lugar en países de ingresos bajos y medios ^[3].

1.2 Epidemiología del suicidio en México.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, México ha mostrado una tendencia constante al aumento en la prevalencia de suicidios desde el decenio 1990-1999. A partir del 2000, el incremento se ha acentuado en la población más joven ^[5].

En el 2022 se registraron 8 123 fallecimientos por lesiones autoinfligidas en el país, lo que representa una tasa de 6.3 fallecidos por cada 100 000 habitantes. La muerte por suicidio es más frecuente en hombres, donde la tasa es de 9.9 suicidios por cada 100 000 hombres, mientras que en las mujeres es de 2.1 por cada 100 000 mujeres ^[6].

En relación con la edad, el grupo de 25 a 29 años es el grupo con mayor riesgo de fallecimiento por suicidio, con una tasa de 11.6 por cada 100 mil habitantes de ese rango de edad. En el caso de los hombres de este grupo de edad, el aumento a riesgo de suicidio aumentó de 12.4 en 2015 a 16.2 en el 2021 por cada 100 mil habitantes, representando así la tercera causa de muerte en hombres de este grupo etario en México ^[6].

1.3 Factores de riesgo.

Se reconoce que la problemática del suicidio es compleja e involucra dimensiones sociales, psicológicas y biológicas, las cuales se interrelacionan entre sí, generando como efecto el intento de quitarse la propia vida ^[5].

Dentro de los factores de riesgo destacan los relacionados a la salud, factores ambientales, así como los eventos negativos o estresantes de vida (Tabla 1). Se sabe que el 75% de las personas que tienen intentos suicidas presentan antecedentes de algún trastorno psiquiátrico. Los intentos previos de suicidio son uno de los principales factores de riesgo. Estimaciones recientes sugieren que el riesgo de repetir un intento después de ser hospitalizado por esa causa puede ser tan elevado como del 30%, y el riesgo de cometer suicidio puede llegar al 10% en estos pacientes ^[5, 7].

Tabla 1. Factores de riesgo asociados al suicidio.

Factores de salud	Factores ambientales	Historial y eventos negativos
<ul style="list-style-type: none"> • Depresión • Trastorno bipolar • Esquizofrenia • Abuso de sustancias • Rasgos de personalidad (agresión) • Desordenes de conducta • Ansiedad 	<ul style="list-style-type: none"> • Estrés prolongado (acoso, intimidación, problemas de relación o desempleo). • Eventos estresantes de la vida como rechazo, divorcio, crisis financiera, entre otras pérdidas de la vida. • Exposición al suicidio de otra persona. 	<ul style="list-style-type: none"> • Intentos previos de suicidio. • Antecedentes familiares de suicidio. • Abuso infantil, negligencia o trauma.

American Foundation for Suicide Prevention (2019). Risk factors and warning signs.

Dentro de los factores demográficos, los más importantes son el género y la edad. A nivel mundial, la tasa de suicidio consumado es tres veces mayor en hombres que en mujeres. Esto se debe a que los hombres emplean métodos más violentos como el uso de armas de fuego, el ahorcamiento o la precipitación desde edificios altos, mientras que las mujeres suelen emplear métodos menos letales como la sobredosis de venenos o medicamentos, así como incisiones con elementos cortantes. Por ello, las mujeres presentan una tasa de intentos y de ideación suicida 3-4 veces mayor que los hombres [8].

Las etapas de la vida con más riesgo de intentos y de suicidios consumados a lo largo de la vida son la adolescencia y la senectud. La presencia de suicidios disminuye entre los 45 y 60 años, y se vuelve a manifestar en la edad senil, a partir de los 65 años [2, 9]. Se estima que el 36.8% de los suicidios se producen en edades comprendidas entre los 25 y 44 años, y un 25.6% entre los 45 y 59 años. Entre las personas de 60 años o más, ocurren alrededor de 19.9% de los suicidios, sin embargo, las personas de 70 años o mayores presentan una tasa de suicidio de 12.4 por 100 000, la más elevada entre los diferentes grupos de edades [9].

1.3.1 Factores psiquiátricos.

Los factores de riesgo psiquiátricos relacionados con el comportamiento suicida son múltiples y complejos, y varían según la enfermedad en el eje psiquiátrico y su interacción con variables sociodemográficas, físicas, biológicas y culturales propias de cada individuo [5].

Las enfermedades con las cuales 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 [5].

Se estima que más del 90% de las personas que se suicidan tenían una enfermedad mental en el momento de su muerte, siendo la depresión la más común. Lamentablemente, estos trastornos a menudo no se reconocen, no son diagnosticados correctamente o se tratan de manera inadecuada. Después de la depresión, los trastornos más comunes asociados al suicidio son otros trastornos del estado de ánimo como el trastorno bipolar, los trastornos por consumo de sustancias, la esquizofrenia y los trastornos de la personalidad [10].

1.3.1.1 Síndrome depresivo mayor.

El síndrome depresivo mayor es una agrupación de signos y síntomas en el que predominan los síntomas afectivos, tales como la tristeza profunda, irritabilidad, desesperanza, odio a sí mismo y la culpa. En mayor o menor grado, también están presentes síntomas de tipo cognitivo y pérdida de placer o interés, fatiga, pensamientos de muerte o suicidio, pérdida de apetito e insomnio [10, 11]. El síndrome depresivo mayor se encuentra en diversos trastornos psiquiátricos, tales como la Depresión Mayor (DM) y el Trastorno Bipolar (TB).

1.3.1.2 Depresión Mayor.

La depresión es uno de los factores más frecuentemente relacionados con la conducta suicida, siendo ésta el resultado de la confluencia de situaciones y factores que pueden generar un abanico de condiciones clínicas que pueden ir desde la simple ideación pasajera hasta la muerte por suicidio ^[11].

Los pacientes que padecen de un trastorno depresivo mayor tienen varios factores de riesgo para presentar comportamientos suicidas. Entre estos factores, está la personalidad agresiva/impulsiva y la presencia de síntomas psicóticos comórbidos. Además, tener antecedentes de eventos negativos tempranos en la vida, historia familiar de trastornos afectivos o suicidios consumados, intentos de suicidio previos, inicio temprano del cuadro depresivo, y la desesperanza propia de la depresión ^[5]. Se estima que un 15% de las personas que padecen DM llegarán a fallecer por suicidio ^[10].

1.3.1.3 Trastorno bipolar.

El trastorno bipolar es una enfermedad mental que causa cambios extremos en el estado de ánimo que comprenden altos emocionales (manía o hipomanía), así como episodios depresivos mayores que consisten en síntomas que son lo suficientemente graves para causar dificultades evidentes en las actividades cotidianas. Dichos episodios pueden cursar con los síntomas ya mencionados como estado de ánimo depresivo, marcada pérdida del interés, sentimientos de inutilidad, culpa excesiva, así como pensar en el suicidio, planificarlo o llegar a intentarlo ^[12].

En los pacientes con trastorno bipolar, el riesgo de suicidio aumenta 15 veces más que en la población general y éste, en los periodos depresivos, es aún mayor ^[5].

1.3.2 Factores genéticos y biológicos.

Entre los aspectos biológicos asociados a las conductas suicidas se han estudiado diversos marcadores biológicos, para tratar de encontrar valores sensibles y específicos con la conducta suicida ^[5].

En las últimas tres décadas se ha visto que algunas anomalías en el funcionamiento del sistema serotoninérgico central están relacionadas con la conducta suicida. Estudios de asociación genética donde utilizan variantes genéticas como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), han demostrado que los genes contribuyen al riesgo de suicidio y han sugerido la relación de algunos genes, tales como los transportadores de serotonina, con el comportamiento suicida ^[10]. Estudios realizados en gemelos sugieren que hasta un 45% de las diferencias encontradas en la conducta suicida de los gemelos son explicadas por factores genéticos ^[8].

Ninguna variable biológica por sí sola es un predictor de la conducta suicida, aunque al combinarlas con el resto de los factores de riesgo, pudiera ser evidencia suficiente para desarrollar programas de prevención de este fenómeno ^[5].

1.4 Ideación y conducta suicida.

La ideación suicida (IS) es la consideración del suicidio, es decir, una preocupación sobre éste que va más allá de lo usual. Por otro lado, el intento suicida es la conducta de un sujeto que trata de provocarse daño a sí mismo, con la intención deliberada y consciente de producir la muerte como resultado de dicha conducta ^[1, 13].

Entre las conductas relacionadas al suicidio se encuentran las siguientes ^[1, 13, 14, 15, 16]:

- Planeación suicida: formulación de un método específico a través del cual uno tiene la intención de morir.
- Muerte por suicidio: acto intencional de autolesión que resulta en la muerte.

- Intento abortado: cuando una persona comienza a tomar medidas para terminar con su vida, pero se detiene a sí mismo.
- Intento interrumpido: cuando una persona comienza a tomar medidas para terminar con su vida, pero alguien o algo lo detiene.
- Comunicación suicida: acto que puede ser verbal o no verbal y se puede definir como un suicidio amenazante (posible comportamiento suicida en el futuro cercano) o como un plan de suicidio (un método propuesto para un posible comportamiento suicida).

Por lo tanto, la ideación suicida es el primer elemento que se puede identificar en el proceso suicida. Un individuo con ideación suicida corre el riesgo de la muerte por suicidio dentro de un año y debe ser sujeto a una vigilancia particular.

1.5 Evaluación del riesgo suicida.

La evaluación del riesgo suicida 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 ^[8].

1.5.1 Entrevista clínica.

La entrevista clínica es el instrumento esencial en la valoración del riesgo suicida, supone el inicio de la interacción entre el paciente y el profesional, por lo que puede jugar un papel relevante en la reducción del riesgo suicida.

Durante la entrevista, es importante realizar una evaluación psicopatológica, así como la recolección de variables sociodemográficas y aquellos factores de riesgo y de protección que permitan un abordaje integral del riesgo de suicidio. En la Tabla 2 se detallan los aspectos clave que deben tenerse en cuenta en la evaluación del riesgo suicida ^[8]:

Tabla 2. Aspectos que evaluar en un paciente con ideación y/o conductas suicidas.

Datos personales	Factores de riesgo	Factores protectores	
<ul style="list-style-type: none"> - Sexo - Edad - País de origen - Grupo étnico - Estado civil - Ocupación 	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia de trastornos mentales - Intentos previos de suicidio - Historial familiar de suicidio - Enfermedad física, cronicidad, dolor o discapacidad - Antecedentes de suicidio en el entorno - Factores sociales y ambientales 	<ul style="list-style-type: none"> - Habilidades de resolución de problemas - Confianza en uno mismo - Habilidades sociales - Hijos - Calidad del apoyo familiar y social - Religión, espiritualidad o valores positivos - Valores culturales y tradiciones 	
Características de la ideación suicida	Características del intento suicida	Evaluación clínica	Tipo de conducta suicida
<ul style="list-style-type: none"> - Planificación - Evolución - Frecuencia - Valoración de la intencionalidad y determinación 	<ul style="list-style-type: none"> - Desencadenantes - Valoración de la intencionalidad - Letalidad de la conducta - Método - Actitud ante la conducta suicida actual - Despedida en los días previos 	<ul style="list-style-type: none"> - Alteración del nivel de conciencia - Afectación de la capacidad mental - Intoxicación por alcohol u otras drogas - Enfermedades mentales - Estado de ánimo - Planes de suicidio 	<ul style="list-style-type: none"> - Ideación suicida - Comunicación suicida - Conducta suicida

Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (2012). Guía de Práctica Clínica de Prevención y Tratamiento de la Conducta Suicida. Capítulo 4. Factores asociados con la conducta suicida y evaluación del riesgo suicida.

1.5.2 Escalas de evaluación.

Existen instrumentos como cuestionarios y escalas para la evaluación de riesgo suicida. La FDA actualmente promueve el uso de un cuestionario para las diferentes categorías de comportamiento suicida en todos los ensayos clínicos: la Escala de Gravedad de Suicidio de Columbia (C-SSRS) ^[10].

La C-SSRS fue diseñada por un grupo de científicos clínicos líderes de la Universidad de Columbia, la Universidad de Pennsylvania y la Universidad de Pittsburgh. La escala surgió por la necesidad de una herramienta para medir la gravedad de la ideación y conducta suicida. Esta escala apoya la evaluación del riesgo de suicidio a través de una serie de preguntas simples y en lenguaje sencillo que cualquiera puede formular. Las respuestas ayudan a los usuarios a identificar si alguien está en riesgo de suicidio, evaluar la gravedad

y la inmediatez de ese riesgo y así poder decidir el nivel de apoyo que el paciente necesita [10, 17].

Otra escala que es ampliamente utilizada es la escala de Desesperanza de Beck (IDB), la cual fue diseñada para medir el grado de pesimismo personal y las expectativas negativas hacia el futuro inmediato y a largo plazo. Esta escala consta de 20 preguntas de verdadero o falso. Cada respuesta se puntúa 0 o 1, por lo que el rango de puntuación oscila de 0 a 20. Una puntuación de 9 o mayor indica riesgo de suicidio [8].

1.6 Medicina personalizada hacia la prevención del suicidio.

Hasta la fecha, no hay herramientas objetivas y confiables para evaluar y rastrear los cambios en el riesgo suicida sin preguntar directamente a las personas. Tales herramientas son muy necesarias, ya que las personas en riesgo a menudo eligen no compartir su ideación o intención con los demás, por temor al estigma, la hospitalización o que sus planes puedan verse frustrados [18].

1.6.1 Búsqueda de biomarcadores asociados al suicidio.

Un biomarcador puede definirse como una molécula biológica que se encuentra en la sangre y otros líquidos o tejidos del cuerpo que mide y evalúa objetivamente un proceso biológico normal, procesos patógenos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. Para generalizar su uso, estos deben ser simples de detectar, no invasivos y baratos. Estos se pueden dividir en biomarcadores de detección, de diagnóstico y de pronóstico. Hablando sobre el suicidio, los biomarcadores también pueden dividirse en biomarcadores de diátesis (para evaluar quiénes están en riesgo suicida) y en biomarcadores de estrés (para ver cuándo el individuo intentará suicidarse) [19].

Dado que los biomarcadores deben ser fáciles de obtener, no invasivos y económicos, las investigaciones recientes se han centrado en la búsqueda de otros

biomarcadores putativos del comportamiento suicida, como colesterol reducido, ácidos grasos omega 3 o factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en suero o plasma [20].

De igual manera se han realizado diferentes estudios de asociación genética que utilizan variantes genéticas como los SNP donde han demostrado que varios genes, como aquellos que codifican proteínas involucradas en la regulación de la neurotransmisión serotoninérgica, contribuyen al riesgo suicida. Además, existen investigaciones donde estudiaron variables como factores genéticos, historial de abuso sexual o de sustancias en familias, así como a gemelos, incluso estudios en personas adoptadas, que sugieren fuertemente la heredabilidad al suicidio [10].

1.7 Niveles de colesterol sérico y el suicidio.

En la búsqueda de posibles biomarcadores biológicos asociados al suicidio y/o trastornos psiquiátricos, se han explorado ampliamente los niveles séricos de colesterol. Varios estudios han sugerido que una alteración en el perfil de lípidos puede ocurrir en personas con este tipo de trastornos. Algunas investigaciones han reportado la relación entre el suicidio y los niveles bajos del colesterol en plasma o suero [21].

La relación entre los niveles bajos de colesterol y el comportamiento suicida no está clara, pero se ha visto que pacientes con antecedentes de intentos suicidas presentan concentraciones de colesterol significativamente bajas en comparación con los que no han presentado alguna conducta suicida [22, 23]. Cho *et al.* evaluaron niveles séricos de LDL en hombres y mujeres donde reportaron asociación de niveles <100 mg/dL en hombres con ideación suicida (OR: 1.97, IC 1.30 - 3.01); sin embargo, al realizar el análisis en mujeres no encontraron una asociación [71].

Además, algunos estudios como el de PF Edgar *et al.* han demostrado que el nivel de colesterol sérico fue significativamente más bajo en pacientes con intento violento suicida que aquellos con intento no violento. Ellos reportan el estado de hipocolesterolemia

asociado al comportamiento suicida violento. De igual manera, en un estudio con pacientes depresivos vieron que existían diferencias significativas entre los niveles séricos de colesterol entre aquellos pacientes suicidas y los deprimidos no suicidas [10, 33].

1.7.1 24S-hidroxicolesterol.

En el cerebro, el colesterol procedente de neuronas lesionadas o muertas se convierte en 24S-hidroxicolesterol (24S-OHC) a través de la hidroxilación de cadena lateral mediado por 24-hidroxilasa codificada por el gen *CYP46A1*. El 24S-OHC es el oxiesterol derivado del colesterol más abundante en el sistema nervioso central (SNC), el cual es transferido a través de la barrera hematoencefálica y transportado al hígado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La mayor parte del 24S-OHC procede del colesterol cerebral, por lo que sus niveles son un reflejo del catabolismo cerebral del colesterol [24, 25].

Se cree que los niveles de 24S-OHC reflejan la liberación de colesterol de las membranas en neurodegeneración y neuroplasticidad, ya que existe una correlación significativa entre 24S-OHC en el plasma y la actividad neuronal. E. Freemantle y cols. sugieren que el aumento de los niveles de oxiesterol en el SNC también está implicado en la neuropatología de la depresión y el suicidio [25]. Por otro lado, Segoviano-Mendoza y cols. sugieren que, si existe una reducción en los niveles de colesterol total, se esperaría que los niveles séricos de 24S-OHC se encuentren por arriba de lo normal (12.3 ± 4.79 ng/mL) [26, 27].

1.7.2 ApoA-1 y el eflujo del colesterol.

Desde los 90s se ha investigado la asociación del colesterol con el suicidio, pero hasta la fecha los resultados no han sido concluyentes. Es por esto por lo que muchos estudios determinan al colesterol como un potencial biomarcador asociado al suicidio. Knowles *et al.* sugieren que un aumento del flujo de salida de colesterol mediado por la bomba ABCA1 puede ser clave para la asociación entre el colesterol libre y el intento suicida [28].

ApoA-1 es una proteína de 27-kDa, la cual es el principal componente proteico de la lipoproteína de alta densidad (HDL) en plasma. Esta se encarga de promover la salida de colesterol de los tejidos al hígado para su excreción, y es un cofactor de la lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT) ^[29,30]. Las funciones de ApoA-1 en SNC no están del todo claras. ApoA-1 desempeña un papel importante en el transporte periférico de colesterol y se cree que esta desempeñe un papel análogo en el SNC ^[30].

Se han realizado estudios de proteómica en 55 pacientes con esquizofrenia y 16 pacientes con trastorno bipolar, donde han observado una subexpresión de ApoA-1 en todas las muestras analizadas. Sin embargo, dicha molécula no ha sido evaluada en DM y/o suicidio ^[31]. Levin *et al.* analizaron la ApoA1, ApoA2, ApoA4, ApoC1 y ApoD, reportando niveles significativamente disminuidos en suero de pacientes con esquizofrenia. Este mismo equipo de investigación reporta niveles disminuidos de ApoA1 en SNC y en tejido periférico de pacientes con esquizofrenia ^[72].

1.7.3 Apolipoproteína B (ApoB).

ApoB es la principal apolipoproteína de los quilomicrones y las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Dicha apolipoproteína se encuentra principalmente en dos isoformas: apoB-48 y apoB-100, la primera se sintetiza exclusivamente en el intestino y la segunda en el hígado ^[32].

PF Edgar *et al.* realizaron un estudio de un paciente con historial psiquiátrico y comportamiento suicida violento, evaluando a varios familiares y determinando una probable asociación entre la mutación ApoB-29.4 y la psicosis, uno de los síntomas relacionado con el suicidio y el comportamiento violento. Esta familia también presentaba historial de hipocolesterolemia y observaron una asociación con un OR de 16.9 entre el estado hipocolesterolémico y el comportamiento violento ^[33]. Se cree que alteraciones en este gen están implicadas en la patogenia de la aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, el deterioro cognitivo y alteraciones de la barrera hematoencefálica. A

pesar de contar con estudios sobre ApoB y diversos trastornos psiquiátricos, su papel en el mecanismo de la depresión sigue inconcluso ^[34].

1.7.4 Apolipoproteína E (ApoE).

El gen *APOE* se encuentra en el cromosoma 19q13.32, compuesto por cuatro exones y tres intrones, codificando así para una proteína de 317 aminoácidos, la cual es la principal apolipoproteína de los quilomicrones ^[35, 36]. La proteína ApoE participa en el transporte de lípidos, facilitando la eliminación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y colesterol en plasma ^[36].

ApoE es de interés potencial para el comportamiento suicida, así como de la muerte por suicidio, debido al importante papel de esta proteína en el metabolismo del colesterol, especialmente en el SNC. ApoE previene la muerte neuronal, facilitando el crecimiento de las dendritas y la formación de nuevas sinapsis ^[37, 38].

CAPÍTULO II

JUSTIFICACIÓN

2. Justificación.

La incidencia del suicidio en personas jóvenes en edad productiva es significativa, lo que genera un impacto social y económico importante, además del sufrimiento que conlleva para los individuos y sus familias.

A pesar de las investigaciones realizadas, la asociación entre el colesterol sérico y el suicidio, así como otros trastornos psiquiátricos, sigue siendo controversial y heterogénea en diferentes poblaciones y con relación al género. Por lo tanto, es crucial investigar las alteraciones en el metabolismo de los lípidos en la población con riesgo suicida y encontrar biomarcadores que permitan identificar a las personas con mayor predisposición a conductas suicidas.

El objetivo de identificar estos biomarcadores es limitar el acceso de estas personas a los medios que puedan utilizar para llevar a cabo el acto suicida y proporcionarles la ayuda profesional adecuada en el momento oportuno. Mediante el estudio de los lípidos y las apolipoproteínas, como ApoA-1, ApoB, ApoE y 24S-hidroxicolesterol, se busca obtener información valiosa que pueda contribuir a la detección temprana y al desarrollo de estrategias preventivas más efectivas en relación con el suicidio y al síndrome depresivo mayor.

Este trabajo de tesis forma parte del proyecto titulado "Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio", el cual fue aprobado por CONACyT en la convocatoria de Atención a Problemas Nacionales 2017 con el número de registro **5012**. El responsable técnico de dicho proyecto es el Dr.C. Antonio Alí Pérez Maya.

El proyecto se lleva a cabo mediante un enfoque multidisciplinario que abarca diferentes áreas de estudio, como la farmacogenómica, la epigenética, la imagenología y la investigación de diversos metabolitos séricos, microRNA y RNAInc, entre otros, dirigido a una búsqueda de biomarcadores asociados a enfermedades psiquiátricas y suicidio.

Esta tesis de doctorado se centra en la búsqueda de biomarcadores genéticos y moleculares relacionados con el metabolismo de lípidos. Se ha observado que esta vía metabólica se encuentra alterada en personas con trastornos psiquiátricos y tendencias suicidas.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS

3. Hipótesis.

Las alteraciones en ApoA-1, ApoB, ApoE y 24S-hidroxicolesterol son relevantes para comprender la neurobiología del suicidio y constituyen biomarcadores útiles asociados al comportamiento suicida en pacientes mexicanos con síndrome depresivo mayor.

CAPÍTULO IV

OBJETIVOS

4.1 Objetivo General.

Identificar la posible asociación de biomarcadores del metabolismo del colesterol con el riesgo suicida en pacientes mexicanos con síndrome depresivo mayor .

4.2 Objetivos Específicos.

1. Investigar la asociación del suicidio con variables clínicas y psicosociales, determinando la importancia atribuible a cada una de ellas en pacientes con ideación suicida.
2. Evaluar la posible asociación de los niveles séricos de 24S-hidroxicolesterol, ApoA-1, ApoB y ApoE con el síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida.
3. Identificar polimorfismos en el gen *CYP46A1* mediante qPCR para determinar su relación con los niveles de 24S-hidroxicolesterol y su posible asociación con el síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida.
4. Evaluar en muestras de pacientes con diagnóstico de síndrome depresivo mayor con y sin ideación suicida utilizando qPCR, variantes del gen *APOE* identificadas por secuenciación de nueva generación que resultaron asociadas al suicidio.
5. Integrar los resultados obtenidos para proponer un perfil de biomarcadores potenciales para el diagnóstico del síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida.

