



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Análisis del perfil proteómico de la corteza prefrontal
dorsolateral en individuos con suicidio consumado y
toxicología positiva al alcohol**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

TORRES CAMPUZANO JONATAN ALEXIS



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. NORA ANDREA GUTIÉRREZ NÁJERA
Ciudad Universitaria, Ciudad de México. 2019**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno

Torres
Campuzano
Jonatan Alexis
5526897770
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
311101003

2. Datos del tutor

Dra.
Nora Andrea
Gutiérrez
Nájera

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Saúl
Gómez
Manzo

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Mirna Edith
Morales
Marín

5. Datos del sinodal 3

Dra.
María del Carmen
Miñana
Solís

6. Datos del sinodal 4

Q.
Viviana
Escobar
Sánchez.

7. Datos del trabajo

Análisis del perfil proteómico de la corteza
prefrontal dorsolateral en individuos con suicidio
consumado y toxicología positiva al alcohol.
88 pp.
2019

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Genómica de Enfermedades Psiquiátricas y Neurodegenerativas del Instituto Nacional de Medicina Genómica, Secretaría de Salud; bajo la tutoría de Nora Andrea Gutiérrez Nájera y el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, en el proyecto: SALUD-2015-C02-261516).

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme sus puertas y permitir mi desarrollo académico y personal desde la preparatoria.

Al Instituto Nacional de Medicina Genómica, por abrirme sus puertas.

A la Dra. Nora Andrea Gutiérrez Nájera, por aceptarme como su alumno, por su asesoría, su dirección de esta tesis, y principalmente por su amabilidad y atención durante mi estancia en el laboratorio.

A Ernesto Díaz Otáñez, Fernando García Dolores, Elier González Sáenz, Roberto Mendoza Morales, Alejandra Mendoza Larios, Ana Luisa Romero Pimentel y la Dra. Mirna Morales Marín, por haber hecho un arduo trabajo al coleccionar y caracterizar las muestras utilizadas para el presente trabajo

A la unidad de proteómica del INMEGEN, especialmente a la doctora Diana Ivette Aparicio, por su excelente apoyo y asesoría con las técnicas de proteómica.

Al Dr. José Carlos Paéz Franco y al Dr. Jorge Herrera Díaz, por su apoyo en las cuestiones técnicas del desarrollo de este proyecto.

Al Dr. José Humberto Nicolini Sánchez, por haberme permitido ingresar al laboratorio.

A los sinodales: Dra. Nora Andrea Gutiérrez Nájera, Dra. Mirna Edith Morales Marín, Dra., María del Carmen Miñana Solís, Q. Viviana Escobar Sánchez y Dr. Saúl Gómez Manzo, por haberse tomado el tiempo y dedicación de leer el presente trabajo y contribuir con su mejora.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A toda mi familia, especialmente a:

A mis padres, Diana Campuzano Zapata y Javier Torres Martínez, que, siempre han visto lo mejor para mi, me han apoyado incondicionalmente cada que lo necesito, han intentado brindarme lo mejor, y me inspiran a dar lo mejor de mi para enorgullecerles. Decir gracias por todo lo que han hecho es poco, son los mejores y no me queda más que decirles que los amo.

A mi hermana, Jocelyn Torres, que, aunque tiene su carácter es una persona increíble que siempre ve y se preocupa por su pequeño hermano. No pude haber tenido mejor hermana que tu, y aunque no lo creas me has enseñado bastante. Te amo.

A mis abuelos Cristina Zapata y Diego Campuzano, por haberme brindado una infancia fenomenal, por haberme cuidado, por defenderme de los regaños y consentirme de la mejor manera. Tampoco tengo las palabras suficientes para agradecerles por todo lo que han hecho por mi, gracias por todo. Los amo.

A mis amigos, especialmente a:

Diana, Jessica y Paulo, por haberme brindado una hermosa amistad, por apoyarme cada que lo necesito, por estar en las buenas y en las malas, y principalmente por haberse convertido en mi segunda familia. Los amo.

A Bruno Rojas, por ser un gran compañero durante este tiempo y haberme ensañado mucho, hacerme crecer como persona, y aguantar tanto de mi. Eres una persona increíble y me alegra haberte conocido. Te quiero.