CAPÍTULO V

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. Una vez aprobado, se recolectaron biopsias de tejido de personas que fallecieron por suicidio del archivo histórico del Departamento de Medicina Forense (Hospital Universitario, UANL). Además, se invitó a participar a pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida, así como a controles físicamente saludables. Los participantes leyeron y firmaron la carta de consentimiento informado, llenaron una hoja de recolección de datos y contestaron las escalas C-SSRS, IDB y CFI-S para obtener variables clínicas asociadas a la conducta suicida. A cada participante se le realizó una punción venosa en ayuno para obtener sangre periférica, de la cual se extrajo ADN y se recolectó suero. En las muestras de suero, se cuantificaron los niveles de ApoA1, ApoB, ApoE y 24S-hidroxicolesterol mediante ELISA. A las muestras de ADN se les realizó genotipificación de los SNPs en el gen *CYP46A1* utilizando PCR en tiempo real. Además, muestras seleccionadas de ADN fueron analizadas por SNG para determinar variantes asociadas al suicidio en el gen *APOE*. Finalmente, se integraron los resultados obtenidos para proponer un perfil de biomarcadores potenciales para el diagnóstico de síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida. Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS y Prism9 (Figura 1).

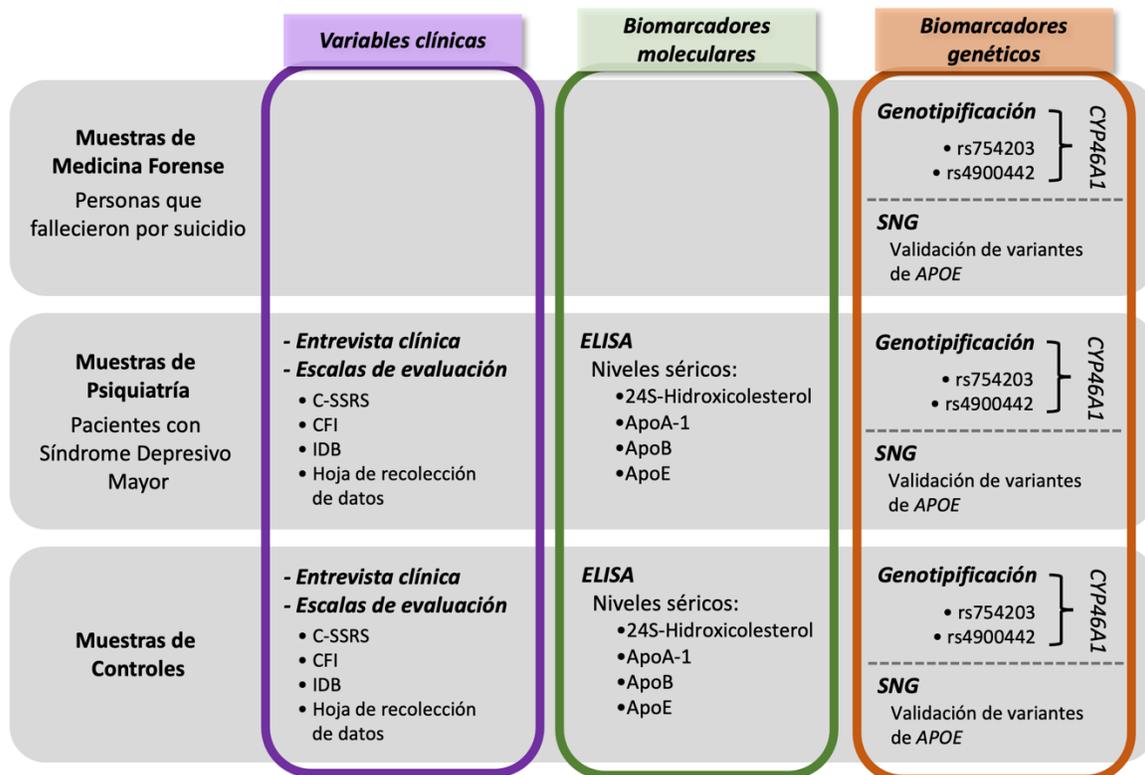


Figura 1. Estrategia general. Comprende las etapas de recolección de muestras para extracción de ADN y recolección de suero, así como de entrevistas clínicas con apoyo de escalas de evaluación, determinación sérica de proteínas, genotipificación de polimorfismos y SNG.

5.2 Diseño del experimento.

La presente investigación es un estudio de casos y controles, transversal y observacional. El protocolo fue 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 (Anexo 1, carta de aceptación), y fue financiado por fondos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) para Atención a Problemas Nacionales con el número de registro: 5012.

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 Universidad Autónoma de Nuevo León, así como en la Unidad

de Terapias Experimentales del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, UANL, el Laboratorio de Unidad de Hígado y el Laboratorio Nacional Biobanco, ambos pertenecientes a la Facultad de Medicina de la UANL.

5.3 Muestra de estudio.

Para este estudio se obtuvieron muestras de tres grupos:

Grupo 1: Biopsias de tejidos de personas que fallecieron por suicidio, provenientes del archivo histórico de tejidos del Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".

Grupo 2: Pacientes diagnosticados con síndrome depresivo mayor e ideación suicida evaluados por un psiquiatra.

Grupo 3: Controles físicamente saludables, sin diagnóstico de algún trastorno psiquiátrico y que no presentan ideación suicida.

A cada paciente y control se le dio información detallada oral y escrita acerca del protocolo. Si accedían a participar, tanto los pacientes como los controles firmaron de manera voluntaria la carta de Consentimiento Informado (Anexo 2) y se procedió a realizar la toma de muestra de sangre periférica. Además, de cada paciente y control se obtuvieron datos demográficos, antecedentes médicos e historial psiquiátrico familiar a través de una Hoja de Recolección de Datos (Anexo3). También se les realizó una evaluación de riesgo suicida y depresión a través de las escalas C-SSRS (Anexo 4), IDB (Anexo 5) y la escala de Información Funcional Convergente para el suicidio de Niculescu y cols (Anexo 6).

5.3.1 Criterios de inclusión.

Tabla 3. Criterios de inclusión para muestras, pacientes y controles.

Muerte por suicidio	Pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida	Controles
<ul style="list-style-type: none">• Haber fallecido por suicidio.• Contar con biopsia de tejido en archivo histórico del Departamento de Medicina Forense.• Contar con datos como género, edad y método de suicidio.	<ul style="list-style-type: none">• Mayor de 18 años.• Físicamente saludable.• Valorado por un psiquiatra que dictamine que tiene Síndrome Depresivo Mayor e ideación suicida• No contar con tratamiento previo.	<ul style="list-style-type: none">• Mayor de 18 años.• Físicamente saludable.• No padecer de algún trastorno psiquiátrico.• No presentar ideación suicida.

5.3.2 Criterios de exclusión.

Tabla 4. Criterios de exclusión para muestras, pacientes y controles.

Muerte por suicidio	Pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida	Controles
<ul style="list-style-type: none">• Haber fallecido por otra causa que no sea suicidio.	<ul style="list-style-type: none">• No está físicamente saludable.• El psiquiatra dictamina que no presenta Síndrome Depresivo Mayor e ideación suicida.• Incapacidad de dar su consentimiento.	<ul style="list-style-type: none">• No está físicamente saludable.• Presenta ideación suicida.• Incapacidad de dar su consentimiento.

5.3.3 Criterios de eliminación

Se eliminaron las muestras con mala calidad o cantidad insuficiente de ADN, así como sueros lipémicos para realizar el análisis.

CAPÍTULO VI

MATERIALES

6.1 Material biológico.

- Biopsias de tejido de personas que fallecieron por suicidio, pertenecientes a un archivo histórico del Departamento de Medicina Forense del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González".
- Muestras de sangre periférica de pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida que fueron recolectadas por el Dr. José Alfonso Ontiveros Sánchez de la Barquera, así como con apoyo de las Doctoras Mónica Hernández y Olivia Olivé.
- Muestras de sangre periférica de controles fueron recolectadas en la Unidad de Terapias Experimentales del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, UANL.

6.2 Material de laboratorio.

- Agujas para toma múltiple negra 22Gx38mm
- Espátula
- Gradilla
- Matraz de Erlenmeyer 250 ml
- Microtubos de 2 mL
- Microtubos de 1.5 mL
- Microtubos de 0.6 mL
- Microtubos de 0.2 mL
- Pipetas automáticas de 10-1000 μ L

- Pipetas automáticas de 20-200 μL
- Pipetas automáticas de 2-20 μL
- Pipetas automáticas de 0.2-2 μL
- Pipetas automáticas de 0.1-2 μL
- Pipeta multicanal 1-10 μL
- Pipeta multicana 10-100 μL
- Placas de 96 pocillos
- Placa de reacción óptica con 96 pocillos Applied Biosystems® MicroAmp® Fast con código de barras
- Probeta de 100 mL
- Puntas estériles desechables de 100-1000 μL
- Puntas estériles desechables de 20-200 μL
- Puntas estériles desechables de 2-20 μL
- Puntas estériles desechables de 1-10 μL
- Torniquete
- Torundas
- Tubos de PCR de 8 tiras de 0.2 mL
- Tubos de plástico tapón color lila 4mL para toma de muestra sanguínea (EDTA-K₂) 13X75mm
- Tubos de plástico tapón color rojo 6mL para toma de muestra sanguínea con activador de coagulo 13X100mm

6.3 Equipos

- Balanza analítica Adventurer™ SL, Ohaus
- Cabina para PCR MY-PCR Prep Station de Mystaire
- Cabina para PCR UV, UVP Ultra Violet Product™
- Cámara de electroforesis Owl™ EasyCast™ B2, Thermo Scientific
- Centrifuga Sorvall™ ST 16R, Thermo Scientific
- Espectrofotómetro NanoDrop 2000, Thermo Scientific

- Fuente de poder compacta EC-300XL, Thermo Scientific
- Microcentrífuga Digital Spectrafuge™ 24D, Labnet International
- Microcentrifuga para placas Mini Plate Spinner MSP1000 Labnet
- PCR-Tiempo Real StepOnePlus, Applied Biosystems
- Termociclador Veriti 96-Well, Applied Biosystems
- Thermomixer R 2mL, Eppendorf
- Transiluminador UV, Mini Darkroom UVP
- Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc.
- Lector de placas iMark™, Bio-Rad
- Secuenciador de Nueva Generación MiSeq, Illumina.

6.4 Reactivos y kits

- Agua destilada
- Agua libre de nucleasas
- Buffer de lisis TSNT (Tritón X 100 2%, SDS 1%, NaCl 100 mM, Tris-HCl pH 8 10 mM, EDTA pH 8 1mM)
- Buffer TAE 1X
- Buffer TE 1X
- DNeasy Blood & Tissue Kit
- Estuche comercial de ensayo Quant-iT PicoGreen dsDNA
- Etanol absoluto, grado biología molecular
- Etanol 100%
- Etanol 75%
- Fenol saturado
- Hidróxido de sodio (NaOH) grado biología molecular
- Kit ELISA para suero humano QuickDetect™ 24(S)-Hydroxycholesterol, Abcam.
- Kit ELISA para suero humano Apolipoproteína A1 (ApoA-1), Thermo Fisher.
- Kit ELISA para suero humano Apolipoproteína E (ApoE), Thermo Fisher.
- Kit ELISA para suero humano Apolipoproteína B (ApoB), Abcam.

- Panel Ampliseq Sample ID (Illumina)
- Panel personalizado de DNA AmpliSeq (Illumina)
- Solución Sevag (Cloroformo:Alcohol Isoamílico, 24:1)
- Sondas TaqMan® SNP Genotyping Assay, Thermo Fisher (Applied Biosystems)
- TaqMan® Universal PCR Master Mix, Thermo Fisher (Applied Biosystems)
- Tris-HCl, pH 7.0

Capítulo VII

MÉTODOS

7.1 Entrevista clínica y aplicación de escalas de evaluación psiquiátrica.

La información sociodemográfica, el estado de salud mental y las características de la conducta suicida se obtuvieron a través de una entrevista presencial con un psiquiatra capacitado con apoyo de múltiples cuestionarios de evaluación. Cada participante firmó el consentimiento informado por escrito antes de la entrevista, la cual duró aproximadamente 1.5 horas. Todos los participantes tenían total libertad y derecho a contestar cualquier pregunta, así como dar por terminada la entrevista en el momento que ellos lo desearan.

Se diseñó un cuestionario para obtener información sociodemográfica tales como sexo, edad, ocupación, nivel educativo, estado civil, creencias religiosas, hábitos según su estilo de vida (alimentarios, consumo de alcohol, tabaquismo, ejercicio) e historial psiquiátrico familiar, así como historial suicida personal y familiar.

Para evaluar el riesgo de suicidio en los participantes, se utilizó la Escala de Gravedad de Suicidio de Columbia (C-SSRS), la cual es una escala de calificación de ideación y comportamiento suicida. Esta escala consta de cuatro categorías: severidad e intensidad de la ideación suicida, severidad y letalidad del comportamiento suicida, ya sea pasado o reciente.

Se aplicó también el Inventario de Depresión de Beck (IDB), que es de auto informe de opción múltiple de 21 preguntas para medir la gravedad del cuadro depresivo con el que cursa el paciente, ya sea mínima, leve, moderada o grave.

Por último, se utilizó la escala de Información Funcional Convergente para el suicidio de Niculescu y cols. para determinar el ambiente en el cual se encuentra expuesto el paciente, para medir los factores protectores y factores de riesgo de suicidio a los cuales se enfrenta día a día. Con la información recopilada de las 3 escalas, así como los resultados del cuestionario de información sociodemográfica se generó un archivo electrónico en el programa SPSS versión 27.0 con los datos clínicos y psicosociales de cada participante.

7.2 Selección de muestras.

Las biopsias de tejido de personas que fallecieron por suicidio se obtuvieron del archivo histórico del Departamento de Medicina Forense. Por otro lado, a los pacientes y al grupo control se le tomaron 6 mL de sangre venosa en un tubo rojo con activador de la coagulación y 8 mL en 2 tubos con EDTA-K₂. Las muestras fueron centrifugadas, fraccionadas y almacenadas para generar un almacén de bioespecímenes de los participantes del estudio.

7.3 Extracción de ADN.

Para la extracción de ADN se utilizó el kit DNeasy Blood & Tissue Kit de Qiagen en las biopsias de tejido, mientras que para las muestras de sangre venosa se realizó una extracción fenol-cloroformo, así como extracción mediante el kit QIAmp DNA Blood Mini Kit de Qiagen.

7.3.1 Extracción de ADN de biopsias de tejido.

La extracción de ADN de las biopsias de tejido se realizó empleando el kit de extracción DNeasy Blood & Tissue Kit, siguiendo el protocolo descrito por el fabricante.

Se colocaron trozos pequeños de hasta 25mg de tejido en tubo de microcentrífuga de 1.5 mL. Se añadieron 180 µL de Buffer ATL, 20 µL de proteinasa K y se mezcló en vortex. Se incubó a 56 °C por 1-3 horas, hasta que el tejido estuvo completamente lisado.

Se mezcló en vortex por 15 segundos para posteriormente agregar 200 µL de buffer AL y mezclar. Se agregaron 200 µL de etanol (96-100%) y nuevamente se mezcló en vortex. Con ayuda de una pipeta, se recolectó la mezcla anteriormente preparada (incluyendo el precipitado) y se traspasó a la columna de centrifugación colocada en un tubo de recolección de 2 mL. Se centrifugó a 8000 rpm por 1 min. y se desecharon los tubos de paso y de recolección.

Se colocó la columna de centrifugado en un nuevo tubo de recolección de 2 mL. Se agregaron 500 µL de buffer AW1 y se centrifugó durante 1 min. a 8000 rpm. Se desechó el tubo de paso y de recolección. Se colocó la columna de centrifugado en un nuevo tubo de recolección de 2 mL y se agregaron 500 µL de buffer AW2 siguiendo con una centrifugación durante 3 min. a 14,000 rpm. Se desechó el tubo de paso y de recolección. Se colocó la columna de centrifugado en un tubo microtubo de 1.5 o 2 mL y se agregaron 200 µL de Buffer AE directamente sobre la membrana. Se incubó a temperatura ambiente durante 1 min. para luego centrifugar durante 1 min. a 8000 rpm para eluir.

7.3.2 Extracción de ADN de sangre periférica mediante técnica fenol-cloroformo.

Para realizar la extracción de ADN genómico de las muestras de sangre se siguió el siguiente protocolo:

Se colocaron 500 µL de sangre, plasma o suero en un microtubo de 2 mL con 200 µL de buffer de lisis TSNT (Tritón X-100 2%, SDS 1%, NaCl 100 mM, Tris HCl pH 8 10mM, EDTA pH8 1mM) y se mezclaron en vórtex a velocidad alta durante 1 a 3 minutos. Se agregaron 500 µL de fenol saturado y se mezcló en vórtex a velocidad alta durante 1 a 3 minutos.

Se agregaron 100 µL de Sevag y se mezcló en vortex durante 3 a 5 minutos. Se agregaron 200 µL de TE 1X (EDTA 100mM y Tris HCl 1M) y se mezcló en vortex a velocidad alta durante 1 min. Las muestras se centrifugaron por 8 min. a 10,000 rpm y se transfirió la fase acuosa a un microtubo de 1.5 mL, teniendo mucho cuidado de no contaminar con la

fase orgánica. Se volvieron a extraer las muestras a partir de la fase acuosa, agregando 100 μ L de Sevag mezclando en vortex de 3 a 5 min.

Se agregaron 200 μ L de TE 1X y se mezclaron en vortex durante 1 min. Se centrifugaron las muestras durante 8 min. a 10,000 rpm y se transfirió la fase acuosa en un microtubo de 1.5 mL. Se agregaron 2.5 volúmenes de etanol al 100% y se mezclaron gentilmente por inversión. Se dejaron reposar durante 1 hora a bajas temperaturas (-70°C), o por toda la noche a -20 °C. Se centrifugaron 15 min. a 14,000 rpm, se decantó el sobrenadante y se lavó la pastilla agregando 500 μ L de etanol al 70%, agitando el tubo hasta que la pastilla se desprendiera. Se centrifugó por 15 min. a 14,000 rpm y se dejó secar la pastilla de ADN a temperatura ambiente durante 20 - 40 min., o bien hasta que se hubiera evaporado el etanol por completo. Se resuspendió la pastilla agregando 50 μ L de agua destilada.

7.3.3 Extracción de ADN de sangre periférica mediante kit de extracción.

La extracción de ADN de muestras de sangre periférica también se realizó empleando el kit de extracción QIAmp DNA Blood Mini Kit, siguiendo el protocolo descrito por el fabricante.

En un microtubo de 2mL, se añadieron 10 μ L de proteinasa K, 250 μ L de la muestra de sangre y 250 μ L de Buffer AL. Esta mezcla se pasa 15 segundos por el vortex y posteriormente se incubó a 56°C por 30 min. Una vez finalizada la incubación, se da un spin al tubo para retirar gotas de la tapa de este.

Posterior a la centrifugación, al mismo tubo se le añadieron 250 μ L de etanol al 100%, se mezcló en el vortex unos 15 segundos y se volvió a centrifugar. Posterior a esto, con ayuda de una pipeta se pasó la mezcla antes mencionada a la columna de QIAamp Mini spin. Una vez cerrada la columna, se centrifugó a 8000 rpm por 1 min.

Una vez terminada la centrifugación, el filtrado se descartó y la columna se introdujo en un tubo nuevo de recolección. Con cuidado se agregó 500 μL de Buffer AW1 en la columna y nuevamente se centrifuga a 8000 rpm por 1 min. Retiramos el filtrado y pasamos la columna a un tubo nuevo de recolección. Se añadió a la columna 500 μL de Buffer AW2 y centrifugó a 14 000 rpm por 4 minutos.

Posterior a esta centrifugación, se descartó el filtrado y se pasó la columna a un microtubo de 2 mL para recolectar el material genético. Una vez colocada la columna en el microtubo, se agregaron 50 μL de agua destilada y se dejó incubar por 5 min a temperatura ambiente. Por último, se centrifugó la columna a 8000 rpm por 1 min, obteniendo así nuestro DNA en el microtubo.

7.3.4 Control de calidad de las muestras de ADN.

Tras realizar la extracción de ADN, se realizó un control de calidad a las muestras para medir su concentración y determinar la pureza e integridad.

1. Cuantificación: Se tomó de 1 μL de cada ADN y se le midió su absorbancia en el NanoDrop 2000.

2. Determinación de pureza: Se tomó 1 μL de la muestra y se evaluó su pureza con los cocientes de absorbancia 260/280 y 260/230 nm. El criterio de aceptación para el cociente 260/280 fue de 1.8 - 2.0 y para el cociente 260/230 fue de 2.0 - 2.2.

3. Integridad: Se observó la integridad de la muestra en un gel de agarosa al 2% teñido con GelRed y se analizó en un fotodocumentador.

4. Control de calidad del ADN por medio de PCR: para comprobar que el ADN extraído fuera amplificable por medio de PCR se emplearon iniciadores que generaban un producto amplificado de 268 pb, correspondientes a un fragmento del exón 2 del gen β -globina. En la Tabla 5 se muestran las condiciones de reacción para la amplificación de β -globina, mientras que en la Tabla 6 se muestra el programa de temperaturas para dicha

amplificación. Los productos se observaron en un gel de agarosa al 2%, teñido con GelRed y se analizó en un fotodocumentador.

Tabla 5. Condiciones de reacción para la amplificación de β -globina.

Reactivo	Concentración	Volumen (μ L)
GoTaq	10X	6
FWD	50 μ M	0.25
REV	50 μ M	0.25
Agua libre de nucleasas	-	3.5
ADN	50ng/ μ L	2

Tabla 6. Programa de temperaturas para la amplificación de β -globina.

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

Al cumplir con estos parámetros, se prepararon diluciones de trabajo a una concentración final de 50 ng/ μ L de ADNg.

7.4 Recolección de suero.

Tras realizar la punción venosa de sangre periférica de pacientes y controles, el tubo rojo con anticoagulante fue centrifugado a 3,200 rpm por 10 min. Después de la centrifugación, se realizaron de 2 a 3 alicuotas de suero en microtubos de 2 mL para posteriormente ser almacenados a -80 grados centígrados hasta ser utilizadas.

7.5 Determinación de 24S-hidroxicolesterol, ApoA-1, ApoB y ApoE sérico mediante ELISA.

7.5.1 Determinación de 24S-hidroxicolesterol sérico.

La determinación de las concentraciones séricas de 24S-OHC se realizó mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) utilizando el kit para suero humano QuickDetect™ 24(S)-Hydroxycholesterol de Abcam. Se siguió el siguiente protocolo:

1. Se estableció el orden de las muestras en la placa de ELISA:
 - a. Pozo en blanco: se agregó el reactivo conjugado HRP.
 - b. Pozos con estándar: se agregaron 50 μL de estándar.
 - c. Pocillos con muestra: se agregaron 40 μL de diluyente especial y 10 μL de muestra.
 - d. Se agregaron 50 μL de reactivo conjugado HRP en cada pocillo, excepto en el blanco.
 - e. Se selló la placa y se agitó suavemente. Se incubó a 37 °C por 60 min.

2. Se desechó la solución y se realizaron 5 lavados con solución de lavado 1X.
 - a. Para realizar el lavado se rellenoó cada pocillo con 350 μL de tampón de lavado.
 - b. Se dejó reposar durante 1 - 2 min.
 - c. Se retiró la solución de lavado por aspiración.
 - d. Después del quinto lavado, se retiró la solución de lavado por aspiración o decantación y se dejó secando la placa en papel filtro absorbente.