A mis amigos de la carrera: a los que estuvieron desde el inicio, Sandra, Ivonne, Paola, Santiago y Maximiliano; a mi equipo de genética Karla, Stella, Rachel y Coffeen; a los que llegaron después, Diana Manríquez y Diana Arzate; y a mis compañeros de laboratorio Alejandro y Frida, gracias por todos esos momentos llenos de diversión, por sus consejos, su amistad y su apoyo. Los quiero.

A mis amigos del INMEGEN, Ariadna, Alejandro y José Carlos, quienes me han brindado su amistad, y su apoyo. Los quiero.

Al equipo del laboratorio, especialmente a Mirna y Ana, por haberme brindado su amplio conocimiento y preocupación durante mi estancia en el laboratorio.

A la Doctora Nora, por guiarme en mi formación académica y personal, por buscar la mejor forma de desarrollar mis habilidades, y principalmente por ser una persona increíble, me alegro de haber elaborado este proyecto con usted.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIII
RESUMEN	XVII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Nomenclatura del suicidio.....	1
1.2. Etiología del suicidio.....	2
1.3. El suicidio y su relación con el abuso de alcohol y otros trastornos mentales....	6
1.4. Corteza prefrontal dorsolateral.....	8
1.5. Neurobiología del suicidio	11
1.6. Las proteínas	14
1.7. Proteómica.....	17
II. ANTECEDENTES	22
2.1. Proteínas alteradas en suicidio a nivel orgánico	22
2.2. Vías de señalización y metabólicas relacionadas a la conducta suicida	25
2.3. Proteínas modificadas por consumo de alcohol en tejido cerebral	27
2.4. Vías de señalización y metabólicas afectadas por el alcohol.....	30
2.5. Relación neurobiológica del suicidio con el consumo de alcohol	32
III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	35
IV. HIPÓTESIS	35
V. OBJETIVOS.....	35
5.1 Objetivo general.....	35
5.2 Objetivos particulares	35
VI. JUSTIFICACIÓN	36
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
7.1 Muestra.....	38
7.1.1. Obtención de la muestra	38
7.1.2. Caracterización de la muestra	38
7.1.3. Criterios de inclusión y exclusión	39
7.1.4. Muestra utilizada	39

7.1.5. Consideraciones éticas.....	40
7.2. Técnicas	41
7.2.1. Extracción de la proteína de cerebro	41
7.2.2. Cuantificación de la proteína de extractos de cerebro	41
7.2.3. Gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes para verificar la integridad de las proteínas del extracto de cerebro.....	42
7.2.4. Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS en doble dimensión	42
7.2.4.1. Isoelectroenfoque.....	43
7.2.4.2. Electroforesis de segunda dimensión (SDS-PAGE) en condiciones desnaturalizantes.....	43
7.2.5. Análisis de las imágenes en el software PD-Quest.....	44
7.2.6. Análisis estadísticos.....	45
7.2.6.1. Análisis discriminante de mínimos cuadrados PLS-DA	45
7.2.6.2. Diagrama de volcán	45
7.2.7. Identificación por espectrometría de masas de las proteínas diferencialmente expresadas entre los grupos	46
7.2.8. Análisis de interacción proteína-proteína	47
VIII. RESULTADOS.....	48
8.1. Proteínas totales extraídas de la CPF dorsolateral	48
8.2. Integridad de las proteínas extraídas de la CPF dorsolateral	48
8.3. Perfil de proteínas obtenido por la electroforesis en segunda dimensión	49
8.4. Proteínas identificadas en el software PD-Quest	51
8.5. Análisis estadísticos	51
8.6. Identidad de las proteínas identificadas por espectrometría de masas	55
8.7. Interacciones proteína-proteína	58
IX. DISCUSIÓN.....	61
9.1. Consideraciones de la muestra utilizada	61
9.2. Implicación de las proteínas identificadas en suicidio y el abuso de alcohol ...	62
9.2.1. Desaminasa de guanina (GDA)	62
9.2.2. Succinil CoA:3 cetoácido transferasa (OXCT1)	63
9.2.3. Proteína de unión a ácidos grasos, tipo corazón (FABP-H)	64

9.2.4. Subunidades β y δ de la ATPsintetasa.....	65
9.2.5. Proteína-G(o), subunidad α (GNAO1).....	66
9.2.6. α -internexina (INA).....	67
9.2.7. Proteína ácida fibrilar glial (GFAP)	67
9.2.7.1. Isoformas de la proteína GFAP	68
9.2.8. Proteína 2 relacionada con la dihidropirimidinas (DPYSL2)	69
9.2.9. Cadena- β 4B de tubulina (TUBB4B)	70
9.2.10. Proteína de unión a oxisterol-1A (OSBPLA1)	70
9.3. Posible interacción biológica.	71
9.3.1. Estrés oxidante y consumo de alcohol.....	71
9.3.2. Integración de daños por el uso de alcohol y las alteraciones en el proteoma de la CPFDL con suicidio consumado.	72
X. CONCLUSIONES	76
XI. LIMITACIONES	77
XII. PERSPECTIVAS	78
XIII. REFERENCIAS	78
XIV. APÉNDICE	96
14.1 Imágenes de controles.....	96
14.2 Imágenes de casos de suicidio	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasas de suicidio de la población mexicana	3
Figura 2. Representación de modelos propuestos para describir el riesgo de suicidio.....	5
Figura 3. Ilustración de la vista lateral y medial del cerebro.....	9
Figura 4. Regiones del cerebro implicadas en depresión y conducta suicida.....	12
Figura 5. Estructura general de un aminoácido	15
Figura 6. Formación de enlace peptídico mediante una reacción de condensación	15
Figura 7. Dogma central de la biología molecular	18
Figura 8. Ilustración de la electroforesis bidimensional.....	19
Figura 9. SDS PAGE representativo de extracto proteico de la CPFDL	49
Figura 10. Geles representativos de electroforesis bidimensional de proteínas de la CPF dorsolateral.....	50
Figura 11. Gráfico del análisis discriminante de mínimos cuadrados (PLS-DA)	51
Figura 12. Diagrama de volcán de CTR vs SuiTOX+.....	53
Figura 13. Diagrama de volcán SuiTOX- vs SuiTOX+	54
Figura 14. Imagen representativa con las proteínas seleccionadas para identificar por espectrometría de masas.....	56
Figura 15. Red de interacción proteína-proteína	58
Figura 16. Procesos biológicos relacionados con el grupo de proteínas	59
Figura 17. Funciones moleculares del grupo de proteínas	60
Figura 18. Modelo propuesto de Integración biológica.....	73
Figura A 1. Gel de poliacrilamida del control 1 (CTR 1).....	96
Figura A 2. Gel de poliacrilamida del control 2 (CTR 2).....	96
Figura A 3. Gel de poliacrilamida del control 3 (CTR 3.a).....	97
Figura A 4. Gel de poliacrilamida del control 3, réplica (CTR 3.b).....	97
Figura A 5. Gel de poliacrilamida del control 4 (CTR 4.a).....	98
Figura A 6. Gel de poliacrilamida del control 4, réplica (CTR 4.b).....	98
Figura A 7. Gel de poliacrilamida del control 5 (CTR 5).....	99
Figura A 8. Gel de poliacrilamida de caso 1 de suicidio con toxicología negativa (SUI 1 TOX-)	100

Figura A 9. Gel de poliacrilamida de caso 2 de suicidio con toxicología negativa (SUI 2.a TOX-).....	100
Figura A 10. Gel de poliacrilamida de caso 2 de suicidio con toxicología negativa, réplica (SUI 2.b TOX-)	101
Figura A 11. Gel de poliacrilamida de caso 3 de suicidio con toxicología positiva (SUI 3 TOX+)	101
Figura A 12. Gel de poliacrilamida de caso 4 de suicidio con toxicología negativa (SUI 4 TOX-)	102
Figura A 13. Gel de poliacrilamida de caso 5 de suicidio con toxicología negativa (SUI 5.a TOX-).....	102
Figura A 14. Gel de poliacrilamida de caso 5 de suicidio con toxicología negativa, réplica (SUI 5.b TOX-)	103
Figura A 15. Gel de poliacrilamida de caso 6 de suicidio con toxicología positiva (SUI 6.a TOX+).....	103
Figura A 16. Gel de poliacrilamida de caso 6 de suicidio con toxicología positiva, réplica (SUI 6.b TOX+)	104
Figura A 17. Gel de poliacrilamida de caso 7 de suicidio con toxicología positiva (SUI 7 TOX+)	104
Figura A 18. Gel de poliacrilamida de caso 8 de suicidio con toxicología positiva (SUI 8.a TOX+).....	105
Figura A 19. Gel de poliacrilamida de caso 8 de suicidio con toxicología positiva, réplica (SUI 8.b TOX+)	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Términos y definiciones propuestos por O'Correl <i>et al.</i>	1
Tabla 2. Eventos suicidas dentro de la nomenclatura de C-CASA propuesta por Posner <i>et al.</i> (1996)	2
Tabla 3. Niveles estructurales de las proteínas	16
Tabla 4. Proteínas asociadas al suicidio en estudios del proteoma	22
Tabla 5. Proteínas asociadas al abuso de alcohol en estudios del proteoma	28
Tabla 6. Criterios de inclusión y exclusión	39
Tabla 7. Listado de muestras utilizadas	40
Tabla 8. Condiciones del isoelectroenfoco	43
Tabla 9. Proteínas totales extraídas de muestras representativas de la CPFDL	48
Tabla 10. Proteínas diferencialmente expresadas entre CTR vs SuiTOX+	53
Tabla 11. Proteínas diferencialmente expresadas entre SuiTOX- vs SuiTOX+	55
Tabla 12. Proteínas identificadas por espectrometría de masas	57