3. Se agregaron 50 μL de solución de cromógeno A en cada pocillo y después de agregaron 50 μL de solución de cromógeno B en cada pocillo. Se agitó la placa suavemente y se incubaron durante 10 min. a 37 °C lejos de la luz.

4. Después de la incubación, se agregaron 50 μL de solución Stop de para detener la reacción.

5. Se midió la densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 450 nm dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la solución de parada.

7.5.2 Determinación de ApoA-1 sérico.

La determinación de las concentraciones séricas de ApoA-1 se realizó mediante un ELISA utilizando el kit para suero humano Apolipoprotein A1 de Thermo Scientific. Se siguió el siguiente protocolo:

1. Preparación de reactivos, muestras y estándares:
 - a. Mantener reactivos y muestras a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usarlos.
 - b. El Assay Diluent se diluyó 5 veces con agua desionizada o destilada antes de usarse.
 - c. Se diluyeron las muestras con 1X Assay Diluent. Se agregó 1 µL de suero a 999 µL de diluyente.
 - d. Se agregaron 500 µL de 1X Assay Diluent que fue diluido previamente al vial con el liofilizado del estándar. Mezclar cuidadosamente. Se agregaron 300 µL de 1X Assay Diluent en cada tubo y se realizó una dilución seriada, tomando 200 µL de cada tubo.
 - e. Para preparar el anticuerpo biotinilado, se agregaron 100 µL de Assay Diluent al vial con el concentrado del anticuerpo. Se mezcló con ayuda de una pipeta automática cuidadosamente. Se diluyó 80 veces con 1X Assay Diluent.
 - f. Se diluyó 1000 veces la HRP-streptavidina con 1X Assay Diluent.

2. Después de preparar los reactivos, las muestras y estándares, se realizó el ensayo siguiendo estos pasos:
 - a. Se agregaron 100 µL de cada estándar y muestra en sus respectivos pocillos. Cubrir la placa e incubar por 2 horas y media a temperatura ambiente con agitación suave.
 - b. Se realizaron 4 lavados con buffer de lavado 1X. Para cada lavado se llenó cada pocillo con 300 µL de buffer de lavado usando una pipeta multicanal. El último lavado se retiró por decantación y se removieron los excesos invirtiendo la placa y dejando que un papel absorbiera los excesos de buffer.
 - c. Se agregaron 100 µL de anticuerpo biotinilado al 1X a cada pocillo. Se incubó por 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave.
 - d. Se realizaron 3 lavados posterior a la incubación.

- e. Se agregaron 100 μ L de solución HRP-streptavidina a cada pocillo. Se incubó por 45 minutos a temperatura ambiente con agitación suave.
 - f. Se realizaron 3 lavados posterior a la incubación.
 - g. Posterior al lavado, se agregaron 100 μ L de substrato TMB a cada pocillo. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación suave.
 - h. Después de la incubación, se agregaron 50 μ L de solución de paro a cada pocillo.
3. La placa se evaluó entre los 30 minutos posteriores a la adición de la solución de paro. Se realizo la lectura en un lector de placas a 450 nm.

7.5.3 Determinación de ApoB sérico.

La determinación de las concentraciones séricas de ApoB se realizó mediante un ELISA utilizando el kit para suero humano Apolipoprotein B de Thermo Scientific. Se siguió el siguiente protocolo:

1. Preparación de los reactivos se realizó justo antes de realizar el ensayo:
 - a. Los reactivos se dejaron a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usarlos.
 - a. Se diluyó 10 veces el diluyente M 10X con agua destilada.
 - b. El buffer de lavado 20X se diluyó 20 veces (proporción 1:20) con agua destilada.
 - c. El anticuerpo biotinilado y el conjugado SP se diluyeron con diluyente M 1X.
 - d. Para los estándares se resuspendió el estándar de ApoB a una concentración final de 0.5 ng/mL. Se dejó reposar por 10 minutos en agitación suave. Se añadieron 120 μ L a cada tubo (1-7) para realizar la dilución seriada.

2. Preparación de las muestras:
 - a. Tras dejar las muestras de suero a temperatura ambiente (18-25 °C), se diluyeron 1:20,000 veces con diluyente M 1X.

3. Procedimiento para realizar el ensayo:
 - a. Se añadieron 50 µL de estándar o muestra en su respectivo pocillo. Se selló la placa y se incubó por 2 horas.
 - b. Se realizaron 5 lavados con 200 µL de buffer de lavado 1X. Se Invertió la placa y decantó el contenido removiendo excesos con papel absorbente.
 - c. Posterior al lavado, se agregaron 50 µL de anticuerpo biotinilado en cada pocillo y se incubó por 1 hora.
 - d. Se repitieron los lavados como en el paso anterior. Después de los lavados, se agregaron 50 µL de conjugado SP 1X en cada pocillo y se incubó por 30 minutos.
 - e. Se repitieron los lavados como en el paso anterior. Después del lavado, se añadieron 50 µL del cromogeno en cada pocillo y se incubó por 10 minutos. Posterior a la incubación, se agregaron 50 µL de la solución de paro.

4. Se midió la densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 450 nm inmediatamente después de la adición de la solución de paro.

7.5.4 Determinación de ApoE sérico.

La determinación de las concentraciones séricas de ApoE se realizó mediante un ELISA utilizando el kit para suero humano Apolipoprotein E de Thermo Scientific. Se siguió el siguiente protocolo:

1. Preparación de reactivos, muestras y estándares:
 - a. Mantener reactivos y muestras a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usarlos.

- b. El Assay Diluent se diluyó 5 veces con agua desionizada o destilada antes de usarse.
 - c. Se diluyeron las muestras con 1X Assay Diluent. Se agregó 1 μL de suero a 999 μL de diluyente.
 - d. Se agregaron 500 μL de 1X Assay Diluent que fue diluido previamente al vial con el liofilizado del estándar. Mezclar cuidadosamente. Se agregaron 300 μL de 1X Assay Diluent en cada tubo y se realizó una dilución seriada, tomando 200 μL de cada tubo.
 - e. Para preparar el anticuerpo biotinilado, se agregaron 100 μL de Assay Diluent al vial con el concentrado del anticuerpo. Se mezcló con ayuda de una pipeta automática cuidadosamente. Se diluyó 80 veces con 1X Assay Diluent.
 - f. Se diluyó 1000 veces la HRP-streptavidina con 1X Assay Diluent.
2. Después de preparar los reactivos, las muestras y estándares, se realizó el ensayo siguiendo estos pasos:
- a. Se agregaron 100 μL de cada estándar y muestra en sus respectivos pocillos. Cubrir la placa e incubar por 2 horas y media a temperatura ambiente con agitación suave.
 - b. Se realizaron 4 lavados con buffer de lavado 1X. Para cada lavado se llenó cada pocillo con 300 μL de buffer de lavado usando una pipeta multicanal. El último lavado se retiró por decantación y se removieron los excesos invirtiendo la placa y dejando que un papel absorbiera los excesos de buffer.
 - c. Se agregaron 100 μL de anticuerpo biotinilado al 1X a cada pocillo. Se incubó por 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave.
 - d. Se realizaron 3 lavados posterior a la incubación.
 - e. Se agregaron 100 μL de solución HRP-streptavidina a cada pocillo. Se incubó por 45 minutos a temperatura ambiente con agitación suave.
 - f. Se realizaron 3 lavados posterior a la incubación.

- g. Posterior al lavado, se agregaron 100 μ L de substrato TMB a cada pocillo. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación suave.
 - h. Después de la incubación, se agregaron 50 μ L de solución de paro a cada pocillo.
3. La placa se evaluó entre los 30 minutos posteriores a la adición de la solución de paro. Se realizó la lectura en un lector de placas a 450 nm.

7.6 Genotipificación mediante qPCR.

7.6.1 Análisis de polimorfismos.

A todas las muestras incluidas en este estudio (personas que fallecieron por suicidio, pacientes con síndrome depresivo mayor y controles) se les realizó la genotipificación de dos SNPs en el gen *CYP46A1*. Se utilizaron oligos para PCR-Tiempo real sintetizadas con el proveedor externo T4 Oligo. En la Tabla 7 se muestran detalles sobre los polimorfismos de un solo nucleótido, la secuencia de las sondas, así como la localización de estas en la Figura 2. En la Tabla 8 se muestran las condiciones de reacción para los SNPs estudiados en este trabajo.

Tabla 7. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)

<i>Gen</i>	<i>Polimorfismo</i>	<i>Localización</i>	<i>Secuencia de sonda</i>
<i>CYP46A1</i>	rs754203	Intrón	Fwd: TTCCATGGCTGTGGAAAC Rv: ATGCATGCTACCAAAGAG
	rs4900442	Intrón	Fwd: AGGAGGAAGAGTGGTTTC Rv: TCATCCAAAGTCTCTGGG



Figura 2. Localización de los polimorfismos en el gen *CYP46A1*. Los polimorfismos se encuentran ubicados en regiones con potencial para generar variaciones en la expresión génica. Con flechas se señala la localización de cada polimorfismo en el gen.

Tabla 8. Condiciones de genotificación por PCR-Tiempo Real.

Reactivo	Concentración	Volumen (μL)
PrimeTime® Gene Expression Master Mix	2X	5
Mix Oligo	100 pm/μL	1
Sondas	100 pm/μL	1
ADN	50 ng/μL	1
ROX	25 μM	0.2
Agua libre de nucleasas	-	1.8

Se utilizó el software StepOne V2.1 del equipo StepOnePlus de Applied Biosystems bajo las condiciones establecidas en la Tabla 9 para detectar el genotipo que presentan los participantes para cada polimorfismo. La discriminación entre estos grupos (homocigoto para alelo variante, heterocigoto y homocigoto para alelo normal) es posible debido a que la reacción de PCR se lleva a cabo en presencia de sondas marcadas con fluoróforos (Figura 3).

Tabla 9. Programa de temperaturas para la genotificación.

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	
Desnaturalización inicial	95	3 min	
Desnaturalización	95	0.15 seg	
40 ciclos	Alineamiento	60	0.15 seg
	Extensión	70	0.45 seg
Terminación	60	0.30 seg	

Alelo 1.- Fluorocromo FAM™ unido al extremo 5' de la sonda del alelo 1 (alelo normal)
 Alelo 2.- Fluorocromo VIC® unido al extremo 5' de la sonda del alelo 2 (alelo variante)

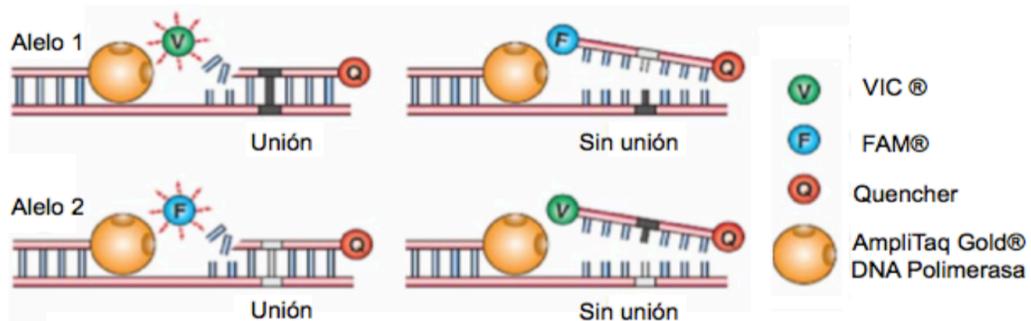


Figura 3. Sondas TaqMan®. Sondas de hidrólisis marcadas con fluróforos diseñadas para incrementar la especificidad de la qPCR.

La reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar el ADN de las células y de degradar la sonda marcada. Cuando esta sonda es degradada, se libera fluorescencia, ya sea por la sonda del alelo normal o la del alelo variante. La fluorescencia es detectada por el equipo mientras que el software agrupo a los pacientes según la fluorescencia que emiten, ya sea por un solo fluorocromo para indicar homocigosidad o ambos indicando que la muestra es heterocigota para el SNP (Figura 4).

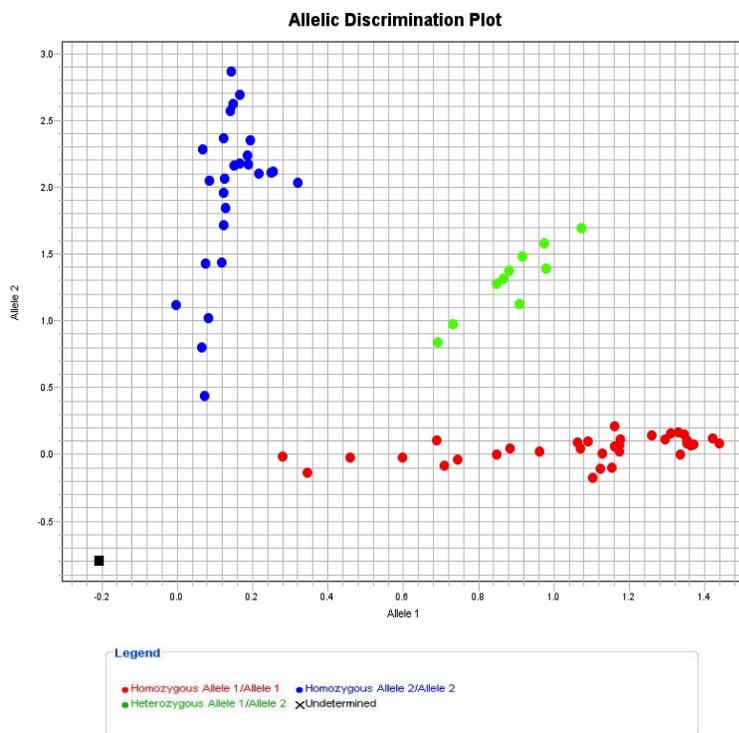


Figura 4. Gráfica de discriminación alélica. En rojo se observan los homocigotos del alelo 1, en verde los heterocigotos y en azul los homocigotos para el alelo 2.

7.7 Evaluación de variantes asociadas al suicidio en *APOE* derivadas por SNG.

Se realizó una secuenciación de exoma dirigido mediante la tecnología AmpliSeq, de Illumina, donde se identificaron variantes genómicas asociadas al suicidio utilizando el método de secuenciación dirigida a genes específicos (Targeted Gene Sequencing) del que hace uso esta nueva tecnología para secuenciar las regiones codificantes y la región promotora de 33 genes de interés en paneles personalizados que ya hemos diseñado, donde uno de estos 33 genes que fueron analizados es el gen *APOE*.

Para la selección de genes candidatos se utilizó un enfoque de Genómica Funcional Convergente (CFG) (Figura 5), el cual permite identificar y priorizar los potenciales biomarcadores de relevancia en el comportamiento suicida. CFG es un poderoso enfoque combinado para la extracción de señales de ruido en los estudios de genes.

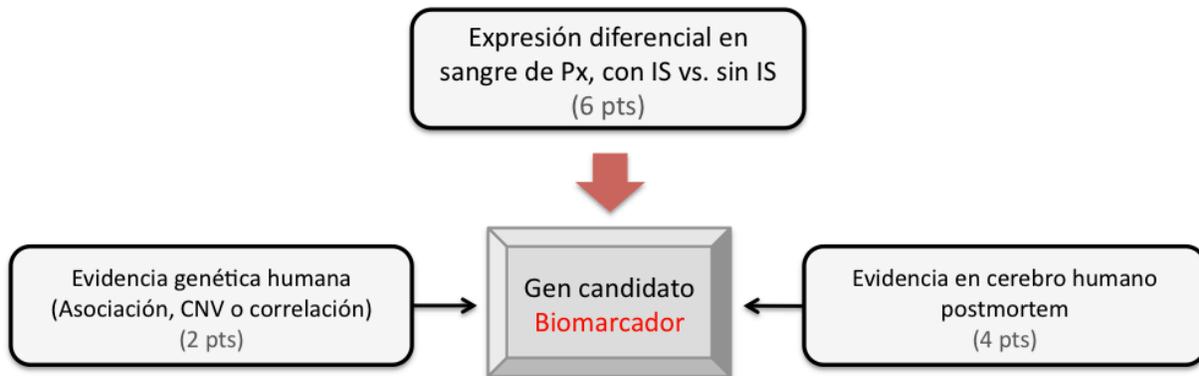


Figura 5. Genómica Funcional Convergente. Para identificar y priorizar genes candidatos asociados al suicidio en base a evidencia genética humana, expresión diferencial en sangre de pacientes con o sin ideación suicida, así como de evidencia en tejido cerebral post mortem.

La técnica de Targeted Gene Sequencing (TGS) para la secuenciación de los 33 genes asociados al suicidio se realizó en el Laboratorio de Genómica perteneciente a la Red de Apoyo a la Investigación (RAI), como un servicio externo.

La tecnología AmpliSeq consiste en la utilización de la PCR multiplex para amplificar, mediante primers específicos, las regiones de interés de los genes que hemos seleccionado para el diseño del panel (kit AmpliSeq Library PLUS). Estos amplicones son digeridos parcialmente y ligados a índices, los cuales son adaptadores (AmpliSeq CD Indexes Set). A partir de estos se generaron bibliotecas que contienen los fragmentos de las regiones de interés. Estos fragmentos fueron purificados mediante una ligación a esferas magnéticas y eluidos de éstas para, posteriormente, ser cargados en el panel previamente diseñado (o Flow cell) en el cual se encuentran los adaptadores y primers de secuenciación específicos de nuestras regiones de interés. Este cartucho (AmpliSeq Custom DNA Panel) se ingresó en el equipo MiSeq para que, mediante la química de secuenciación por síntesis de Illumina, se generen los datos de secuenciación de nuestras muestras.

La tecnología AmpliSeq requiere de la purificación y captura de 10 ng (recomendado por Illumina) de ADN genómico humano de alta calidad por pool de primers de secuenciación. El análisis se enfocó en los promotores y las regiones codificantes de los

genes de interés que se encuentran anotados. Las bibliotecas se secuenciaron por el sistema de Illumina, con el equipo MiSeq; las necesidades de nuestro proceso de secuenciación serán: alta astringencia; read length de 2X150 y una profundidad de 100X para cada muestra.

La calidad y la cantidad de las bibliotecas de DNA se evaluaron mediante ensayos de dsDNA fluorométricos utilizando el kit Qubit dsDNA HS Assay y el fluorómetro Qubit 3.0. En los casos en los que obtuvimos mayor concentración de ADN de lo deseado (>100 ng), se realizaron diluciones a una concentración entre 20 a 50 ng para posteriormente volver a cuantificar el ADN diluido nuevamente por fluorometría.

La interpretación de los datos e identificación de las variantes genómicas en los genes asociadas al suicidio requirió de la contratación de un servicio externo proporcionado por la Unidad de Bioinformática de la RAI. Dicho servicio incluye el uso de paquetes de herramientas bioinformáticas (GenomeStudio y BaseSpace Variant Interpreter) para la genotipificación de SNPs.

Una vez seleccionadas las variantes asociadas al suicidio del gen *APOE*, éstas fueron analizadas mediante genotipificación por PCR-Tiempo Real en muestras de ADN de pacientes psiquiátricos SDM con y sin ideación suicida y en sujetos control sin ideación suicida. La metodología para seguir será la misma empleada en la sección 7.6.

Capítulo VIII

RESULTADOS

8.1 Control de calidad de banco de muestras.

La cuantificación y la evaluación de la calidad del ADN extraído a partir de las muestras se hizo mediante espectrofotometría. La integridad del ADN genómico se evaluó por electroforesis en gel de agarosa al 2% y la funcionalidad fue evaluada mediante la amplificación del exón 2 del gen de la β -globina humana por PCR punto final. Se analizaron un total de 620 muestras, de las cuales 247 fueron de casos (muerte por suicidio), 168 de pacientes con síndrome depresivo mayor e ideación suicida, así como de 205 controles.

Tras realizar la PCR de punto final, se verificó la presencia de una banda única de 268 pb correspondiente al producto amplificado esperado mediante electroforesis. De las muestras analizadas, 219 muestras de casos (muerte por suicidio), 176 de pacientes con SDM y 192 muestras de controles pasaron nuestro control de calidad y fueron posteriormente analizadas mediante otras técnicas. En la Figura 6 se muestra un gel representativo, en el cual se aprecia la amplificación de 17 muestras de las 620 analizadas.

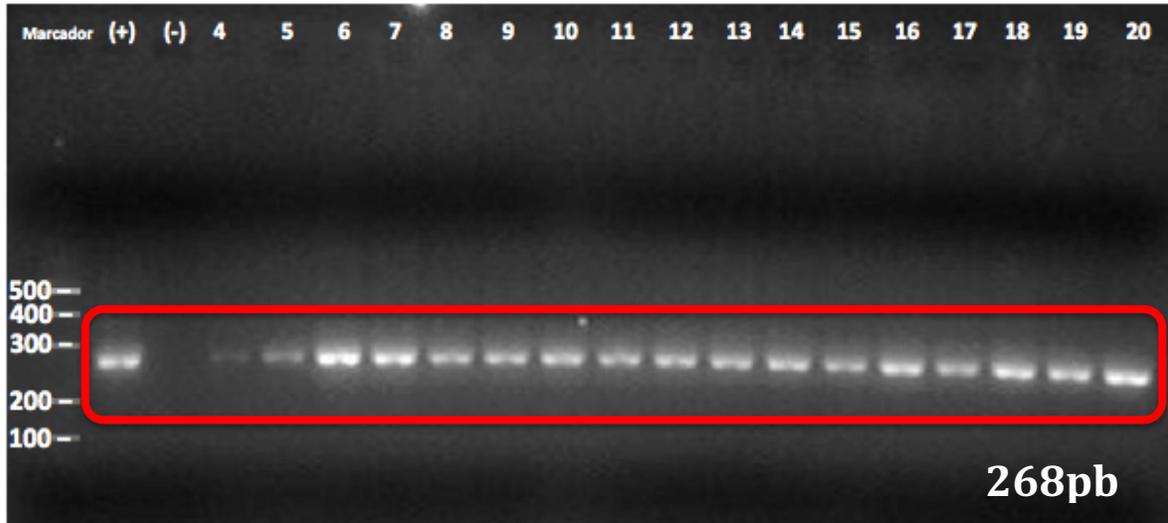


Figura 6. Amplificación mediante PCR de β -globina en muestras de casos y controles. Electroforesis en gel de agarosa al 2% representativo de la amplificación del exón 2 de β -globina en 17 muestras de 620 analizadas con un producto de amplificación de 268pb. En el carril 1 se utilizó un marcador de peso molecular (100pb), en el carril 2 un control positivo del producto de amplificación, en el carril 3 el control negativo para la PCR y el resto de los carriles corresponde a los productos amplificados obtenidos para las muestras ensayadas.

Es importante mencionar que algunas muestras de pacientes fueron eliminadas para los siguientes experimentos, ya que contaban con diagnósticos diferentes a los de nuestro interés, tales como las muestras de aquellos pacientes con diagnóstico de esquizofrenia. Por otro lado, de los 205 controles reclutados, 39 fueron eliminados debido a que no cumplían con los criterios de selección, ya que estos contaban con diagnóstico de algún trastorno psiquiátrico, tenían ideación o conducta suicida, así como resultados de depresión en la escala IDB.

8.2 Características clínicas, patológicas y epidemiológicas de la población en estudio.

Para el análisis de las características epidemiológicas de la población de estudio se analizaron un total de 549 muestras, conformado por 247 casos (muerte por suicidio), 166 controles y 136 pacientes con SDM con y sin ideación suicida.

En el grupo de personas que fallecieron por suicidio se analizaron los datos de edad y género. Por otro lado, en los grupos de pacientes y controles se analizaron las

características clínica, demográficas y psicosociales obtenidas mediante las escalas de evaluación y entrevista clínica.