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HIAA	5-hidroxiindoleacetato
A44B	Área 44 de Brodman
A45B	Área 45 de Brodman
A46B	Área 46 de Brodman
A47B	Área 47 de Brodman
A9B	Área 9 de Brodman
AB	Área de Brodman
ACMSD	Aminocarboximuconato-semialdehído decarboxilasa
ACN	Acetonitrilo
ACTB	Actina citoplasmática
ADH	Alcohol deshidrogenasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALDH	Aldehído deshidrogenasa
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
APA	Asociación Americana de Psicología
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATP	Adenosín trifosfato
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BSA	Albúmina sérica bovina
C-CASA	Clasificación de Columbia para la evaluación del suicidio
CAT	Catalasa
CPF	Corteza prefrontal
CPF DL	Corteza prefrontal dorsolateral
CRH	Hormona liberadora de hormona adenocorticotropa
CRMP2	Proteína de respuesta a colapsina 2
CRYAB	α -cristalina
cTP	Carnitina palmitoiltransferasa
CTR	Grupo control

CTSD	Catepsina d
CYP2E1	Citocromo P450
DIGE	Electroforesis diferencial en gel
DPYSL2	Proteína 2 relacionada con la dihidropirimidinasasa
DSM-5	Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales
EM	Espectrometría de masas
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
FABP-B	Proteína de unión a ácidos grasos, tipo cerebro
FABP-E	Proteína de unión a ácidos grasos, tipo epidermal
FABP-H	Proteína de unión a ácidos grasos, tipo corazón
FABPs	Proteínas de unión a ácidos grasos
FDR	Tasa de descubrimientos falsos
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GDA	Desaminasa guanina
GDP	Guanosín difosfato
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
GMP	Guanosín monofosfato
GNAO1	GO2-q proteína G quimérica
GSK3	Glucógeno sintasa quinasa 3
GTP	Guanosín trifosfato
HHA	Eje hipotalámico-hipofisario-adrenal
HCL	Cloruro de hidrógeno
Hz	Hertz
IEF	Isoelectroenfoque
IL-6	Interleucina-6
INA	α -internexina
INMEGEN	Instituto Nacional de Medicina Genómica
ITM	Intervalo de toma de muestra
KDa	Kilo daltones
LCR	Líquido cefaloraquídeo

MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
mM	Milimolar
mTOR	Diana de rapamicina en células de mamífero
NFL	Neurofilamento de polipéptido ligero
ng	Nanogramos
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
OSBPL1A	Proteína de unión a oxisterol
OXCT1	Succinil CoA:3 cetoácido transferasa
PI	Fosfoinosítido
PKA	Proteína quinasa A
PKC	Proteína quinasa C
PLS-DA	Análisis discriminante de mínimos cuadrados
PSD-95	Proteína postsináptica de densidad-95
PTKB	Tirosina quinasa B
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
rpm	Revoluciones por minuto
SDS	Dodecil sulfato de sodio
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio
SM	Espectrometría de masas
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SOD2	Superóxido dismutasa
SuiTOX-	Grupo de suicidio con toxicología negativa al alcohol
SuiTOX+	Grupo de suicidio con toxicología positiva al alcohol
TAS	Trastorno de abuso de sustancias
TB	Trastorno bipolar
TDM	Trastorno depresivo mayor
TPP	Tiamina pirofosfato
TRIS	Trishidroximetilaminometano
TUA	Trastorno de uso de alcohol
TUBA1	Cadena α 1 de tubulina

TUBB4B	Tubulina beta-cadena 4B
V	Voltios
μg	Microgramos
μL	Microlitros
Ca	Calcio

RESUMEN

El suicidio ha sido considerado problema de salud pública a nivel mundial, por ello se han realizado estudios para comprender los factores y procesos biológicos que contribuyen al desarrollo de este fenómeno. Las conductas suicidas tienen origen multifactorial, y el abuso de sustancias; alcoholismo; comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos como: TB, TDM, entre otros; y cambios moleculares en el cerebro contribuyen con su desarrollo.

Para comprender los cambios moleculares que hay en el cerebro de humanos se han realizado estudios *post mortem*. Sin embargo, son pocos los estudios de expresión de proteínas. La proteómica es utilizada para identificar alteraciones en expresión de proteínas y posibles biomarcadores relacionados con el suicidio. El presente trabajo es de los primeros en investigar cambios en expresión de proteínas en muestras de cerebro procedentes de mexicanos. Tiene como objetivo analizar diferencias en la expresión del perfil proteómico de la corteza prefrontal dorsolateral del cerebro de suicidas con toxicología positiva al alcohol en comparación con controles y casos de suicidio con toxicología negativa al alcohol.

Se extrajeron las proteínas de la corteza prefrontal dorsolateral de 13 muestras, de las cuales cinco son controles (individuos que murieron por causas diferentes al suicidio) y ocho son casos de suicidio (cinco con toxicología positiva al alcohol y tres con toxicología negativa al alcohol). Posteriormente se utilizó la electroforesis bidimensional con la finalidad de obtener el perfil de proteínas. Para determinar las diferencias de la expresión de proteínas se obtuvo la densidad de los píxeles de las imágenes de la electroforesis bidimensional con el software PD-Quest de Bio-Rad. Posteriormente, se realizó un PLS-DA con el fin de observar la separación entre el grupo control, el grupo de suicidio con toxicología negativa al alcohol y el grupo de suicidio con toxicología positiva al alcohol. Se elaboraron dos diagramas de volcán para obtener las proteínas que se encontraban diferencialmente expresadas.

Se encontraron 24 proteínas diferentes en su expresión, 11 al comparar controles vs casos de suicidio con toxicología positiva al alcohol y 13 al comparar ambos casos de suicidio entre sí. Las 24 proteínas se identificaron por espectrometría de masas de las cuales se identificaron 11 proteínas diferentes (GDA, INA, OXCT1, FABP3, TUBB4B, GNAO1,

ATP5B, ATP5D, OSBPL1A). Asimismo, se encontraron posibles isoformas de las proteínas GFAP y DPYSL2. Estas proteínas están implicadas en procesos metabólicos, organización del citoesqueleto, glucólisis, transporte de lípidos, entre otros.

El consumo de alcohol altera la expresión de proteínas de la CPF dorsolateral de individuos con suicidio consumado. Algunas proteínas se han relacionado con anterioridad al abuso de alcohol y suicidio. Finalmente, el modelo propuesto sugiere que las alteraciones en la corteza prefrontal dorsolateral pueden deberse al consumo de alcohol y su efecto con el estrés oxidante.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Nomenclatura del suicidio

La Asociación Americana de Psicología (APA, por sus siglas en inglés) define al suicidio como el acto de quitarse la vida a sí mismo. Sin embargo, la definición anterior no abarca la complejidad del fenómeno ni los numerosos términos utilizados en los estudios que se realizan en torno al suicidio (Karthick y Barwa, 2017). La nomenclatura de suicidio más aceptada y utilizada es la que fue propuesta por O’Correll y colaboradores en 1996 (Tabla 1), donde se distinguen tres grupos de comportamiento: ideación suicida, comportamiento relacionado al suicidio y suicidio consumado (Ginger *et al.*, 2016). Actualmente sigue en debate establecer la nomenclatura mundial que pueda ser utilizada en el ámbito clínico.