Se analizaron las características clínicas y demográficas en los tres grupos de estudio, y se observó que existe un mayor número de casos de suicidio en hombres ($p = <0.000$). Por otro lado, al evaluar la variable de la edad, vimos que el mayor riesgo de suicidio es en adultos jóvenes de 25 a 44 años ($p = 0.000$). Por último, se observó un menor grado de escolaridad en pacientes con mayor riesgo de suicidio ($p = 0.000$). Estos resultados se pueden observar en la Tabla 10.

Tabla 10. Características clínicas y demográficas de casos y controles.

	Muerte por suicidio (n= 243)	Pacientes con SDM (n= 178)	Controles (n= 162)	p
Género (Masculino/Femenino)	203/40	61/117	74/88	<0.000^a
Edad (años)	36.15 ±16.01	32.59 ±13.86	29.63 ±11.95	0.000^a
Peso (kg)		72.75 ± 16.71	69.92 ± 15.31	0.079 ^a
IMC		26.77 ± 5.3	25.15 ± 4.37	0.003 ^a
Ingesta de alcohol (años)		9.92 ± 8.8	10.47 ± 10.3	0.757
Tabaquismo (años)		11.42 ± 11.1	7.97 ± 8.9	
Educación (años)		16.79 ± 3.098	18.99 ± 3.12	0.000^b
Creencia religiosa (%)		138 (59.1)	108 (43.9)	0.480 ^a

Mean ±SD

SDM: Síndrome Depresivo Mayor

IMC: Índice de masa corporal

^a One-way ANOVA

^b T-student

Por otro lado, se analizaron las características psicosociales de los pacientes y los sujetos control. Estos datos fueron obtenidos de las escalas de evaluación, dentro de las cuales se analizaron las siguientes variables: puntaje obtenido de las escalas IDB y CFI-S, historial familiar de suicidio, conocer a alguien que falleciera por suicidio, antecedente de abuso, sentimiento de rechazo, quiebre bajo presión y sentirse no necesitado. Como resultados se observó que había diferencias en algunas de estas variables entre los grupos, las cuales fueron consideradas como factores de riesgo psicosociales para el suicidio (Tabla 11). Las variables psicosociales que resultaron potenciales factores de riesgo fueron presentar un score mayor a 17 en el IDB ($p= 0.000$), lo que representa un cuadro depresivo mayor o igual a una depresión moderada. También un score >9 en el CFI-S ($p= 0.000$), lo que representa que la persona se encuentra presenta en un ambiente detonante para riesgo suicida. Otros factores de riesgo psicosociales fueron contar con historial de abuso ($p= 0.000$), ya fuera sexual, físico, emocional o una negligencia, así como el sentimiento de rechazo o de no ser necesitado ($p= 0.000$) y la falta de habilidades de afrontamiento hacia el estrés ($p= 0.000$).

Tabla 11. Características psicosociales de casos y controles.

	Pacientes con SDM (n= 178)	Controles (n= 162)	p
IDB	17.13	4.75	0.000^a
CFI-S	9.32 ± 3.5	2.59 ± 2.09	0.000^a
Historial familiar de suicidio (Sí) (%)	32 (17.3)	20 (13.2)	0.307 ^a
Conocido que falleció por suicidio (Sí) (%)	72 (38.9)	50 (33.1)	0.271 ^a
Antecedente de abuso (Sí) (%)	86 (46.7)	21 (13.9)	0.000^a
Rechazo (Sí) (%)	81 (43.8)	10 (8.4)	0.000^a
Quiebre bajo presión (Sí) (%)	102 (55.1)	19 (16)	0.000^a
Sentirse no necesitado (Sí) (%)	119 (64.7)	21 (17.6)	0.000^a

Mean ±SD

SDM: Síndrome Depresivo Mayor

^a T-student

8.3 Evaluar la posible asociación de los niveles séricos de 24S-hidroxicolesterol, ApoA-1, ApoB y ApoE con el síndrome depresivo mayor y el suicidio.

8.3.1 Niveles séricos de 24S-hidroxicolesterol.

Se realizó la determinación sérica de 24S-Hidroxicolesterol en 64 muestras de suero de pacientes con SDM con y sin ideación suicida, así como en 63 muestras de suero de sujetos controles sin ideación suicida ni historial psiquiátrico. Para el análisis de estos resultados, se emplearon pruebas U de Mann-Whitney, donde para los niveles séricos del 24S-OHC en pacientes en comparación con los controles no presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.9856$, Figura 7).

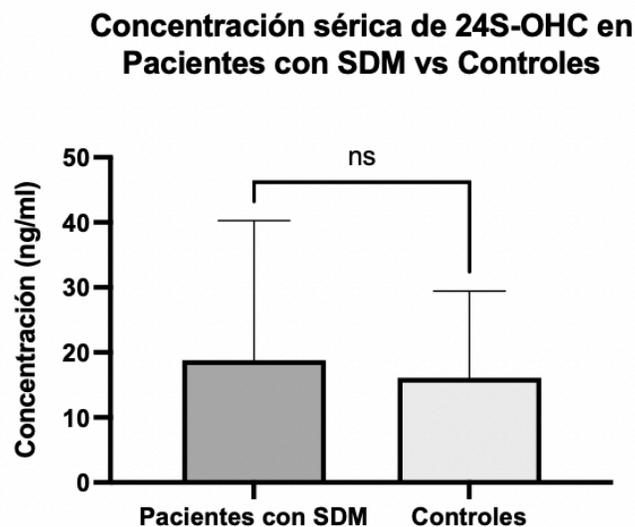


Figura 7. Niveles séricos de 24S-OHC en pacientes con SDM vs Controles. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ambos grupos.

Es importante mencionar que existen diversos reportes donde al realizar este tipo de análisis, es de relevancia tomar en cuenta diferentes variables sociodemográficas, así como historial suicida, ya que variables de este tipo pueden afectar los niveles del metabolito en cuestión. Por lo tanto, realizamos unos análisis basados en sexo, sin embargo, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de 24S-

OHC entre hombres y mujeres (Figura 8.A), así como tampoco al analizar estas concentraciones en cada sexo (Mujeres: Figura 8.B, Hombres: Figura 8.C).

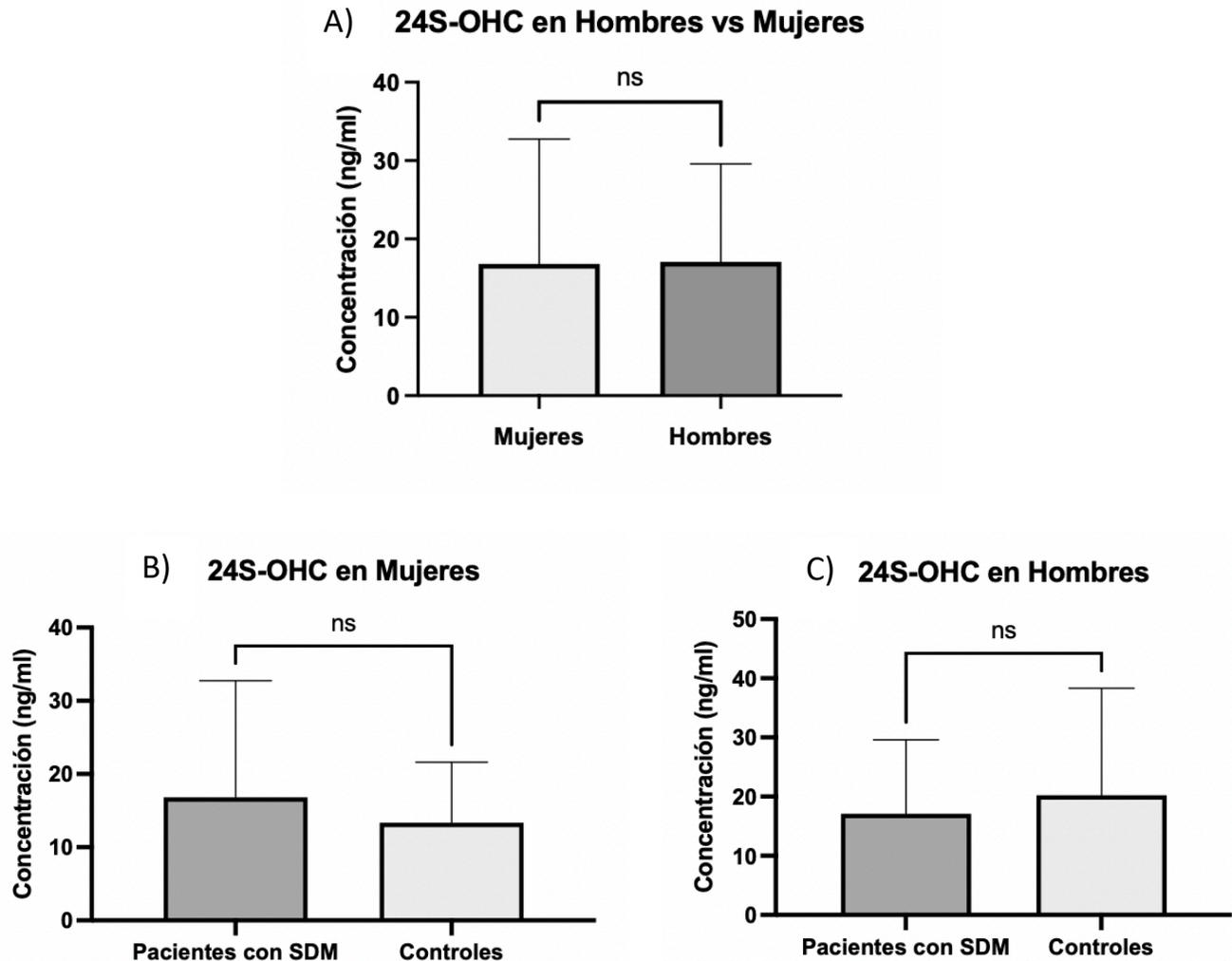


Figura 8. Niveles séricos de 24S-OHC según sexo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del 24S-OHC entre hombres y mujeres (A). De igual manera tampoco vimos diferencias entre los niveles séricos específicamente en Mujeres (B) y Hombres (C).

Otras variables de importancia para nuestro análisis fueron la severidad de la depresión que presentaban los pacientes a la hora de la toma de muestras (Figura 9), así como si estos cursaban por un episodio activo de ideación o conducta suicida (Figura 10). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores séricos del 24S-OHC al tomar como factor estas variables.

24S-OHC y la severidad de la depresión

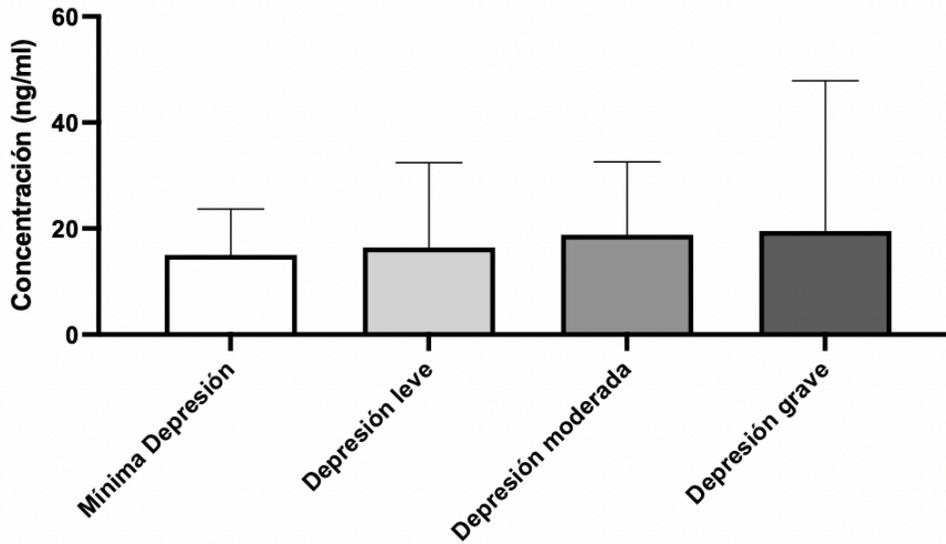
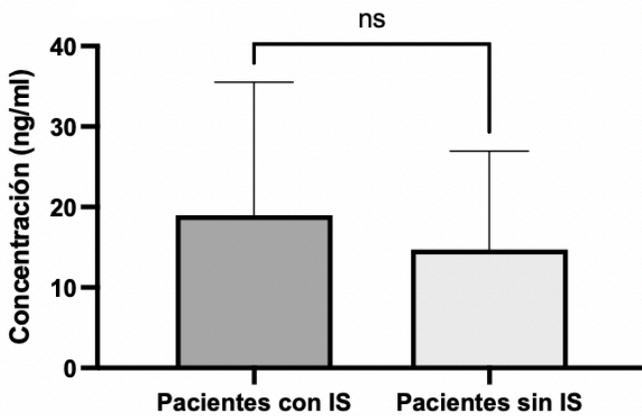


Figura 9. Niveles séricos de 24S-OHC en muestras de pacientes según la severidad de la depresión. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del 24S-OHC según el grado del cuadro depresivo que cursaban los pacientes.

A) 24S-OHC e ideación suicida



B) 24S-OHC y la conducta suicida

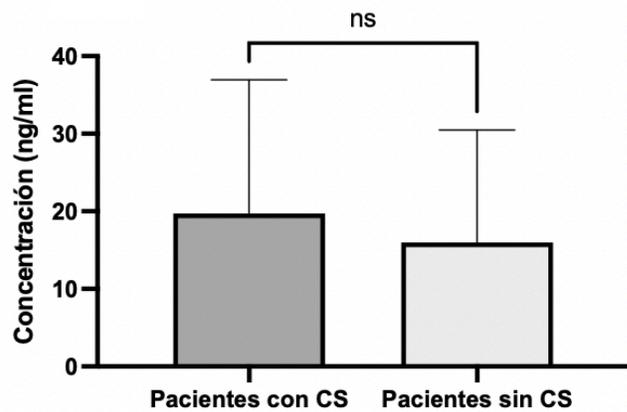


Figura 10. Niveles séricos de 24S-OHC y la ideación/conducta suicida. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del 24S-OHC entre pacientes con y sin ideación suicida (A), así como entre pacientes con y sin conducta suicida (B).

8.3.2 Niveles séricos de Apolipoproteína A1.

Por otro lado, se realizó también la determinación sérica de ApoA1 en 57 muestras de pacientes con SDM comparado con 50 muestras de controles sin historial psiquiátrico. Primero se realizó un análisis mediante una prueba T-Student para ver las diferencias en los niveles séricos de dicha proteína entre pacientes y controles y no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de ambos grupos (Figura 11).

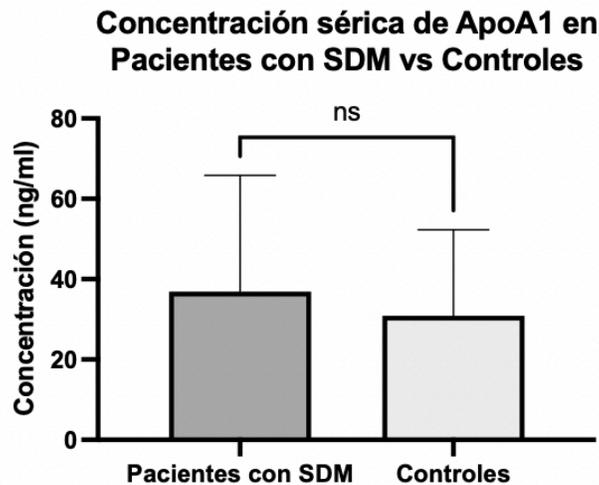
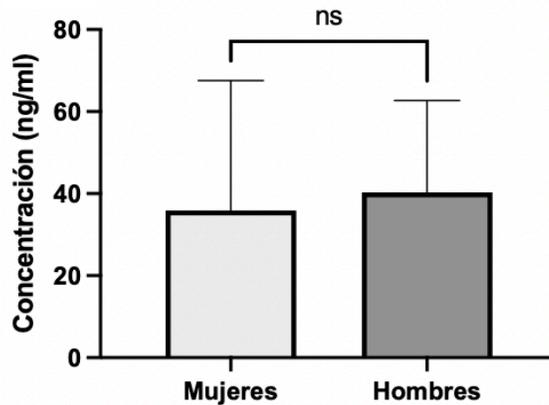


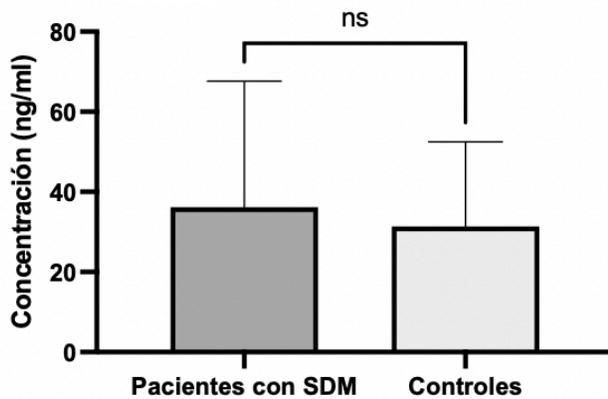
Figura 11. Niveles séricos de ApoA1 en pacientes con SDM vs Controles. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ambos grupos.

Posteriormente, se realizó un nuevo análisis estadístico tomando en cuenta el sexo ya que en la bibliografía hay evidencia de que los niveles de ciertas proteínas se pueden ver alteradas en mujeres, pero no en hombres o viceversa. En este caso, no encontramos una diferencia estadísticamente significativa en los niveles séricos de ApoA1 entre hombres y mujeres (Figura 12.A), así como tampoco al analizar estas concentraciones en cada sexo (Mujeres: Figura 12.B, Hombres: Figura 12.C).

A) **ApoA1 en Hombres vs Mujeres**



B) **ApoA1 en Mujeres**



C) **ApoA1 en Hombres**

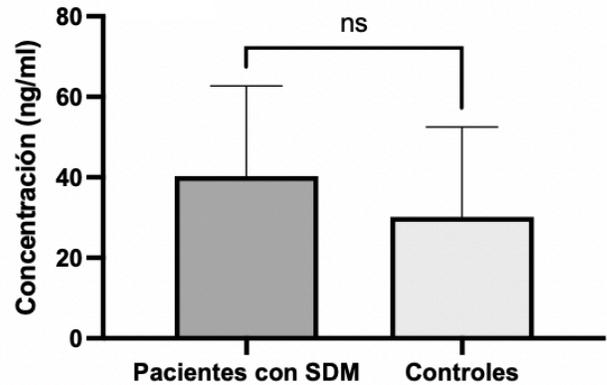


Figura 12. Niveles séricos de ApoA1 según sexo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoA1 entre hombres y mujeres (A). De igual manera tampoco vimos diferencias entre los niveles séricos específicamente en Mujeres (B) y Hombres (C).

Por último, al evaluar las diferencias de los niveles séricos de esta apolipoproteína en función de la severidad de la depresión cursada por los pacientes, no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre estos (Figura 13). Por otro lado, se observó que los pacientes con IS presentaron menor nivel sérico de ApoA1 que los pacientes sin IS (32.96 ng/mL vs 51.35 ng/mL, $p = 0.0489$) (Figura 14.A). Esta diferencia no se encontró en pacientes con o sin conducta suicida (Figura 14.B).

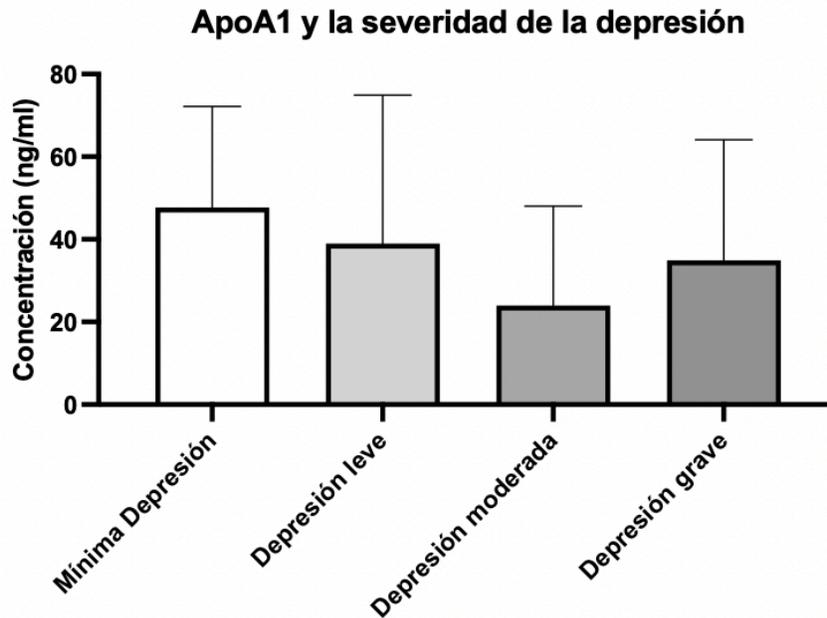


Figura 13. Niveles séricos de ApoA1 en muestras de pacientes según la severidad de la depresión. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoA1 según el grado del cuadro depresivo que cursaban los pacientes.

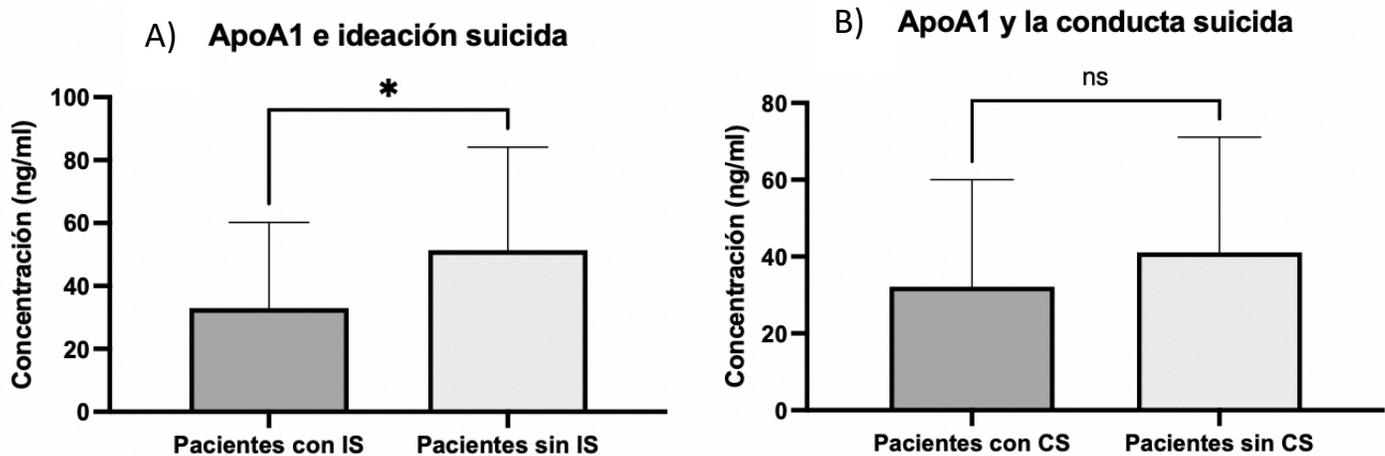


Figura 14. Niveles séricos de ApoA1 y la ideación/conducta suicida. Los niveles séricos de ApoA1 se encontraron significativamente disminuidos en pacientes con IS (32.96 ng/mL) en comparación de aquellos sin IS (51.35 ng/mL). Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre aquellos con y sin conducta suicida.

8.3.3 Niveles séricos de Apolipoproteína B.

Los niveles séricos de ApoB se determinaron en 37 muestras de suero de pacientes de SDM con y sin ideación/conducta suicida, así como en 50 muestras de suero de sujetos control sin historial psiquiátrico. Se realizó un análisis mediante una prueba U de Mann-Whitney para ver las diferencias en los niveles séricos de dicha proteína entre pacientes y controles y no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de ambos grupos (Figura 15).