Tabla 1. Términos y definiciones propuestos por O’Correl *et al.*

Acto Suicida	Suicidio	Muertes autoinfligidas. El término suicidio consumado también puede utilizarse.
	Intento suicida	Comportamiento potencialmente autolesivo con resultado no fatal, donde hay intención de suicidarse. Puede o no resultar con lesiones.
Comportamiento relacionado al suicidio	Conducta instrumental relacionada con el suicidio	Comportamiento auto agresivo sin intenciones de suicidarse, en el cual la persona alardea para recibir o llamar la atención de alguien.
	Comportamiento relacionado al suicidio	Comportamiento potencialmente autolesivo donde, a) la persona no intenta suicidarse, b) la persona aparenta querer suicidarse para alcanzar otro fin. Esta conducta comprende actos suicidas y comportamiento instrumental inducido por suicidio.
Ideación suicida	Pensamiento suicida	Cualquier pensamiento informado por el mismo individuo que puede involucrarse en el comportamiento relacionado al suicidio o acto suicida. Puede ser la ideación casual o seria.

Posner y colaboradores (2007) proponen el Algoritmo de Clasificación de Columbia para la Evaluación del Suicidio (C-CASA, por sus siglas en inglés). Este, plantea la nomenclatura que se divide en tres clasificaciones el comportamiento suicida: eventos suicidas, eventos intermedios o potencialmente suicidas, y eventos no suicidas (Tabla 2).

Tabla 2. Eventos suicidas dentro de la nomenclatura de C-CASA propuesta por Posner *et al.* (1996)

Suicidio consumado	Se refiere al acto de lastimarse a sí mismo que resulta en la muerte del individuo.
Intento suicida	Comportamiento que potencialmente puede provocar daños autoinfligidos con al menos un intento de muerte.
Actos previos al comportamiento suicida	Son intentos para lastimarse a sí mismo pero que fueron perturbados por la misma persona o alguien más.
Ideación suicida	Pensamientos pasivos de querer morir o pensamientos activos sobre querer terminar con su propia vida.

Otro término ampliamente utilizado en la investigación de este fenómeno es la suicidalidad. Este integra los siguientes conceptos relacionados con el suicidio: ideación suicida, actos preparatorios para el suicidio, comportamiento autolesivo, intentos suicidas y suicidio (Posner *et al.*, 2007).

Una nomenclatura distinta engloba a los pensamientos y conductas suicidas no fatales en tres categorías: (a) ideación suicida: se refiere a pensamientos para acabar con la propia vida; (b) plan suicida: formulación del método específico para terminar con su propia vida y (c) intento suicida: la acción de dañarse a sí mismo, en el que debe haber algún intento de terminar con su propia vida (Nock *et al.*, 2008).

Para el propósito de este trabajo los términos que se utilizarán recurrentemente serán los siguientes: suicidio o suicidio consumado, suicidalidad se utilizará para referirse a comportamiento e ideación suicida, tomando en cuenta que tanto el comportamiento como la ideación suicida pueden ser utilizados por separado y con su respectiva definición.

1.2. Etiología del suicidio

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018), el suicidio es problema de salud pública a nivel mundial. Se estima que 800 000 personas terminan con su vida cada año, siendo la segunda causa de muerte en individuos de 15 a 29 años. Debido al incremento de muertes por suicidio que se ha registrado a lo largo de los años, es probable que este tipo de defunciones lleguen a representar más del 2% de la mortalidad a nivel mundial en el año 2020 (OMS, 2012). Por cada muerte ocasionada por suicidio hay decenas

de familiares y amigos cuyas vidas están devastadas emocional, social y económicamente (OMS, 2004).

La tasa de suicidio en México ha aumentado con el paso del tiempo, específicamente incrementó un 16% en el periodo del 2000-2012 (Hernandez-Bringas y Flores-Arenales, 2011; OMS, 2014). Otros ensayos revelan que en el periodo de 1970 al 2007 el suicidio creció 275% en el país (Borges *et al.*, 2010). De acuerdo con el INEGI (2017), para el 2015 la tasa de suicidio en México fue de 5.2 fallecidos por suicidio por cada 100 000 habitantes (Figura 1, A). Por cada 100 000 habitantes la tasa de suicidio en México es mayor en hombres (8.5) que en mujeres (2.0) (Figura 1, B)

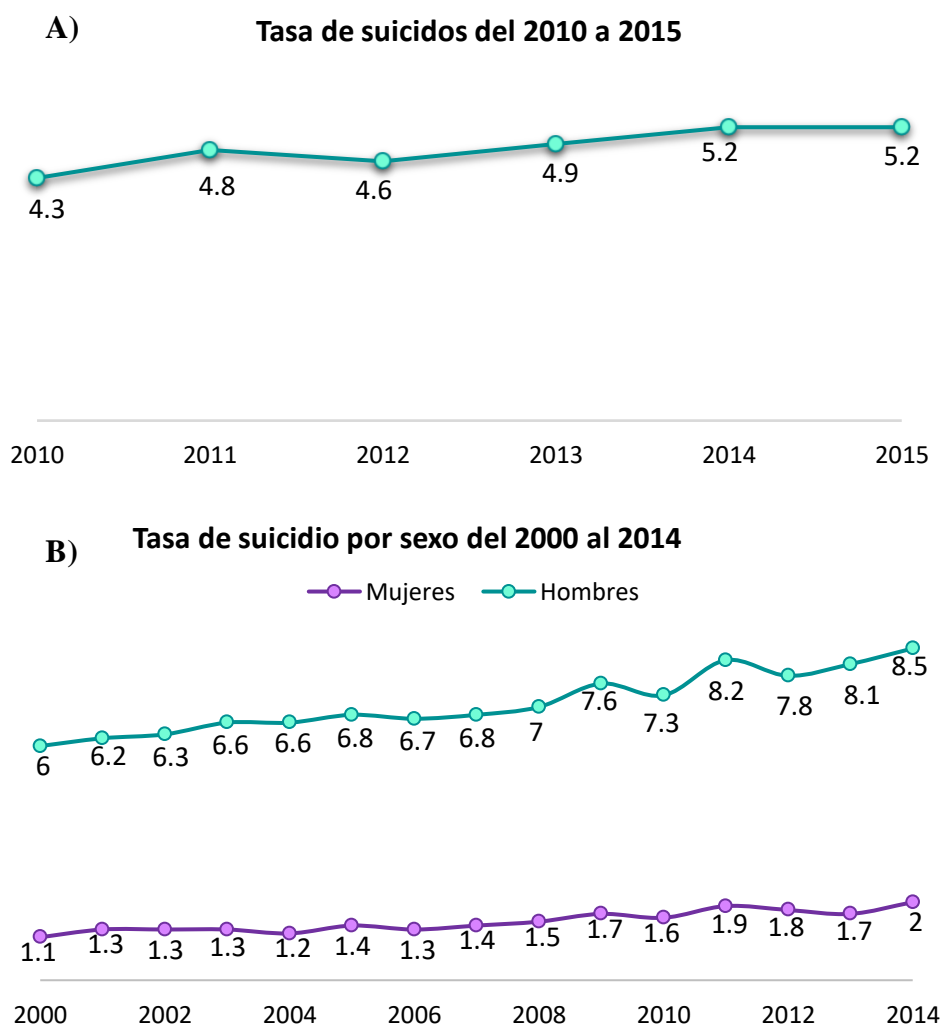


Figura 1. Tasas de suicidio de la población mexicana. A) Tasa de suicidios del 2010 a 2015 por cada 100 000 habitantes. B) Tasa de suicidios por sexo del 2000 al 2014 por cada 100 000 habitantes. Elaborado con los datos del informe de estadísticas a propósito del día mundial de la prevención del suicidio (INEGI, 2017).

Asimismo, Lozano y colaboradores (2013) mencionan que la tasa de mortalidad por suicidio estandarizada en México aumentó 22% en el periodo del 2000-2015. También menciona que el aumento en la tasa de mortalidad por suicidio es más evidente en personas de 15 a 49 años.

Es complicado determinar la causa concreta del suicidio. No obstante, la relación entre el suicidio y los efectos del ambiente exterior han sido documentados desde el siglo XI (Spitzka, 2012). Entre los factores externos vinculados a los intentos suicidas y suicidios consumados, se encuentran: medicamentos, enfermedades mentales, sexo, genética, disponibilidad de armas de fuego, experiencias de vida, estabilidad y estatus económico, medios de comunicación, y la psicodinámica (Soreff y Attia, 2017). Sin embargo, no son las únicas causas asociadas al fenómeno. Karthick y Barwa (2017) realizaron una revisión en la que mencionan que los individuos que murieron por suicidio se ven afectados por varios factores de riesgo y no sólo por uno aislado.