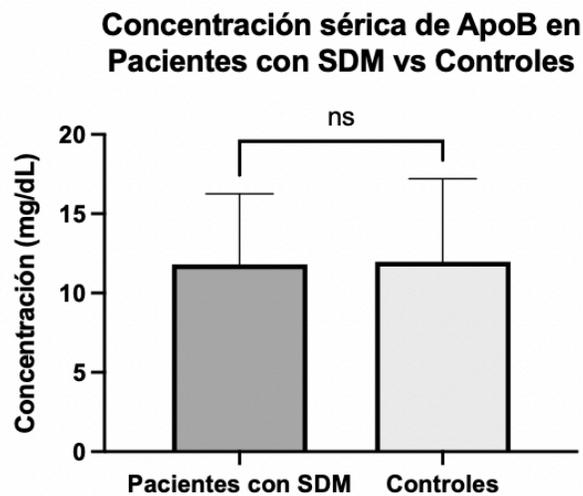


Figura 15. Niveles séricos de ApoB en pacientes con SDM vs Controles. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ambos grupos.

Posteriormente, realizamos el análisis estadístico basado en sexo. En este caso, no encontramos una diferencia estadísticamente significativa en los niveles séricos de ApoB entre hombres y mujeres (Figura 16.A), así como tampoco al analizar estas concentraciones en cada sexo (Mujeres: Figura 16.B, Hombres: Figura 16.C).

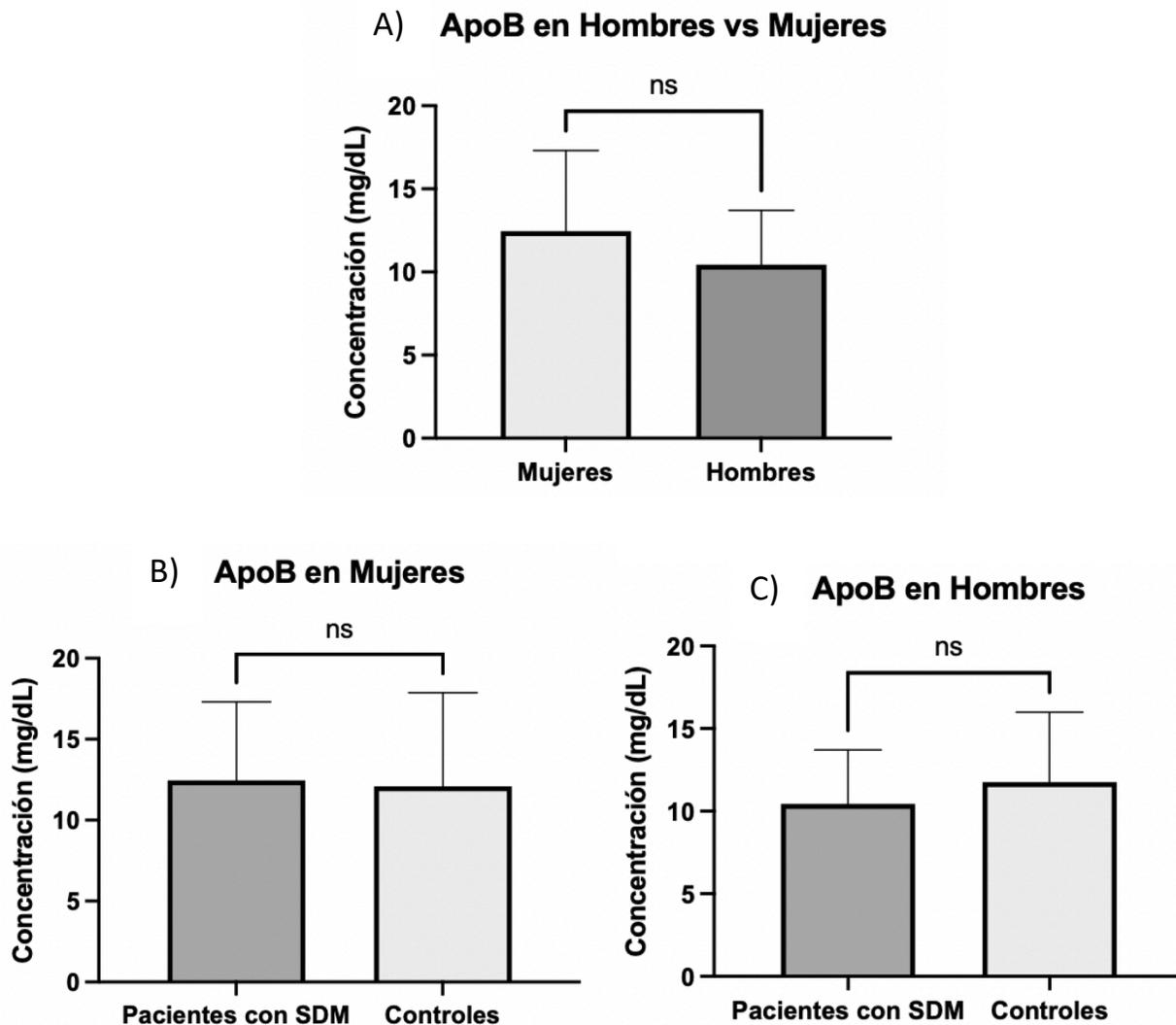


Figura 16. Niveles séricos de ApoB según sexo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoA1 entre hombres y mujeres (A). De igual manera tampoco vimos diferencias entre los niveles séricos específicamente en Mujeres (B) y Hombres (C).

Finalmente se tomó en consideración la severidad de la depresión, la IS y la conducta suicida. Para la severidad de la depresión, se encontraron niveles séricos de ApoB significativamente disminuidos en pacientes con Depresión Grave (8.830 mg/dL) en comparación con aquellos que cursan un episodio de Depresión Leve (16.30 mg/dL) (Figura 17). Por otro lado, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con y sin IS, así como tampoco entre aquellos con y sin conducta suicida (Figura 18).

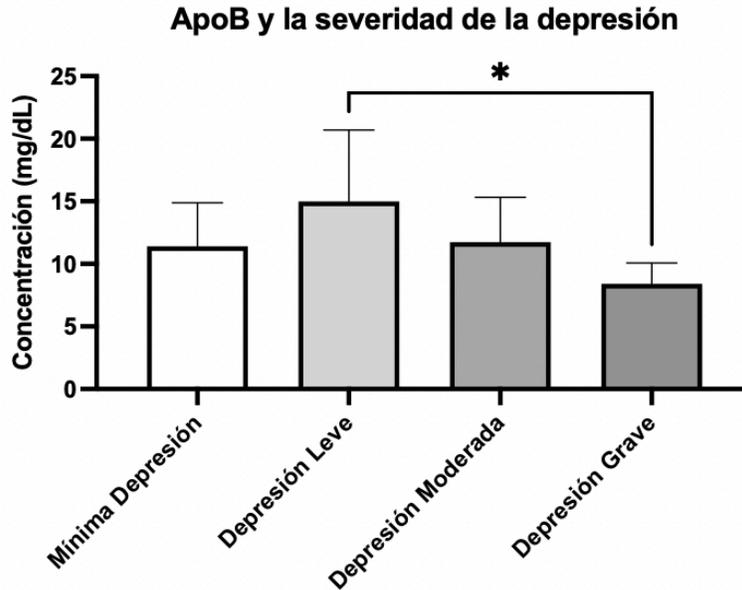


Figura 17. Niveles séricos de ApoB en muestras de pacientes según la severidad de la depresión. Los pacientes con Depresión Grave presentaron niveles séricos de ApoB significativamente disminuidos en comparación con aquellos que cursan un episodio de Depresión Leve.

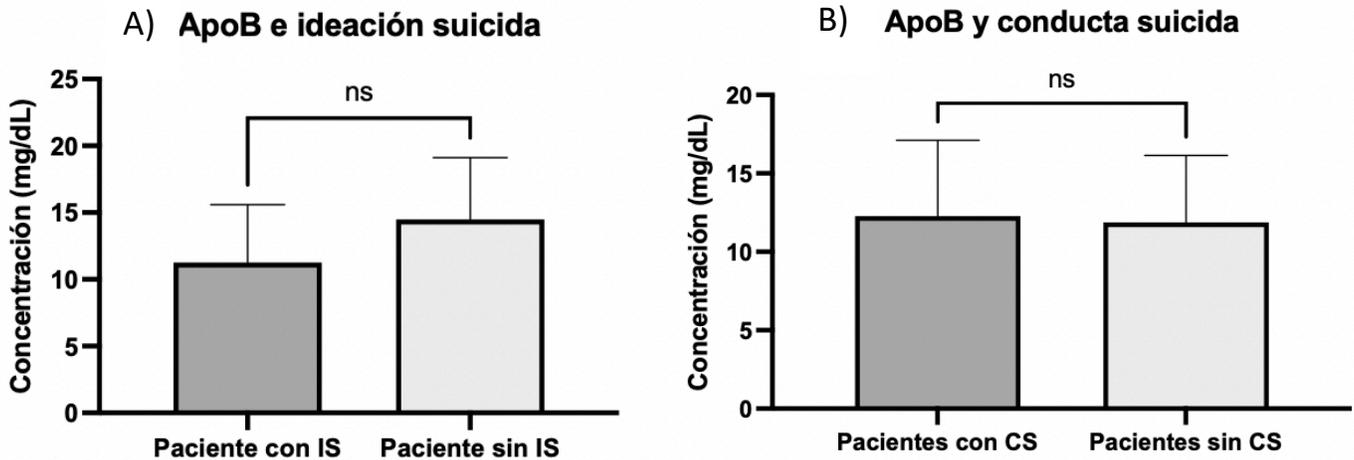


Figura 18. Niveles séricos de ApoB y la ideación/conducta suicida. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoB entre pacientes con y sin ideación suicida (A), así como entre pacientes con y sin conducta suicida (B).

8.3.4 Niveles séricos de Apolipoproteína E.

Para determinar la posible asociación de los niveles séricos de ApoE con el SDM o el suicidio, realizamos la medición sérica de ApoE en 78 muestras de suero de pacientes con

DM con y sin ideación suicida, así como en 73 muestras de suero de sujetos controles sin ideación suicida ni historial psiquiátrico. No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ApoE en pacientes en comparación con los controles (Figura 19).

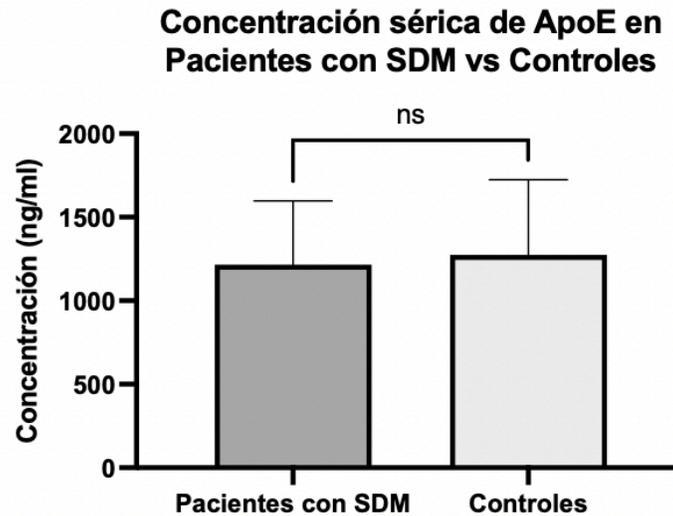
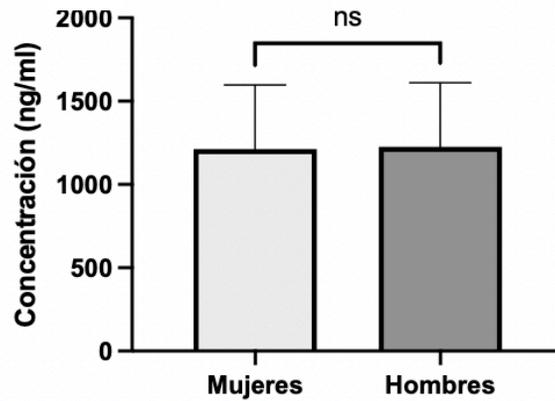


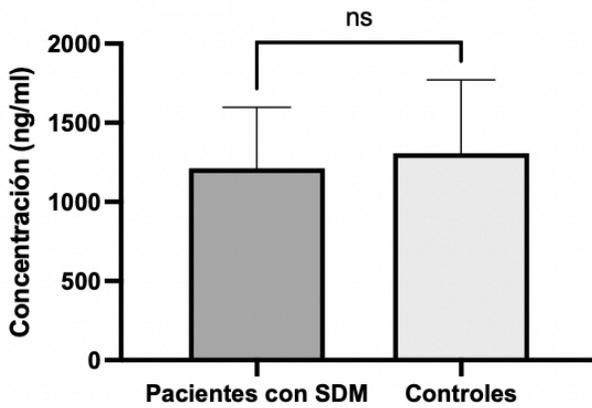
Figura 19. Niveles séricos de ApoE en pacientes con SDM vs Controles. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ambos grupos.

Al momento de realizar el análisis basado en sexo, no se encontró una diferencia entre los niveles séricos de ApoE entre hombres y mujeres (Figura 20.A). Se repitió el análisis estadístico de manera sexo específica y tampoco se observaron cambios con significancia estadística entre estos (Mujeres: Figura 20.B, Hombres: Figura 20.C).

A) ApoE en Hombres vs Mujeres



B) ApoE en Mujeres



C) ApoE en Hombres

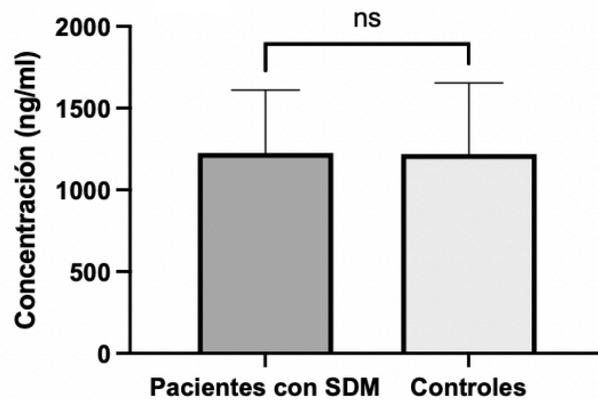


Figura 20. Niveles séricos de ApoE según sexo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoA1 entre hombres y mujeres (A). De igual manera tampoco vimos diferencias entre los niveles séricos específicamente en Mujeres (B) y Hombres (C).

Finalmente, se realizó un análisis estadístico tomando en cuenta variables obtenidas de las evaluaciones psiquiátricas. No se observó una asociación con la severidad de la depresión (Figura 21). Al tomar en cuenta las variables de ideación y conducta suicida tampoco se observaron cambios con relevancia estadística entre los niveles séricos de esta proteína (Figura 22).

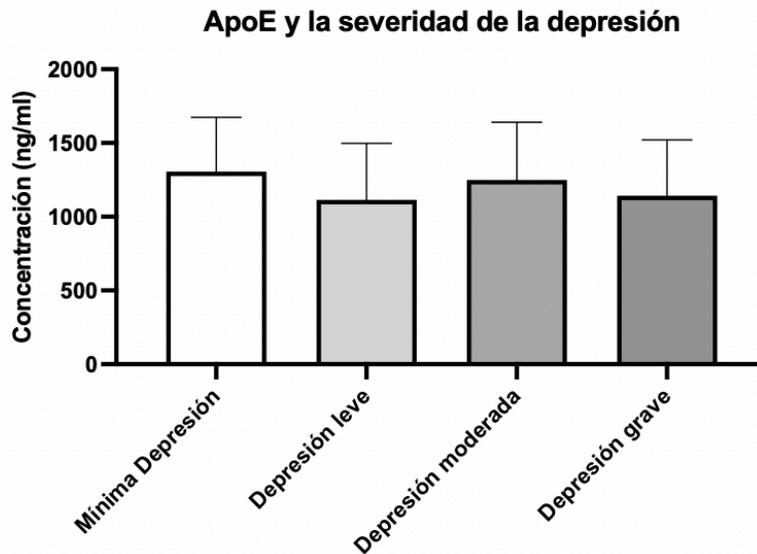


Figura 21. Niveles séricos de ApoE en muestras de pacientes según la severidad de la depresión. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos del ApoE según el grado del cuadro depresivo que cursaban los pacientes.

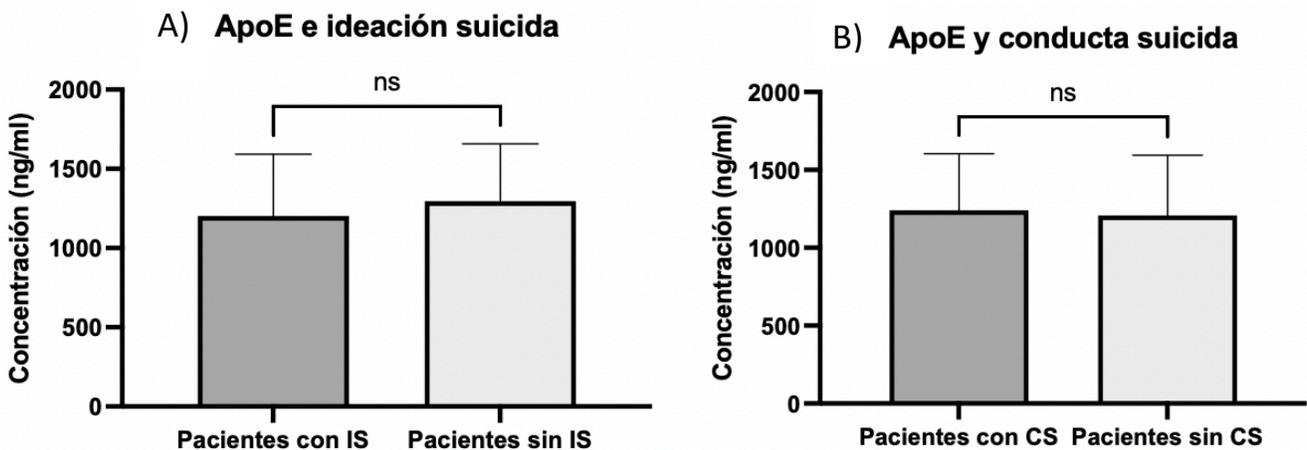


Figura 22. Niveles séricos de ApoE y la ideación/conducta suicida. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de ApoE entre pacientes con ideación suicida (A), así como en pacientes con historial de conducta suicida (B).

8.4 Identificar mediante qPCR polimorfismos en el gen *CYP46A1* para determinar su relación con los niveles de 24S-hidroxicolesterol y su probable asociación con el síndrome depresivo mayor y el suicidio.

8.4.1 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs754203 de *CYP46A1* en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Para el análisis de los polimorfismos, primero se realizó el análisis de frecuencias alélicas y genotípicas entre muestras de personas que fallecieron por suicidio comparado con controles sanos sin historial de ideación o conducta suicida. El grupo de los controles se encuentra dentro del EHW (>0.05). Para el polimorfismo rs754203 del gen *CYP46A1*, el alelo variante G se encontró asociado al suicidio en personas que consumaron el suicidio representando un riesgo 2.059 veces más alto al presentar genotipo homocigoto variante [G/G] (Tabla 12).

Tabla 12. Frecuencias genotípicas de rs754203 en casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)		
Controles	Muerte por suicidio	Frecuencia alélica	Heterocigoto	Homocigoto
N A/A= 51 N A/G= 77 N G/G= 16 f _{a1} = 0.62 +/- 0.027 p= 0.101198	N A/A= 48 N A/G= 109 N G/G= 31 f _{a1} = 0.55 +/-0.023 p= 0.020392	[A]<->[G] OR= 1.370 IC= 1.002-1.873 chi2= 3.89 p=0.04844	[AA]<->[AG] OR= 1.540 IC= 0.921-2.456 chi2= 2.67 p=0.10206	[AA+]<->[GG] OR= 2.059 IC= 1.001-4.232 chi2= 3.92 p=0.04776

8.4.2 Análisis basado en sexo para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs754203 de CYP46A1 en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Al realizar un análisis integral de los resultados, se tuvieron en cuenta la relación de las variables demográficas con respecto a las frecuencias genotípicas del polimorfismo que mostró asociación al suicidio. Se observó que el alelo variante G del polimorfismo rs754203 en el gen CYP46A1 presenta un riesgo de 2.059 sobre la población general, pero al momento de hacer una evaluación de dicho SNP en base a género, vimos que este no presenta asociación con el suicidio en mujeres, pero presenta un OR de 2 al presentar genotipo heterocigoto [A/G] (Tabla 13). Estos resultados presentan significancia estadística ($p=0.03356$) y nuestros controles se encuentran dentro del EHW (>0.05).

Tabla 13. Frecuencias genotípicas de rs754203 de hombres en muestras de casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)		
Controles	Muerte por suicidio	Frecuencia alélica	Heterocigoto	Homocigoto
N A/A= 26 N A/G= 32 N G/G= 10 f_a1= 0.62 +/-0.042 p= 0.97903	N A/A= 37 N A/G= 91 N G/G= 25 f_a1= 0.54 +/- 0.026 p= 0.014868	[A]<->[G] OR= 1.380 IC= 0.914-2.085 chi2= 2.35 p=0.12492	[AA]<->[AG] OR= 1.998 IC= 1.050-3.802 chi2= 4.52 p=0.03356	[AA+]<->[GG] OR= 1.757 IC= 0.723-4.271 chi2= 1.56 p=0.21150

8.4.3 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs754203 que mostró asociación con el suicidio.

Tras ver que el SNP en cuestión resultó ser asociado al suicidio, se realizó su investigación en la población de los pacientes. No se encontraron resultados con significancia estadística para determinar su asociación en pacientes (Tabla 14).

Tabla 14. Frecuencias genotípicas de rs754203 en pacientes y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)		
Controles	Pacientes	Frecuencia alélica	Heterocigoto	Homocigoto
N A/A= 51	N A/A= 56	[A]<->[G]	[AA]<->[AG]	[AA+]<->[GG]
N A/G= 77	N A/G= 51			
N G/G= 16	N G/G= 16	OR= 0.836	OR= 0.603	OR= 0.911
f _{a1} = 0.62	f _{a1} = 0.66 +/-	IC= 0.586-1.193	IC= 0.359-1.013	IC= 0.413-
+/-0.027	0.031	chi ² = 0.97	chi ² = 3.67	2.007
p= 0.101198	p= 0.420344	p=0.32418	p=0.05548	chi ² = 0.05
				p=0.81648

8.4.4 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs4900442 de *CYP46A1* en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Posteriormente se realizó la genotipificación del SNP rs4900442 del gen *CYP46A1* para determinar su probable asociación al suicidio. Para esto, se realizó el análisis de frecuencias alélicas y genotípicas en las muestras de los casos (muerte por suicidio) y controles (Tabla 15). No se encontró una diferencia entre las frecuencias alélicas o genotípicas de ambos grupos de estudio.

Tabla 15. Frecuencias genotípicas de rs4900442 en casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)		
Controles	Muerte por suicidio	Frecuencia alélica	Heterocigoto	Homocigoto
N C/C= 25 N C/T= 69 N T/T= 49 f _{a1} = 0.42 +/- 0.029 p= 0.933342	N C/C= 25 N C/T= 102 N T/T= 56 f _{a1} = 0.42 +/- 0.024 p= 0.045729	[C]<->[T] OR= 1.003 IC= 0.733-1.373 chi2= 0.00 p=0.98393	[CC]<->[CT] OR= 1.478 IC= 0.758-2.784 chi2= 1.47 p=0.22477	[CC+]<->[TT] OR= 1.143 IC= 0.582-2.242 chi2= 0.15 p=0.69773

8.4.5 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs4900442 que mostró asociación con el suicidio.

Por último, se realizó un análisis estadístico para evaluar las diferencias alélicas y de genotipo entre los controles y pacientes. Se observaron resultados similares, ya que no se detectaron diferencias entre las frecuencias de este polimorfismo en ambos grupos (Tabla 16).

Tabla 16. Frecuencias genotípicas de rs4900442 en pacientes y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)		
Controles	Pacientes	Frecuencia alélica	Heterocigoto	Homocigoto
N C/C= 25 N C/T= 69 N T/T= 49 f _{a1} = 0.42 +/- 0.029 p= 0.933342	N C/C= 30 N C/T= 54 N T/T= 38 f _{a1} = 0.47 +/- 0.034 p= 0.220472	[C]<->[T] OR= 0.813 IC= 0.576-1.148 chi2= 1.40 p=0.23719	[CC]<->[CT] OR= 0.652 IC= 0.344-1.236 chi2= 1.73 p=0.18873	[CC+]<->[TT] OR= 0.646 IC= 0.328-1.275 chi2= 1.59 p=0.20666

8.5 Evaluar variantes asociadas al suicidio derivadas de SNG del gen *APOE* en muestras de pacientes con diagnóstico de SDM con y sin ideación suicida.

Previo al trabajo de este proyecto de tesis, se realizó una secuenciación de exoma dirigido mediante la tecnología AmpliSeq, de Illumina, donde se identificaron variantes genómicas asociadas al suicidio utilizando el método de secuenciación dirigida a genes específicos (Targeted Gene Sequencing) del que hace uso esta nueva tecnología para secuenciar las regiones codificantes y la región promotora de 33 genes de interés en paneles personalizados previamente diseñados, donde uno de estos 33 genes que fueron analizados es el gen *APOE*.

El análisis se realizó en 96 muestras de DNA genómico que tenían una concentración >50ng/μl y que valores de calidad de 1.80 a 2.0 y 2 y 2.20, respectivamente. Las 96 muestras estaban conformadas por nuestros 3 grupos de investigación, siendo así secuenciadas 21 muestras de pacientes, 26 de muerte por suicidio, 48 controles y 1 control positivo.

8.5.1 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) para detectar posibles regiones con problemas o sesgo en nuestros datos. Algunas lecturas presentaban baja calidad en los nucleótidos de las posiciones finales, con puntajes en la escala de Phred menores a 28. Por lo tanto, se realizó una limpieza de los datos mediante el software Trimmomatic (v0.39) con el cual se logra mejorar la calidad global de los sets de lectura, dejando así únicamente las lecturas con calidad mayor a 30 en la escala de Phred. Por último, se realizó un segundo control de calidad mediante FastQC (v0.11.9) para mejorar la calidad de nuestros datos.

8.5.2 Mapeo de las lecturas contra el genoma de referencia.

Una vez concluido el control de calidad, las lecturas crudas de cada muestra fueron alineadas contra el genoma humano de referencia GRCH38.p2, ya que a partir de éste se diseñaron las sondas dirigidas a los genes de nuestro interés. Para llevar a cabo los

alineamientos de las lecturas contra su genoma de referencia se utilizó el algoritmo Burrow-Wheeler Aligner (BWA) versión 0.6. Este alineamiento permite detectar variaciones con respecto al genoma de referencia. El mapeador BWA permite realizar la identificación de SNPs e indels. 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.

Se obtuvo como datos de salida un archivo en formato SAM (Sequence Alignment/Map) el cual contiene 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, entre otros.

8.5.3 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, conocido como GATK. Este permite la identificación de las variantes genómicas (SNV, SNP e indels). Para el filtrado de las variantes se utilizó el comando “*SelectVariants*” de GATK, el cual reduce la posibilidad de que una variante sea un falso positivo usando anotaciones como Depth of coverage (DP), la cual es la profundidad de los datos disponibles para una muestra en un sitio en específico y refleja el poder que tiene para determinar el genotipo del individuo. Se seleccionaron aquellas variantes que tuvieron una profundidad de lectura de la variante con un DP >10.

Tras realizar el filtrado de las variantes, obtuvimos 9 variantes en *APOE* como candidatas con probable asociación al suicidio que fueron encontradas en las muestras de muerte por suicidio (Tabla 17). Por otro lado, 10 variantes que reportadas en el grupo control (Tabla 18).

Tabla 17. Variantes en APOE encontradas en el grupo de suicidio consumado.

CHROM	POS	ID	REF	ALT	NSAMPLES	NCALLED	HOM-REF	HET	HOM-VAR
chr19	44905579	rs405509	T	G	26	26	11	8	7
chr19	44905903	.	C	T	26	26	25	1	0
chr19	44905910	rs440446	C	G	26	26	7	10	9
chr19	44906745	rs769449	G	A	26	25	22	3	0
chr19	44908608	.	G	T	26	18	17	0	1
chr19	44908684	rs429358	T	C	26	20	18	0	2
chr19	44908698	.	G	A	26	20	19	0	1
chr19	44908733	.	A	C	26	19	18	0	1
chr19	44908822	rs7412	C	T	26	26	25	1	0

Chrom cromosoma, *Pos* posición, *Ref* referencia, *Alt* alternativo, *Nsamples* número de muestras, *Ncalled* número de llamados, *Hom-Ref* homocigoto referencia, *Het* heterocigoto, *Hom-Var* homocigoto variante

Tabla 18. Variantes en APOE encontradas en el grupo de controles.

CHROM	POS	ID	REF	ALT	NSAMPLES	NCALLED	HOM-REF	HET	HOM-VAR
chr19	44905579	rs405509	T	G	48	48	12	19	17
chr19	44905910	rs440446	C	G	48	48	14	18	16
chr19	44906338	rs147236548	G	T	48	48	47	1	0
chr19	44906745	rs769449	G	A	48	45	43	2	0
chr19	44907654	rs769451	T	G	48	48	46	1	1
chr19	44908610	.	A	G	48	28	27	0	1
chr19	44908628	.	T	C	48	29	28	0	1
chr19	44908643	.	A	G	48	29	28	0	1
chr19	44908684	rs429358	T	C	48	28	25	1	2
chr19	44908775	.	G	A	48	26	25	0	1

Chrom cromosoma, *Pos* posición, *Ref* referencia, *Alt* alternativo, *Nsamples* número de muestras, *Ncalled* número de llamados, *Hom-Ref* homocigoto referencia, *Het* heterocigoto, *Hom-Var* homocigoto variante

8.5.4 Selección de las variantes con posible asociación al suicidio.

En el gen *APOE* se exploró el conjunto de variantes obtenidas en el proyecto “Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio” en el que se hizo un llamado de variantes mediante el paquete de software Genome Analysis Tool Kit versión

4.2.0.0 y cuya anotación se hizo mediante los programas Funcotator, SnpEff v5.0e y Variant Effect Predictor v104.

Los criterios tomados en cuenta para la selección de las variantes fueron:

- La posición en el gen.
- Valores predictivos de alteración en la funcionalidad, ya sea deletéreos, dañinos o probablemente dañinos de acuerdo con los programas SIFT, PolyPhen-2 y CONDEL.
- Previa asociación con algún fenotipo relacionado a afectaciones en el sistema nervioso central (SNC).
- Diferentes proporciones genotípicas de los polimorfismos entre las cohortes de sujetos que fallecieron por suicidio y controles sanos.

Tomando en cuenta los criterios de selección antes mencionados, seleccionamos 3 SNPs que se encontraron presentes en las muestras de las personas que fallecieron por suicidio, siendo estas previamente asociadas a afectaciones de SNC y ubicadas en zonas regulatorias del gen. Las variantes seleccionadas se pueden observar en la Tabla 19.

Tabla 19. Variantes en APOE que fueron seleccionadas con posible asociación al suicidio.

<i>Gen</i>	<i>Polimorfismo</i>	<i>Localización</i>	<i>Alelo ancestral</i>	<i>Alelo variante</i>	<i>Tipo de variante</i>
APOE	rs7412	Exón	C	T	Missense
	rs405509	Promotor	T	G	Promotora
	rs440446	Exón	G	C	Missense

8.5.5 Genotipificación mediante qPCR de las variantes seleccionadas en casos (muerte por suicidio) vs controles.

8.5.5.1 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs7412 de APOE en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Para el análisis de polimorfismos, se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas en muestras de personas que fallecieron por suicidio y controles. Para el SNP rs7412, de manera general no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las frecuencias tanto alélicas como de genotipo (Tabla 20).

Tabla 20. Frecuencias genotípicas de rs7412 en casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
Controles	Muerte por suicidio	Heterocigoto	Homocigoto
		[CC]<->[CT]	[CC+]<->[TT]
N C/C= 148	N C/C= 205		
N C/T= 5	N C/T= 13	OR= 1.68	OR= 0.70
N T/T= 1	N T/T= 1	IC= 0.63-4.49	IC= 0.04-11.31
p= 0.067	p= 0.22	p=0.28	p=0.8

8.5.5.2 Análisis en basado en sexo para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs7412 de APOE en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Posteriormente se realizó el análisis de asociación de este SNP con el suicidio tomando en cuenta la variable de sexo. Al momento de correr el análisis estadístico, en hombres no se encontró significancia estadística en las frecuencias de los genotipos, por otro lado, al evaluar estos cambios en la población de mujeres, se observa una posible asociación al riesgo de suicidio en las mujeres portadoras del genotipo homocigoto para el alelo variante T (Tabla 21). Sin embargo, estos resultados deben corroborarse con un mayor tamaño de muestra debido a que la población de muerte por suicidio se encuentra dentro del EHW.

Tabla 21. Frecuencias genotípicas de rs7412 en mujeres en muestras de casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
Controles	Muerte por suicidio	Heterocigoto	Homocigoto
N C/C= 80 N C/T= 3 N T/T= 1 p= 0.059	N C/C= 30 N C/T= 5 N T/T= 0 p= 1	[CC]<->[CT] OR= 3.33 IC= 0.84-13.25 p=0.088	[CC+]<->[TT] OR= 4.50 IC= 1.01-20 p=0.04

8.5.5.3 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs7412 que mostró asociación con el suicidio.

Una vez evaluado su probable asociación con el riesgo suicida, se realizó la genotipificación del SNP rs7412 en muestras de pacientes con SDM. No encontramos diferencias entre las frecuencias alélicas y genotípicas en este grupo de estudio (Tabla 22).

Tabla 22. Frecuencias genotípicas de rs7412 en pacientes y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
Controles	Pacientes	Heterocigoto	Homocigoto
N C/C= 148 N C/T= 5 N T/T= 1 p= 0.067	N C/C= 169 N C/T= 3 N T/T= 4 p= <0.0001	[CC]<->[CT] OR= 1.02 IC= 0.34-3.11 p=0.21	[CC+]<->[TT] OR= 3.56 IC= 0.39-32.15 p=0.21

8.5.5.4 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs405509 de APOE en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Para el SNP rs405509, de manera general en las muestras de muerte por suicidio no se observaron diferencias estadísticamente significativas con probable asociación al suicidio (Tabla 23). Esto se repitió en un análisis basado en sexo y de igual manera no observamos diferencias entre las frecuencias.

Tabla 23. Frecuencias genotípicas de rs405509 en casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
Controles	Muerte por suicidio	Heterocigoto	Homocigoto
N T/T= 47 N T/G= 71 N G/G= 36 p= 0.42	N T/T= 70 N T/G= 94 N G/G= 54 p= 0.056	[TT]<->[TG] OR= 0.93 IC= 0.59-1.45 p=0.74	[TT+]<->[GG] OR= 1.08 IC= 0.67-1.75 p=0.76

8.5.5.5 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs405509.

Adicionalmente, se realizó el análisis estadístico en muestras de pacientes con SDM para ver si existía una relación con este trastorno psiquiátrico. No se reportaron diferencias entre las frecuencias alélicas y genotípicas en este grupo de estudio (Tabla 24).

Tabla 24. Frecuencias genotípicas de rs405509 en pacientes y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	Heterocigoto	Homocigoto
N T/T= 47 N T/G= 71 N G/G= 36 p= 0.42	N T/T= 60 N T/G= 75 N G/G= 40 p= 0.092	[TT]<->[TG] OR= 0.84 IC= 0.53-1.34 p=0.47	[TT+]<->[GG] OR= 0.97 IC= 0.58-1.62 p=0.91

8.5.5.6 Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs440446 de APOE en casos (muerte por suicidio) vs controles.

Por último, se evaluaron las diferencias en las frecuencias alélicas y de genotipo en muestras de personas que fallecieron por suicidio en comparación con controles para el SNP rs440446. De manera general, no se encontraron diferencias significativas para las frecuencias alélicas y genotípicas para este SNP (Tabla 25). Esto se repitió en un análisis basado en sexo y de igual manera no observamos diferencias entre las frecuencias.

Tabla 25. Frecuencias genotípicas de rs440446 en casos (muerte por suicidio) y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
<i>Controles</i>	<i>Muerte por suicidio</i>	Heterocigoto	Homocigoto
N G/G= 38 N G/C= 40 N C/C= 73 p= 0.74	N G/G= 53 N G/C= 68 N C/C= 100 p= 0.18	[GG]<->[GC] OR= 1.07 IC= 0.66-1.72 p=0.79	[GG+]<->[CC] OR= 0.88 IC= 0.58-1.34 p=0.56

8.5.5.7 Genotipificación mediante qPCR en pacientes psiquiátricos con síndrome depresivo mayor e ideación suicida del SNP rs440446.

También se realizó la genotipificación en muestras de pacientes con SDM en comparación con controles. No se encontró una posible asociación de algún alelo o genotipo de este SNP con el SDM (Tabla 26).

Tabla 26. Frecuencias genotípicas de rs440446 en pacientes y controles.

Equilibrio de Hardy-Weinberg		Análisis para asociación (IC 95%)	
Controles	Pacientes	Heterocigoto	Homocigoto
N G/G= 38	N G/G= 42	[GG]<->[GC]	[GG+]<->[CC]
N G/C= 40	N G/C= 55	OR= 1.08	OR= 0.88
N C/C= 73	N C/C= 80	IC= 0.65-1.79	IC= 0.57-1.36
p= 0.74	p= 0.23	p=0.76	p=0.57

8.6 Integrar los resultados obtenidos para proponer un perfil de potenciales biomarcadores para el diagnóstico de síndrome depresivo mayor y el riesgo suicida.

Este trabajo de tesis pertenece al proyecto titulado "Identificación de biomarcadores genómicos asociados al suicidio" aprobado por CONACyT en la convocatoria de Atención Problemas Nacionales 2017 con número de registro **5012**, cuyo responsable técnico es el Dr.C. Antonio Alí Pérez Maya. Dicho proyecto se enfoca en realizar un abordaje multidisciplinario para la búsqueda de biomarcadores en áreas como la farmacogenómica, epigenética, imagenología, diversos metabolitos séricos, micro RNA y RNAInc, entre otros.

En esta tesis de doctorado nos enfocamos en la búsqueda de biomarcadores genómicos y moleculares involucrados en el metabolismo de lípidos. Los biomarcadores genómicos a su vez pueden alterar la expresión de los biomarcadores moleculares, es por esto por lo que una vez obtenidos todos los resultados y analizados de manera individual, decidimos realizar un análisis estadístico que integrara dichos resultados para ver si los

niveles séricos de las proteínas se veían afectadas por la presencia de un genotipo en específico de un SNP con probable asociación al suicidio. Estos análisis se realizaron mediante One-way ANOVA en el programa de SPSS.

De manera general, sin tomar en cuenta el genotipo presente, los niveles séricos de los metabolitos séricos analizados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre muestras de suero de pacientes con SDM y sujetos control (Tabla 27).

Tabla 27. Biomarcadores del metabolismo del colesterol en pacientes con SDM.

	Pacientes con SDM	Controles	p
Biomarcadores			
24S-Hidroxicolesterol	12.88	14.62	0.571 ^a
ApoA1	36.89	30.90	0.231 ^a
ApoE	1285	1482	0.813 ^a
ApoB	10.04	10.41	0.960 ^a

SDM: Síndrome Depresivo Mayor

^a T-student

8.6.1 Relación entre los genotipos de SNPs del *CYP46A1* y los niveles séricos de 24S-OHC.

Para este análisis, se tomaron en cuenta los polimorfismos rs754203 y rs490042 del *CYP46A1* para evaluar su relación con los niveles séricos de 24S-OHC, ya que estos SNP se encuentran en un gen responsable de la hidroxilación de este metabolito en SNC. Este análisis se realizó en las muestras de pacientes con SDM y en muestras de controles física y mentalmente saludables, y determinó si los niveles séricos se veían influenciados dependiendo del genotipo que presentaran. Para ambos SNPs, no se encontró una relación entre los niveles séricos de 24S-OHC con respecto al genotipo que presentaran para los SNPs rs754203 (Figura 23.A) y rs490042 (Figura 22.B).

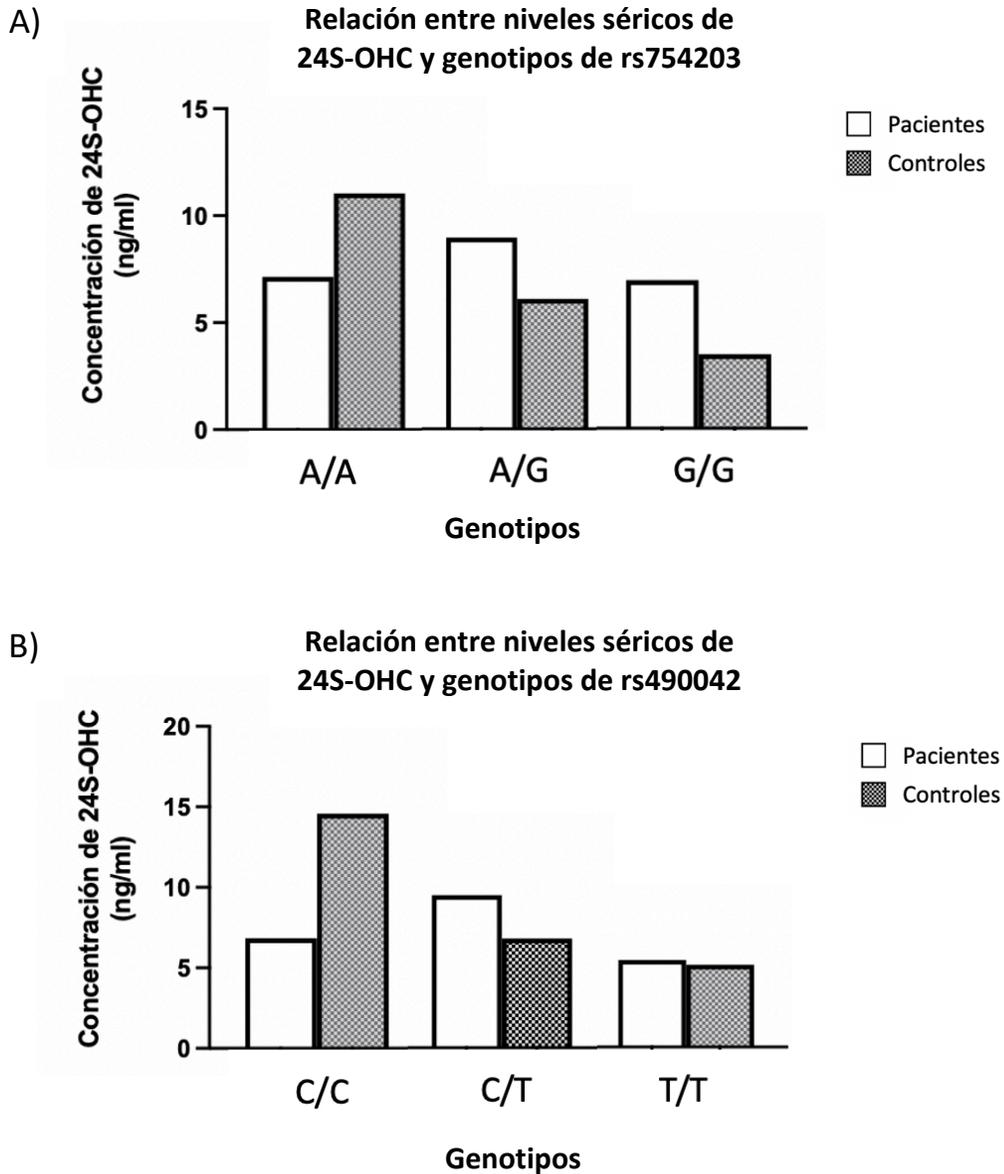


Figura 23. Relación entre genotipos de los SNPs rs754203 y rs490042 de *CYP46A1* con los niveles séricos de 24S-OHC. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de 24S-OHC dependiente de los genotipos en ambos grupos.

8.6.2 Relación entre los genotipos de SNPs de *APOE* y los niveles séricos de ApoE.

El mismo análisis se realizó considerando los resultados de los SNPs rs7412, rs405509 y rs440446 del gen *APOE* en relación con los niveles séricos de ApoE de muestras de pacientes con SDM en comparación con muestras de controles. Al evaluar la posible relación entre los genotipos de estos polimorfismos y los niveles séricos de su proteína, no

se encontró una relación entre estos que pudieran estar mediando los niveles de ApoE en suero (Figura 24).

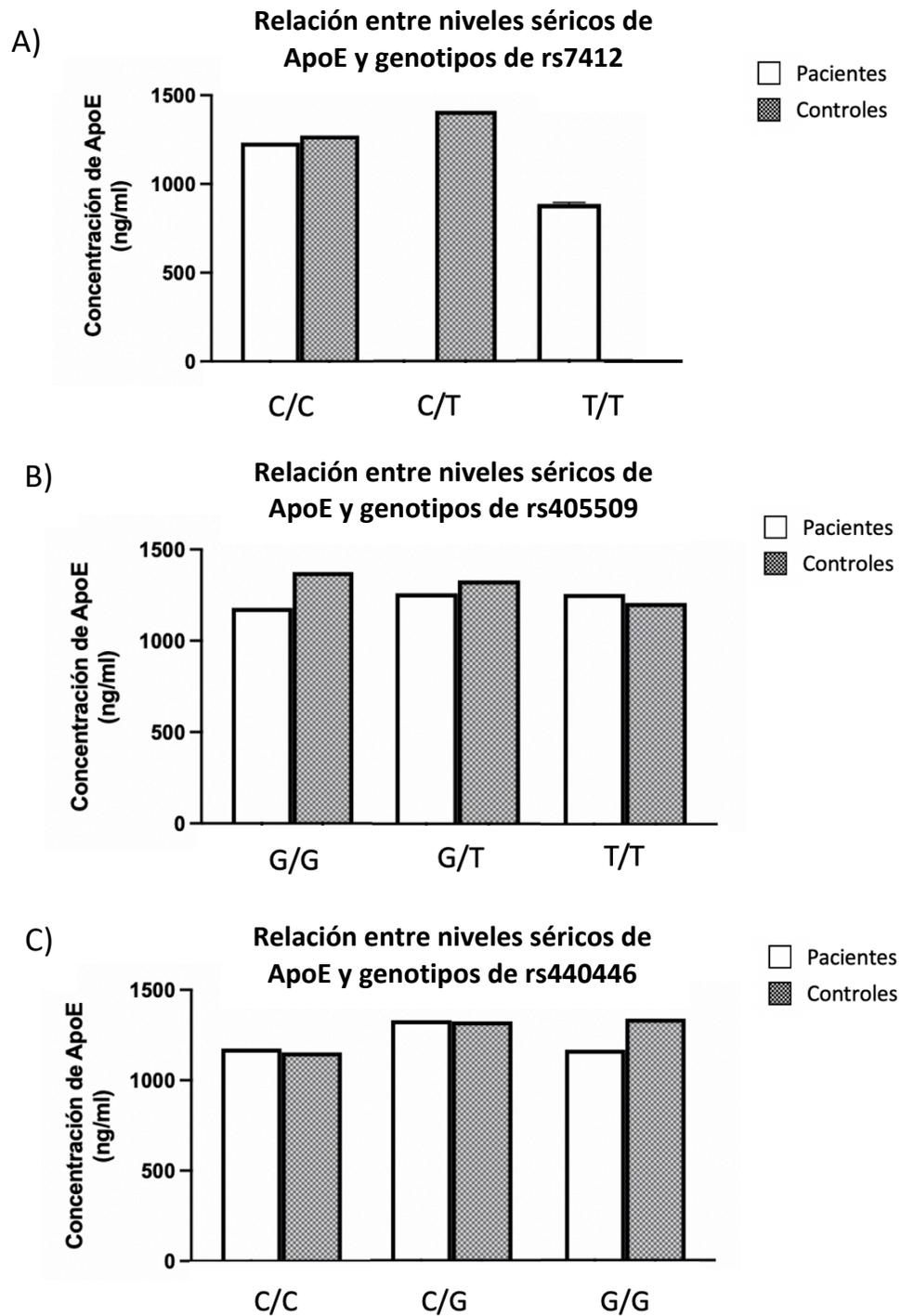


Figura 24. Relación entre genotipos de los SNPs rs7412, rs405509 y rs440446 de APOE con los niveles séricos de ApoE. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles séricos de ApoE dependiente de los genotipos en ambos grupos.

Capítulo IX

DISCUSIÓN

A nivel mundial, la tasa de suicidios es mayor en hombres que en mujeres, donde aproximadamente el 76% de los suicidios reportados son cometidos por hombres. Estos tienen cuatro veces más probabilidades de morir por suicidio que las mujeres, a pesar de que ellas reportan tener más pensamientos suicidas, pero no utilizan métodos tan letales como los hombres. La OMS informa que tres de cada cuatro intentos de suicidio son realizados por mujeres, mientras que, por cada tres suicidios en hombres, hay un suicidio en mujeres ^[39, 40].

En México, según el último informe emitido por el INEGI en 2022, los hombres de 15 a 29 años presentan el mayor riesgo, con una tasa de 16.2 suicidios por cada 100 mil hombres en este grupo de edad ^[6]. Esto concuerda con nuestra población de estudio, ya que al rededor del 83% de las muertes por suicidio en nuestro grupo fueron cometidas por hombres. Además, al considerar la edad, tanto en nuestro grupo de muerte por suicidio, así como en el grupo de pacientes con riesgo de suicidio, la mayoría se encontraba en el rango de edad de 15 a 29 años, que se sabe que es el grupo de edad más vulnerable al suicidio.

En cuanto al nivel de escolaridad, según los informes del INEGI, las personas fallecidas por suicidio suelen tener un bajo nivel de educativo, llegando incluso a la educación primaria o secundaria ^[41]. La frustración académica puede generar un sentimiento de desesperanza que, a su vez, puede llevar a actos suicidas. Se ha observado que las personas con una educación superior muestran menos tendencias suicidas, probablemente debido a que tienen mejores oportunidades laborales y, por lo tanto, una mejor calidad de vida en comparación con aquellos con menor nivel educativo, quienes

suelen encontrarse en un estatus socioeconómico bajo, con bajos ingresos personales y familiares ^[42, 43]. En este estudio, se encontró un nivel de educativo más bajo en la población de pacientes psiquiátricos, quienes también presentan un mayor riesgo de suicidio, lo cual concuerda con lo reportado por otros autores ^[73].

Entre las señales de advertencia o síntomas de suicidio se encuentran principalmente los siguientes: sentirse vacío, mostrar cambios extremos de humor, consumo frecuente de drogas o alcohol, aislamiento social, comportamientos de riesgo, sentimiento de rechazo, entre otros ^[44]. Por otro lado, es importante recordar que existen diversos factores de riesgo que pueden aumentar la probabilidad de tener ideación y conducta suicida. Estos factores de riesgo pueden ser del individuales, familiares, comunitarios o estar relacionados con el entorno en el que se encuentra la persona. Algunos de estos factores de riesgo incluyen padecer alguna enfermedad crónica, trastornos de salud mental, fracaso escolar, antecedentes familiares de conducta suicida, violencia doméstica, abuso sexual, entre muchos otros ^[45]. En nuestro estudio, analizamos las diferencias entre estas señales o factores de riesgo tanto en los pacientes como en los controles, y observamos una diferencia marcada entre los factores de riesgo presentes, ya que solo estaban presentes en los pacientes, que son nuestra población de riesgo suicida. Entre los factores de riesgo psicosociales, se encontraron antecedentes de abuso (sexual, físico, emocional o negligencia), sentimientos de rechazo o falta de sentido de pertenencia, y la falta de habilidades para enfrentar el estrés.

En este estudio, se realizaron determinaciones séricas de diferentes metabolitos relacionados con el metabolismo del colesterol, tales como el 24S-OHC, así como las apolipoproteínas A1, B y E. En cuanto al 24S-Hidroxicolesterol, se ha observado que concentraciones elevadas en SNC puede tener una actividad neurotóxica ^[25]. Este metabolito es hidroxilado por la hidroxilasa del CYP46A1, lo que facilita la eliminación del colesterol del SNC a través de la barrera hematoencefálica. Existen diferentes informes sobre los valores normales de este metabolito en suero, que varían considerablemente y

pueden verse afectados por la población estudiada [27, 46, 47]. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Bandaru y Haughey [27], quienes midieron niveles séricos de 24S-OHC en pacientes estadounidenses y obtuvieron un promedio de 12.3 ± 4.79 ng/mL como valor normal, mientras que nosotros obtuvimos cifras de 14.62 ± 7.3 ng/mL en población mexicana. Aunque este metabolito se ha asociado previamente con enfermedades neurodegenerativas como la demencia y el Alzheimer [48, 49, 50, 51], no encontramos una asociación con el suicidio y/o el SDM.

La apolipoproteína ApoA1 es el principal componente de HDL en plasma y participa en la regulación de respuestas inmunitarias y la supresión de reacciones inflamatorias. Esta proteína ha sido reportada anteriormente por Song y colaboradores [52], quienes encontraron niveles disminuidos de ApoA-1 como un fuerte factor de riesgo asociado con la neurodegeneración y el deterioro cognitivo. Además, Mathew y colaboradores [53] observaron una expresión disminuida de esta proteína en pacientes con antecedentes de autolesiones en comparación de controles sanos. Nuestros resultados muestran que los niveles séricos de ApoA-1 están significativamente disminuidos en pacientes con ideación suicida en comparación de aquellos sin IS. Esto concuerda con lo reportado por Mathew y colaboradores, donde observaron niveles de expresión alterados en pacientes con historial de conductas suicidas, tales como las autolesiones.

En la búsqueda de biomarcadores asociados al suicidio, la ApoE ha sido categorizada como uno de los principales biomarcadores de riesgo suicida [37, 38, 54, 55, 56, 57]. Esta proteína está involucrada en el transporte y captación del colesterol, lipoproteínas y triglicéridos tanto en la periferia como en SNC. Asellus y colaboradores han realizado varios estudios para determinar la relación entre ApoE y el suicidio. En alguno de sus resultados, encontraron niveles plasmáticos elevados de ApoE en pacientes con intentos de suicidio en comparación con individuos sin antecedentes de suicidio [58]. Además, el mismo grupo de investigación reportó niveles bajos de ApoE en LCR de muestras de pacientes con intento suicidio violento en comparación con aquellos que utilizaron un método no violento [59]. En

nuestro estudio, no encontramos una asociación entre los niveles séricos de ApoE y el suicidio. Sin embargo, existen múltiples informes en los que los resultados de ApoE en relación con la psiquiatría son inconsistentes y no todos logran detectar una asociación significativa de ApoE con el riesgo suicida [60, 61, 62].

Por otro lado, la ApoB es la proteína principal de los quilomicrones y las LDL. Edgar y colaboradores realizaron un estudio familiar en el que encontraron una mutación en *APOB* (apoB29.4) en un hombre que presentaba comportamiento violento [33]. Esta proteína también se ha visto asociada con la disfunción cognitiva [63]. En nuestro estudio, analizamos esta proteína en muestras de suero de pacientes con SDM, donde al considerar la variable de la severidad de la depresión vimos que los niveles séricos de ApoB se encontraban significativamente disminuidos en pacientes cursando un cuadro de depresión grave.

Es importante mencionar que nuestras mediciones se realizaron en muestras de suero de pacientes que ya han acudido a terapia, por lo tanto, se encuentran bajo tratamiento con antidepresivos. Esto es de relevancia ya que está reportado por múltiples artículos que este tipo de fármacos puede alterar los niveles de diversos metabolitos implicados en el metabolismo del colesterol [64, 65, 66]. Por lo tanto, nuestros resultados se deben corroborar en muestras de pacientes que no estén bajo tratamientos de este tipo que pudieran estar enmascarando los resultados esperados.

Posterior al análisis de posibles biomarcadores séricos, se analizaron biomarcadores genéticos en muestras de ADN de los tres grupos de investigación. Primero realizamos una genotipificación mediante qPCR en dos SNPs del gen *CYP46A1*. Ambos polimorfismos se encuentran ubicados en regiones intrónicas de dicho gen, el cual codifica a la enzima 24-hidroxisasa que participa en la hidroxilación del 24S-OHC [25, 27]. En nuestro estudio reportamos una posible asociación entre portadores del alelo variante G del SNP rs754203 con el riesgo de suicidio, especialmente en hombres. Este polimorfismo se encuentra ubicado cerca de la región que expresa un RNAInc, RP11-543C4.3-001, el cual ya se ha

reportado que es capaz de regular la expresión de *CYP46A1*, por lo tanto, este polimorfismo podría estar afectando así la expresión de dicho gen, alterando así la hidroxilación del colesterol en SNC [67].

También se evaluaron variantes genéticas con posible asociación al suicidio las cuales fueron derivadas de SNG en el gen *APOE* en muestras de personas que fallecieron por suicidio, pacientes con diagnóstico de SDM y muestras control. Tras realizar el filtrado de las variantes obtenidas para este gen, se seleccionaron tres SNP, siendo estos los siguientes: rs7412, rs405509 y rs440446. Esta selección se debió a la previa relación de estos SNPs con un fenotipo relacionado a afectaciones en SNC. De estos polimorfismos analizados, únicamente el rs7412 mostró probable asociación al suicidio con el genotipo homocigoto T/T, aumentando cuatro veces el riesgo en mujeres. Este polimorfismo es una variante missense y es parte determinante de la isoforma de ApoE [68]. ApoE se puede encontrar en tres isoformas: ApoE2, ApoE3 y ApoE4. De estas, ApoE4 ha sido previamente asociada a la enfermedad de Alzheimer. Estas isoformas son importantes ya que dependiendo de la isoforma que se encuentre presente, esto va a definir la afinidad de unión por las lipoproteínas y los receptores LDL, influyendo así en los niveles de colesterol [69, 70]. Nosotros reportamos un probable riesgo 4.5 veces más alto en las mujeres que presentan el genotipo homocigoto para la variante T.

Realizamos la integración de nuestros resultados tanto moleculares como genéticos ya que obtuvimos resultados favorables donde vimos asociación de SNPs en *CYP46A1* y *APOE* con el suicidio, los cuales a su vez podrían estar implicados en los cambios de expresión de sus respectivas proteínas. No hubo diferencias significativas entre los niveles séricos de 24S-OHC y ApoE dependientes de los genotipos en pacientes y controles. Este fue el primer estudio en evaluar la relación entre niveles séricos de 24S-OHC y ApoE con SNPs que podrían estar mediando su expresión. Sin embargo, es importante recordar la limitante con la que contamos, siendo esta que las muestras de suero que analizamos pertenecen a pacientes que se encuentran bajo tratamiento antidepresivo, lo cual podría

estar enmascarando los resultados, dado que el fármaco podría haber estabilizado los niveles séricos de estas proteínas.

En resumen, nuestro estudio proporciona información relevante sobre los factores de riesgo y biomarcadores potenciales asociados con la ideación suicida. Se observaron diferencias significativas en factores de riesgo psicosociales y en los niveles séricos de ApoA1 y ApoB, mientras que no se encontraron asociaciones significativas con los niveles séricos de 24S-Hidroxicolesterol y ApoE. Sin embargo, es importante tener en cuenta las limitaciones de nuestro estudio, como el tamaño de la muestra y la falta de control sobre otros posibles factores de confusión. Se requiere más investigación en este campo para comprender mejor la relación entre los factores de riesgo y los biomarcadores en la ideación suicida y el trastorno depresivo mayor.

Capítulo X

CONCLUSIONES

1. La ideación y la conducta suicida se pueden ver influenciadas por factores clínicos y psicosociales, siendo estos de gran importancia al momento de realizar una evaluación clínica para brindar un tratamiento adecuado.
2. Los principales factores de riesgo clínicos y psicosociales detectados fueron ser hombre entre las edades de 20-40 años, contar con antecedentes de abuso (sexual, físico y/o emocional), así como el sentimiento de rechazo y el sentirse poco o nada útil.
3. Los niveles séricos de ApoA-1 se encontraron significativamente disminuidos en pacientes con ideación suicida en comparación de aquellos sin ideación.
4. Los niveles séricos de ApoB fueron significativamente disminuidos en pacientes con depresión grave en comparación de aquellos que cursan un episodio de depresión leve.
5. Para el polimorfismo rs754203 del gen *CYP46A1*, el alelo variante G se encontró con probable asociación al suicidio, representando un riesgo 2.059 veces más alto al presentar genotipo homocigoto variante [G/G].
6. Los hombres con genotipo heterocigoto A/G para el polimorfismo *rs754203* de *CYP46A1* presentan un riesgo 2 veces mayor de riesgo suicida que la población general.
7. Los resultados del estudio actual informan la primera posible asociación entre los portadores del alelo G (A/G + G/G) de rs754203 y un mayor riesgo de suicidio.
8. Para el polimorfismo rs7412 del gen *APOE*, el genotipo homocigoto T/T se encontró asociado con un riesgo 4 veces mayor en mujeres en comparación con la población en general.

9. Este es el primer estudio en evaluar la relación entre niveles séricos de 24S-OHC y ApoE con SNPs que podrían estar mediando su expresión.
10. No hubo diferencias significativas entre los niveles séricos de 24S-OHC y ApoE dependientes de los genotipos en ambos grupos.

Capítulo XI

PERSPECTIVAS

1. Evaluar los niveles séricos de 24S-OHC, ApoA-1, ApoB y ApoE en pacientes con y sin tratamiento psiquiátrico, así como también evaluar las diferencias de los niveles séricos antes y después del tratamiento.
2. Evaluar la probable asociación de los diferentes biomarcadores analizados con un diagnóstico psiquiátrico en específico, tales como Depresión Mayor, Trastorno Bipolar y Esquizofrenia, esto para brindar un mejor diagnóstico, así como un tratamiento oportuno y eficaz al paciente.
3. Desarrollar un algoritmo basado en *Machine Learning* haciendo uso de datos epidemiológicos, clínicos, heredofamiliares y genómicos obtenidos a partir de genotipificación a gran escala con microarreglos y secuenciación de nueva generación que permita apoyar el diagnóstico, seguimiento y prevención del riesgo suicida en pacientes psiquiátricos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Juan Ramón de la Fuente y Gerhard Heinze. Salud Mental y Medicina Psicológica. Editorial McGraw Hill, 3ra edición (2018). ISBN 978-607-02-9884-4.
2. José Manuel Corpas Nogales. Aproximación social y cultural al fenómeno del suicidio. Comunidades étnicas amerindias. *Gazeta de Antropología*, 2011, 27 (2), artículo 33. ISSN 0214 - 7564.
3. Organización Mundial de la Salud (2024). Suicidio. En línea: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/suicide>
4. Saloni Dattani et al. (2023) Suicides. Publicado en línea por Our World in Data en <https://ourworldindata.org/suicide>.
5. Morfin López, Teresita. Fenómeno suicida: un acercamiento transdisciplinario. Editorial El Manual Moderno, 2015. ISBN 978-607-448-487-8.
6. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2023). Estadísticas a propósito del día mundial para la prevención del suicidio. Datos Nacionales.
7. American Foundation for Suicide Prevention (2019). Risk factors and warning signs. En línea: <https://afsp.org/about-suicide/risk-factors-and-warning-signs/>
8. Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (2012). Guía de Práctica Clínica de Prevención y Tratamiento de la Conducta Suicida. Capítulo 4. Factores asociados con la conducta suicida y evaluación del riesgo suicida.
9. Organización Panamericana de la Salud (2014). Mortalidad por suicidio en las Américas. Informe regional. ISBN 978-92-75-31843-0.
10. Philippe Courtet. *Understanding Suicide, From Diagnosis to Personalized Treatment*. Springer, 2016. ISBN 978-3-319-26282-6.
11. Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (2013). Guía de Práctica Clínica sobre el Manejo de la Depresión Mayor en el Adulto. Capítulo 4. Definición y diagnóstico de la depresión mayor.

12. Goñi-Sarriés, Adriana et al. Are Previous Suicide Attempts a Risk Factor for Completed Suicide? *Psicothema* 2018, Vol. 30, No. 1, 33-38. DOI 10.7334/psicothema2016.318.
13. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (2017). Definiciones: Violencia Autodirigida. En línea: <https://www.cdc.gov/violenceprevention/suicide/definitions.html>.
14. Paula J. Clayton et al (2018). Suicidal Behavior and Self-Injury. MSD Manual, Mental Health Disorders.
15. Dr. Kelly Posner Gerstenhaber, The Columbia Lighthouse Project (2016). The Columbia Suicide Severity Rating Scale (C-SSRS).
16. Hidalgo-Rasmussen, C., Hidalgo-San Martín A. Comportamientos de riesgo de suicidio y calidad de vida, por género, en adolescentes mexicanos, estudiantes de preparatoria. *Ciência & Saúde Coletiva*, 20(11):3437-3445, 2015. DOI 10.1590/1413-812320152011.18692014.
17. The Columbia Lighthouse Project (2016). About the Columbia Protocol (C-SSRS). En línea: <http://cssrs.columbia.edu/the-columbia-scale-c-ssrs/about-the-scale>.
18. H Le-Niculescu et al. Discovery and validation of blood biomarkers for suicidality. *Molecular Psychiatry* (2013) 18, 1249-1264.
19. L. Oyejide, O.R. Mendes, I. Mikaelian (2017). Chapter 16: Molecular Pathology: Applications in Nonclinical Drug Development. A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development.
20. H. Blasco-Fontecilla et al. Predicting Suicidal Behavior: are we really that far along? Comment on "Discovery and Validation of Blood Biomarkers for Suicidability". *Curr Psychiatry Rep* (2013) 15:424.
21. Messaoud et al. Is low total cholesterol levels associated with suicide attempt in depressive patients? *Ann Gen Psychiatry* (2017). DOI 10.1186/s12991-017-0144-4.
22. M. da Graça Cantarelli et al. Serum triglycerides, but not cholesterol or leptin, are decreased in suicide attempters with mood disorders. *Journal of Affective Disorders*, 172 (2015) 403-409.

23. Yogesh Dwivedi. *The Neurobiological Basis of Suicide*. Taylor & Francis Group, LLC (2012). Chapter 7, 129-131.
24. Gloria Lena Vega *et al.* Reduction in levels of 24S-hydroxycholesterol by statin treatment in patients with Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 2003;60:510-515.
25. E. Freemantle *et al.* Analysis of oxysterols and cholesterol in prefrontal cortex of suicides. *International Journal of Neuropsychopharmacology* (2013), 16, 1241-1249. DOI: 10.1017/S1461145712001587.
26. Segoviano-Mendoza *et al.* Hypocholesterolemia is an independent risk factor for depression disorder and suicide attempt in Northern Mexican population. *BMC Psychiatry* (2018) 18:7. DOI 10.1186/s12888-018-1596-z.
27. Bandaru y Haughey. Quantitative detection of free 24S-hydroxycholesterol, and 27-hydroxycholesterol from human serum. *BMC Neuroscinece* (2014) 15:137.
28. EEM Knowles *et al.* Disentangling the genetic overlap between cholesterol and suicide risk. *American College of Neuropsychopharmacology* (2018) 0:1-8.
29. Alisa G. Woods *et al.* Potential biomarkers in psychiatry: focus on the cholesterol system. *J. Cell. Mol. Med.* Vol 16, No 6, 2012 pp. 1184-1195. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01543.x.
30. Elliott *et al.* Apolipoproteins in the brain: implications for neurological and psychiatric disorders. *Clin Lipidol.* 2010; 51(4): 555-573. doi:10.2217/CLP.10.37.
31. Hayashi-Takagi *et al.* Peripheral biomarkers revisited: Integrative profiling of peripheral samples for psychiatric research. *Biol Psychiatry.* 2014; 75(12):920-928. doi:10.1016/j.biopsych.2013.09.035.
32. National Center for Biotechnology Information (2019). APOB, apolipoprotein B [*Homo sapiens* (human)]. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/338>.
33. PF Edgar *et al.* Violent behavior associated with hypocholesterolemia due to a novel *APOB* gene mutation. *Molecular Psychiatry* (2017) 12, 258-263. doi:10.1038/sj.mp.4001910.

34. Winham *et al.* Bipolar disorder with comorbid binge eating history: A genome-wide association study implicates *APOB*. *J Affect Disord.* 2014; 165: 151-158. doi:10.1016/j.jad.2014.04.026.
35. National Center for Biotechnology Information (2019). APOE, apolipoprotein E [*Homo sapiens* (human)]. En línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/348>.
36. Forero *et al.* *APOE* gene and neuropsychiatric disorders and endophenotypes: a comprehensive review. *American Journal of Genetics* (2016). DOI 10.1002/ajmg.b.32516.
37. P. Asellus *et al.* CSF apolipoprotein E in attempted suicide. *Journal of Affective Disorders* 225 (2018) 246–249. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2017.08.019>.
38. P. Asellus *et al.* Plasma apolipoprotein E and severity of suicidal behavior. *Journal of Affective Disorders* 190 (2016) 137–142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.024>.
39. World Health Organization (2019). Suicide in the World, Global Health Estimates. WHO/MSD/MER/19.3.
40. Raymond P. Tucker. Suicide Statistics by Gender. CAMS-care, Preventing Suicide (2019).
41. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2019). Estadísticas a propósito del día mundial para la prevención del suicidio. Datos Nacionales.
42. Claudia Armida González Melendrez (2021). Suicidio estudiantil bajo el modelo educativo basado en competencias.
43. Claudio Alberto Dávila Cervantes. Adolescentes en riesgo: factores asociados con el intento de suicidio en México. *Revista Gerencia y Políticas de Salud*, vol. 17, num. 34, 2018. DOI: <https://doi.org/10.11144/Javeriana.rgsp17-34.arfa>.
44. Mayo Clinic (2022). Suicidio y pensamientos suicidas. En línea: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/suicide/symptoms-causes/syc-20378048>.

45. Beatriz Corona Miranda *et al.* Mortalidad por suicidio, factores de riesgo y protectores. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* Vol.15. No.1. La Habana ene-feb 2016.
46. Koschack *et al.* Serum 24S-hydroxycholesterol and hippocampal size in middle-aged normal individuals. *Neurobiology of Aging* (2009).
47. Chiappelli *et al.* Assessment of brain cholesterol metabolism biomarker 24S-hydroxycholesterol in schizophrenia. *NPJ Schizophrenia* (2020).
48. Loera-Valencia R. *et al.* Alterations in cholesterol metabolism as a risk factor for developing Alzheimer's disease: Potential novel targets for treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019 Jun;190:104-114. doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.03.003. Epub 2019 Mar 13. PMID: 30878503.
49. Papassotiropoulos A. *et al.* 24S-hydroxycholesterol in cerebrospinal fluid is elevated in early stages of dementia. *J Psychiatr Res.* 2002 Jan-Feb;36(1):27-32. doi: 10.1016/s0022-3956(01)00050-4. PMID: 11755458.
50. Papassotiropoulos A. *et al.* Plasma 24S-hydroxycholesterol: a peripheral indicator of neuronal degeneration and potential state marker for Alzheimer's disease. *Neuroreport.* 2000 Jun 26;11(9):1959-62. doi: 10.1097/00001756-200006260-00030. PMID: 10884051.
51. Leoni V, Caccia C. Oxysterols as biomarkers in neurodegenerative diseases. *Chem Phys Lipids.* 2011 Sep;164(6):515-24. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2011.04.002. Epub 2011 Apr 16. PMID: 21515244.
52. Song, F. *et al.* (2012). Plasma apolipoprotein levels are associated with cognitive status and decline in a community cohort of older individuals. *PLoS ONE*, 7(6).
53. Mathew, B. *et al.* (2019). Downregulation of apolipoprotein A-IV in plasma & impaired reverse cholesterol transport in individuals with recent acts of deliberate self-harm. *The Indian Journal of Medical Research*, 150(4), 365–375.
54. Niculescu AB. *et al.* Precision medicine for suicidality: from universality to subtypes and personalization. *Mol Psychiatry.* 2017 Sep;22(9):1250-1273. doi: 10.1038/mp.2017.128. Epub 2017 Aug 15. PMID: 28809398; PMCID: PMC5582166.

55. Calderón-Garcidueñas L. et al. Alzheimer's disease and alpha-synuclein pathology in the olfactory bulbs of infants, children, teens and adults ≤ 40 years in Metropolitan Mexico City. APOE4 carriers at higher risk of suicide accelerate their olfactory bulb pathology. *Environ Res.* 2018 Oct;166:348-362. doi: 10.1016/j.envres.2018.06.027. Epub 2018 Jun 20. PMID: 29935448.
56. Serna-Rodríguez MF. et al. Apolipoproteins and Suicide: A Potential Psychiatric Biomarker. *Arch Suicide Res.* 2022 Aug 18:1-19. doi: 10.1080/13811118.2022.2111533. Epub ahead of print. PMID: 35980143.
57. Madia Lozupone et al. Apolipoprotein E genotype, inflammatory biomarkers, and non-psychiatric multimorbidity contribute to the suicidal ideation phenotype in older age. The Salus in Apulia Study. *Journal of Affective Disorders*, Volume 319, 2022. Pages 202-212, ISSN 0165-0327.
58. Asellus, P., Nordström, P., Nordström, A. L., & Jokinen, J. (2016). Plasma apolipoprotein e and severity of suicidal behaviour. *Journal of Affective Disorders*, 190, 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.024>.
59. Asellus, P., Nordström, P., Nordström, A. L., & Jokinen, J. (2018). CSF Apolipoprotein E in attempted suicide. *Journal of Affective Disorders*, 225, 246–249. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.08.019>.
60. Yoshida, Koji *et al.* 'Tau and Amyloid- β Pathology in Japanese Forensic Autopsy Series Under 40 Years of Age: Prevalence and Association with APOE Genotype and Suicide Risk'. 1 Jan. 2019.
61. Su, Y. Y. *et al.* (2015). Frequencies of apolipoprotein e alleles in depressed patients undergoing hemodialysis - A case-control study. In *Renal Failure* (Vol. 37, Issue 5)
62. Saiz, P. *et al.* (2011). Role of serotonergic-related systems in suicidal behavior: Data from a case-control association study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*.
63. Hui, L. *et al.* (2017). Serum ApoB levels in depressive patients: Associated with cognitive deficits. *Scientific Reports*, 7, 1–6.

64. Balog M. et al. Effects of Psychotropic Medication on Somatic Sterol Biosynthesis of Adult Mice. *Biomolecules*. 2022 Oct 21;12(10):1535.
65. Højlund M. et al. Impact of low-dose quetiapine-use on glycosylated hemoglobin, triglyceride and cholesterol levels. *Acta Psychiatr Scand*. 2023 Jan;147(1):105-116.
66. Richards-Belle A. et al. Associations of antidepressants and antipsychotics with lipid parameters: Do *CYP2C19/CYP2D6* genes play a role? A UK population-based study. *J Psychopharmacol*. 2023.
67. Shi et al. Increased Plasma Level of 24S-Hydroxycholesterol and Polymorphism of *CYP46A1* SNP (rs754203) Are Associated With Mild Cognitive Impairment in Patients With Type 2 Diabetes. *Frontiers in Aging Neuroscience* (2021).
68. Ariza, MJ. et al. Additive effects of *LPL*, *APOA5* and *APOE* variant combinations on triglyceride levels and hypertriglyceridemia: results of the ICARIA genetic sub-study. *BMC Med Genet* 11, 66 (2010).
69. Abramova O. et al. Suicide-Related Single Nucleotide Polymorphisms, *rs4918918* and *rs10903034*: Association with Dementia in Older Adults. *Genes (Basel)*. 2022.
70. Fan J. et al. The Contribution of Genetic Factors to Cognitive Impairment and Dementia: Apolipoprotein E Gene, Gene Interactions, and Polygenic Risk. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019
71. Cho, H., Shin, J., and Choi, J.K. Serum Lipid Levels and Suicidal Ideation of Adults: A Cross-Sectional Study Using the Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *J. Clin. Med*. 2023, 12, 4285. <https://doi.org/10.3390/jcm12134285>
72. Levin Y, Wang L, Schwarz E, Koethe D, Leweke FM, Bahn S. Global proteomic profiling reveals altered proteomic signature in schizophrenia serum. *Mol Psychiatry*. 2010 Nov;15(11):1088-100. doi: 10.1038/mp.2009.54. Epub 2009 Jun 23. PMID: 19546861.
73. Phillips JA, Hempstead K. Differences in U.S. Suicide Rates by Educational Attainment, 2000-2014. *Am J Prev Med*. 2017 Oct;53(4):e123-e130. DOI 10.1016/j.amepre.2017.04.010.

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 P118-00052 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 4º 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 BI18-00002.

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: 818329 4050, Ext. 2870 a 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanl.com



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.

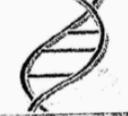
¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

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.

1
 VISIÓN 2020 UANL
 Educación de clase mundial.
 un compromiso social

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



Formato de Consentimiento Informado: identificación de biomarcadores genómicos asociados a 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. Mitras Centro
 Monterrey, N. L., México C.P. 64460
 Tels: 8329 41.73 / 8329 4174 Fax 8333 77.47
 E-mail: bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



1
Visión
2020
UANL

*"Educación de clase mundial.
 un compromiso social"*



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 2018 Dr. Antonio Ali Pérez Maya

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR

Ave. Francisco J. 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"



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 Ali 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. 64400
Tels. 8329 41 73 / 8329 4174 Fax 8333 77 47
E-mail: bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



3
Visión
2020
UANL

"Educación de clase mundial,
un compromiso social"



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 a suicidio
Versión 3^o 27 de Abril de 2010. 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 41 74 Fax 8333 77 47
E-mail: bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



4
Visión
2020
UANL

*Educación de clase mundial,
un compromiso social*



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 realizarlo 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 suicidio
Versión: 3.0 27 de Abril de 2018. Dr. Antonio Ali Pérez Maya

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR

Av. 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



5

Vision
2020
UANL

"Educación de clase mundial,
un compromiso social"



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 genómicos asociados al suicidio
Versión 3.0 27 de Abril de 2016 Dr. Antonio Ali 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 8323.77.47
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

[Handwritten signature]
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN

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. Mitras Centro
Monterrey, N. L., México C.P. 64460
Tels. 8329.41.73 / 8329.4174 Fax 8333.77.47
E-mail. bioquimicaymedicinamolecular@hotmail.com



Visión 2020 UANL

"Educación de clase mundial, un compromiso social"

Anexo 3. Hoja de Recolección de Datos.

Proyecto: IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES GENÓMICOS 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						
Estatura	_____ m	IMC _____					
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					

¿Consumes alcohol? Sí No

¿Cuántas bebidas consume en un día de consumo normal? 1 o 2 3 o 4 5 o 6 7, 8 o 9 10 o más

¿Con qué frecuencia consume alguna bebida alcohólica? Nunca 1 o 2 veces al mes 2 o 4 veces al mes 2 a 3 veces en la semana 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 Cáncer de mama Cáncer de ovario Cáncer de colon *Especifique* Línea materna Línea paterna Edad _____

Tipo de cáncer de familiar 3 Cáncer de mama Cáncer de ovario Cáncer de colon *Especifique* Línea materna 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).

ESCALA COLUMBIA PARA EVALUAR LA SERIEDAD DE LA IDEACIÓN SUICIDA (C-SSRS)

Versión de primera evaluación/cribado

Versión de 1/14/09

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

Exención de responsabilidad:

Esta escala es para el uso de individuos que han sido entrenados en su administración. Las preguntas de la Escala Columbia para evaluar la seriedad de la ideación suicida (C-SSRS) son pruebas sugeridas. En última instancia, la determinación de la presencia de ideación o comportamiento suicida depende del juicio del individuo que administra la escala.

*Las definiciones de las manifestaciones de comportamientos suicidas de esta escala se basan en aquellas usadas en **The Columbia Suicide History Form**, documento elaborado por 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. In M.B. First [Ed.] Standardized Evaluation in Clinical Practice, pp. 103 -130, 2003).*

Para reimpressiones de la escala C-SSRS, comunicarse con Kelly Posner, Ph.D., New York State Psychiatric Institute, 1051 Riverside Drive, New York, New York, 10032; para información y requisitos de entrenamiento escriba a la siguiente dirección de correo electrónico: posnerk@nyspi.columbia.edu

© 2008 The Research Foundation for Mental Hygiene, Inc.

IDEACIÓN SUICIDA			
<p>Haga las preguntas 1 y 2. Si ambas respuestas son negativas, pase a la sección de "Comportamiento suicida". Si la respuesta a la pregunta 2 es "sí", haga las preguntas 3, 4 y 5. Si la respuesta a la pregunta 1 y/o 2 es "sí", complete la sección "Intensidad de la ideación" más abajo.</p>		Considerando toda la vida - (cuando la persona sintió más ganas de suicidarse)	1 mes pasado
<p>1. Deseos de morir El/la participante reconoce tener pensamientos sobre su deseo de morir o dejar de vivir o de quedarse dormido/a y no despertar. <i>¿Ha deseado estar muerto/a o quedarse dormido/a y no despertar?</i></p> <p>Si la respuesta es "sí", describa:</p>		Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>2. Pensamientos suicidas activos no específicos Pensamientos no específicos de querer terminar con su vida/suicidarse (p. ej., "He pensado en suicidarme") sin pensamientos sobre las maneras de matarse, métodos relacionados, intenciones o plandurante el período de evaluación. <i>¿Ha pensado realmente en matarse?</i></p> <p>Si la respuesta es "sí", describa:</p>		Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>3. Ideación suicida activa con cualquier método (no un plan) sin intención de actuar El/la participante reconoce tener pensamientos suicidas y ha pensado en al menos un método durante el período de evaluación. Esto es diferente a un plan específico con hora, lugar o detalles del método elaborado (p. ej., ha pensado en el método para suicidarse pero no en un plan específico). Incluye a las personas que digan: "He pensado en tomar una sobredosis pero nunca he ideado un plan específico de cuándo, dónde o cómo lo haría... y nunca lo llevaría a cabo". <i>¿Ha pensado en cómo podría hacerlo?</i></p> <p>Si la respuesta es "sí", describa:</p>		Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>4. Ideación suicida activa con cierta intención de actuar, sin un plan específico El/la participante tiene pensamientos suicidas activos e informa tener cierta intención de llevarlos a cabo, a diferencia de que dijera "Tengo esos pensamientos pero definitivamente no los voy a llevar a cabo". <i>¿Ha tenido estos pensamientos y alguna intención de llevarlos a cabo?</i></p> <p>Si la respuesta es "sí", describa:</p>		Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>5. Ideación suicida activa con plan específico e intención Pensamientos de suicidio con detalles elaborados completa o parcialmente y el/la participante tiene cierta intención de llevarlos a cabo. <i>¿Ha empezado a elaborar o ya tiene elaborados los detalles de cómo se va a matar? ¿Tenida intención de llevar a cabo este plan?</i></p> <p>Si la respuesta es "sí", describa:</p>		Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Sí No <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
INTENSIDAD DE LA IDEACIÓN			
<p>Las siguientes características deben ser evaluadas con respecto al tipo más severo de ideación (p. ej., 1-5 de arriba, con 1 siendo el menos severo y 5 siendo el más severo). Pregunte sobre cuando la persona sintió más deseos de suicidarse.</p> <p>Considerando toda la vida - Ideación más seria:</p> <p>1 mes pasado - Ideación más seria:</p>		Más seria	Más seria
<p>Tipo N° (1-5) _____ Descripción de la ideación _____</p> <p>Tipo N° (1-5) _____ Descripción de la ideación _____</p>			
<p>Frecuencia <i>¿Cuántas veces ha tenido estos pensamientos?</i> (1) Menos de una vez por semana (2) Una vez por semana (3) De 2 a 5 veces por semana (4) Diariamente o casi diariamente (5) Muchas veces al día</p>		—	—
<p>Duración <i>¿Cuándo tiene esos pensamientos, ¿cuánto tiempo duran?</i> (1) Fugaces/pocos segundos o minutos (4) De 4 a 8 horas/la mayor parte del día (2) Menos de 1 hora/algo de tiempo (5) Más de 8 horas/persistentes o continuos (3) De 1 a 4 horas/mucho tiempo</p>		—	—
<p>Control <i>¿Podría/puede dejar de pensar en matarse o en querer morirse si lo desea?</i> (1) Puede controlar los pensamientos fácilmente (4) Puede controlar los pensamientos con mucha dificultad (2) Puede controlar los pensamientos con muy poca dificultad (5) No puede controlar los pensamientos (3) Puede controlar los pensamientos con alguna dificultad (0) No intenta controlar los pensamientos</p>		—	—
<p>Impedimentos <i>¿Hay cosas - alguien o algo (p. ej., la familia, la religión, el dolor al morir) - que hayan evitado que quisiera morir o que se dejara llevar por los pensamientos suicidas?</i> (1) Los impedimentos definitivamente detuvieron sus intentos de suicidio (4) Los impedimentos probablemente no lo/la detuvieron (2) Los impedimentos probablemente lo/la detuvieron (5) Los impedimentos definitivamente no lo/la detuvieron (3) No está seguro/a de que los impedimentos lo/la hayan detenido (0) No corresponde</p>		—	—
<p>Razones para la ideación <i>¿Qué razones ha tenido para pensar en querer morirse o matarse? ¿Puede que haya sido para terminar con el dolor o con la manera en que se sentía (es decir, no podía seguir viviendo con ese dolor o con la manera en que se sentía) o para llamar la atención, vengarse u obtener una reacción de los demás? ¿O ambas posibilidades?</i> (1) Absolutamente para llamar la atención, vengarse u obtener una reacción de los demás (4) Mayormente para terminar con el dolor (no podía seguir viviendo con el dolor o con la manera en que se sentía) (2) Mayormente para llamar la atención, vengarse u obtener una reacción de los demás (5) Absolutamente para terminar con el dolor (no podía seguir viviendo con el dolor o con la manera en que se sentía) (3) Igualmente para llamar la atención, vengarse u obtener una reacción de los demás y para terminar con el dolor (0) No corresponde</p>		—	—

COMPORTAMIENTO SUICIDA (Marque todos los que correspondan, con tal de que sean eventos diferentes; debe preguntar sobre todos los tipos)		Considerando toda la vida		3 meses pasados	
<p>Intento real: Un acto potencialmente autodestructivo cometido por lo menos con un cierto deseo de morir <i>como resultado del mismo</i>. El comportamiento fue concebido en parte como un método para matarse. La intención no necesita ser al 100%. Si hay <i>cierta</i> intención o deseo de morir asociado al acto, puede considerarse un intento suicida real. No es necesario que haya alguna herida o daño, sólo el potencial de herirse o dañarse. Si la persona aprieta el gatillo con una pistola en la boca pero la pistola no funciona y no se hiere, esto se considera un intento. Intención inferida: aunque una persona niegue la intención o los deseos de morir, ésta puede inferirse clínicamente por medio de la conducta o de las circunstancias. Por ejemplo, un acto letal muy grave que claramente no es un accidente, solamente puede inferirse que fue con intención de suicidio (p. ej., un balazo en la cabeza, saltar de una ventana de un piso alto). También, si alguien niega la intención de morir, pero pensó que lo que hizo podría ser letal, se puede inferir la intención.</p> <p><i>¿Ha intentado suicidarse?</i> <i>¿Ha hecho algo para hacerse daño?</i> <i>¿Ha hecho algo peligroso por lo cual podría haberse muerto?</i> <i>¿Qué hizo?</i> <i>¿Usted _____ como una manera de terminar con su vida?</i> <i>¿Quería morirse (aunque fuera un poco) cuando usted _____?</i> <i>¿Estaba tratando de terminar con su vida cuando usted _____?</i> <i>¿O pensó que era posible que podría haber muerto por _____?</i> <i>¿O lo hizo sólo por otras razones o sin NINGUNA intención de suicidarse (como aliviar el estrés, sentirse mejor, obtener empatía o para que pasara otra cosa)?</i> (Comportamiento autodestructivo sin intención suicida) Si la respuesta es "sí", describa:</p> <p>¿Ha tenido la persona un comportamiento autodestructivo no suicida?</p>		<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos</p> <p>_____</p> <p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos</p> <p>_____</p>	<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos</p> <p>_____</p> <p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos</p> <p>_____</p>		
<p>Intento interrumpido: Cuando la persona es interrumpida (por una circunstancia ajena a su voluntad) al empezar un acto potencialmente autodestructivo (<i>si no fuera por eso, el intento habría ocurrido</i>). Sobredosis: la persona tiene las pastillas en la mano pero no las ingiere. Una vez que se ingiere cualquier pastilla, esto se convierte en un intento real más que en un intento interrumpido. Dispararse: la persona tiene una pistola apuntándose hacia sí misma, otra persona le quita la pistola o evita de algún modo que la persona apriete el gatillo. Una vez que la persona aprieta el gatillo, aunque la pistola falle, es un intento. Saltar: la persona está por saltar, la sujetan y la retiran del borde. Ahorcarse: la persona tiene la soga en el cuello pero no ha empezado a ahorcarse y algo la detiene.</p> <p><i>¿Ha habido algún momento en que empezó a hacer algo para terminar con su vida pero alguien o algo lo/la detuvo antes de que lo hiciera?</i> Si la respuesta es "sí", describa:</p>		<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos interrumpidos</p> <p>_____</p>	<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos interrumpidos</p> <p>_____</p>		
<p>Intento abortado: Cuando la persona empieza a prepararse para un intento de suicidio pero se detiene antes de tener un comportamiento autodestructivo. Los ejemplos se parecen a los del intento interrumpido, excepto que la persona se detiene por sí misma en lugar de ser detenida por otra cosa.</p> <p><i>¿Ha habido algún momento en que empezó a hacer algo para tratar de terminar con su vida pero se detuvo antes de hacerlo?</i> Si la respuesta es "sí", describa:</p>		<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos abortados</p>	<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p> <p>Nº total de intentos abortados</p>		
<p>Actos o comportamiento preparatorios: Actos o preparativos para llevar a cabo un inminente intento de suicidio. Esto incluye algo más allá de las palabras o de los pensamientos, como estructurar un método específico (p. ej., comprar pastillas, comprar una pistola) o prepararse para su muerte por suicidio (p. ej., regalar sus cosas, escribir una nota suicida).</p> <p><i>¿Ha hecho algún preparativo para un intento suicida o para matarse (como juntar pastillas, comprar una pistola, regalar posesiones valiosas o escribir una nota suicida)?</i> Si la respuesta es "sí", describa:</p>		<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>	<p>Sí No</p> <p><input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/></p>		
Responda solamente por intentos reales		Fecha del intento más reciente:	Fecha del intentomás letal:	Fecha del primer intento:	
<p>Grado de letalidad y lesiones: 0. No hay daño físico o muy poco daño físico (p. ej., rasguños superficiales). 1. Daño físico menor (p. ej., habla aletargada, quemaduras de primer grado, sangrado ligero, esguinces). 2. Daño físico moderado: necesita atención médica (p. ej., está consciente pero somnoliento/a, responde un poco, quemaduras de segundo grado, sangrado de conducto sanguíneo principal). 3. Daño físico moderadamente grave: necesita hospitalización y probable cuidado intensivo (p. ej., está en coma con reflejos intactos, quemaduras de tercer grado en menos del 20% del cuerpo, pérdida de sangre considerable pero puede recuperarse, fracturas graves). 4. Daño físico grave: necesita hospitalización con cuidado intensivo (p. ej., está en coma sin reflejos, quemaduras de tercer grado en más del 20% del cuerpo, pérdida de sangre considerable con signos vitales inestables, daño grave en un área vital). 5. Muerte</p>		Ingrese código	Ingrese código	Ingrese código	
<p>Letalidad potencial: conteste solamente si hay causa de muerte real = 0 Muerte probable en el intento real aunque sin lesiones (los siguientes ejemplos, aunque no provocaran lesiones, tuvieron gran potencial letal: se puso una pistola dentro de la boca y apretó el gatillo pero la pistola falló por lo que no hubo lesiones que requirieran atención médica; se acostó en las vías de un tren que estaba a punto de pasar pero se retiró antes de que el tren lo/la arrollara).</p> <p>0 = Comportamiento con poca probabilidad de lesiones 1 = Comportamiento con probabilidad de lesiones pero no de muerte 2 = Comportamiento con probabilidad de muerte a pesar de atención médica disponible</p>		Ingrese código	Ingrese código	Ingrese código	

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

INVENTARIO DE DEPRESIÓN DE BECK (IDB)

Número de muestra: _____ Fecha: _____

Instrucciones: En el siguiente cuestionario encontrará 21 apartados con varias opciones de respuesta. Por favor, lea cuidadosamente y elija la opción que mejor describa como se ha sentido en la última semana, incluyendo hoy. Marque con una X la oración que haya elegido. Solo se puede elegir una oración por cada apartado. En caso de que una o más apliquen para su caso, deberá elegir únicamente la más acertada a su situación.

1	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> No me siento triste.<input type="radio"/> Me siento algo triste.<input type="radio"/> Me siento triste todo el tiempo y no puedo animarme.<input type="radio"/> Me siento tan triste o infeliz que ya no lo soporto.
2	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> No me siento desanimado/a acerca del futuro.<input type="radio"/> Me siento desanimado/a acerca del futuro.<input type="radio"/> Siento que no tengo para qué pensar en el futuro y lo que viene.<input type="radio"/> Siento que no hay esperanza en el futuro y que las cosas no pueden mejorar.
3	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> No me considero fracasado/a.<input type="radio"/> Siento que he fracasado más que otras personas.<input type="radio"/> Veo mi vida llena de fracasos.<input type="radio"/> Siento que como persona soy un completo fracaso.
4	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Obtengo tanta satisfacción de las cosas como siempre.<input type="radio"/> No disfruto de las cosas como siempre.<input type="radio"/> Ya no obtengo satisfacción de nada.<input type="radio"/> Estoy insatisfecho/a y molesto/a con todo.
5	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> No me siento culpable.<input type="radio"/> En algunos momentos me siento culpable y mala persona.<input type="radio"/> La mayor parte del tiempo me siento culpable y mala persona.<input type="radio"/> Me siento culpable y despreciable todo el tiempo.
6	<ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> No pienso que esté recibiendo ningún castigo.<input type="radio"/> Siento que merezco ser castigado/a.<input type="radio"/> Siento que me castigarán.<input type="radio"/> Siento que estoy siendo castigado/a.

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, escrupulosidad (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