Un claro ejemplo de la complejidad del suicidio es que tiene una estacionalidad, es decir, que los suicidios tienen un patrón mensual que tiende a repetirse anualmente, este fenómeno se ha estudiado desde perspectivas biológicas y sociológicas (Ajdacic-Gross *et al.*, 2010). Un estudio ha demostrado en 18 ciudades europeas que, el 88% de los suicidios ocurren en el verano (junio-agosto), de acuerdo con el autor, esto se relaciona con factores climáticos como el calor, esto incrementa la sensibilidad del sistema nervioso, lo que explica el incremento de suicidios durante inicios de primavera y el verano (Ajdacic-Gross *et al.*, 2010). Por otro lado, desde una perspectiva sociológica, la estacionalidad de suicidio es explicada mediante una teoría que plantea que, durante la primavera y el verano se incrementa el estrés social, y esto puede desarrollar el comportamiento suicida cuando no se puede afrontar psicológicamente la frustración causada por interacciones sociales fallidas, especialmente en personas deprimidas (Ajdacic-Gross *et al.*, 2003; Barzilay y Apter, 2014)

Con la finalidad de comprender el origen y las causas que detonan o propician la conducta suicida se han desarrollado modelos conceptuales que plantean que la suicidalidad debe tener en cuenta variables que ejercen influencia sobre momentos muy diferentes a lo largo del desarrollo de la conducta suicida (Figura 2).

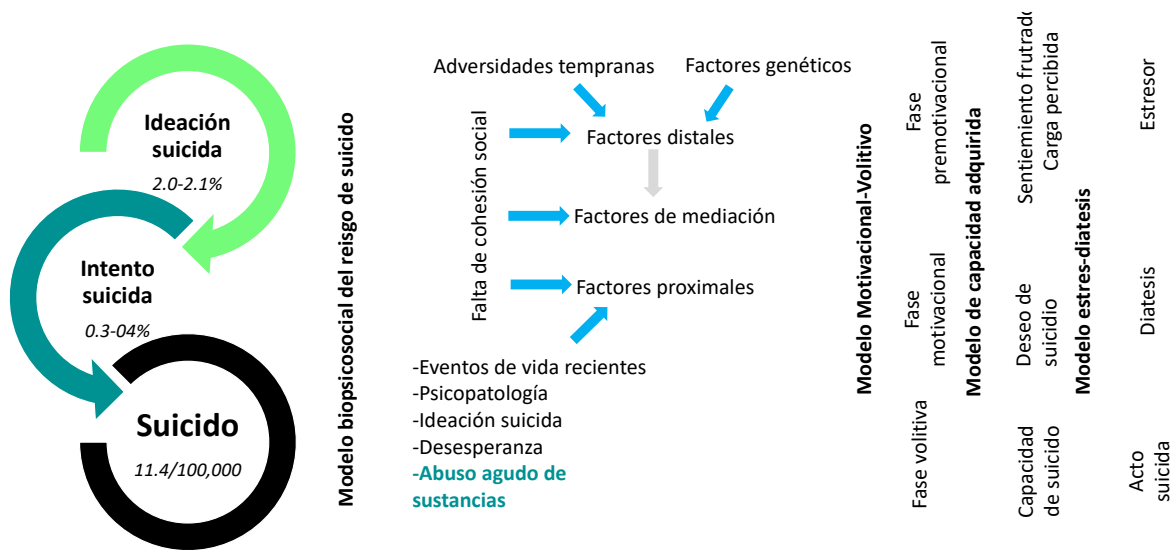


Figura 2. Representación de modelos propuestos para describir el riesgo de suicidio. Los modelos describen los factores que conducen a los individuos a pasar de una conducta no suicida autolesiva a otras formas de conductas suicidas, incluyendo la muerte. Se presenta la prevalencia mundial en cada círculo. El modelo biopsicosocial para el riesgo de suicidio describe los diferentes elementos que causan cambios biológicos que actúan como factores distales, de mediación o proximales que aumentan el riesgo de suicidio. El modelo motivacional-volitivo incluye las fases: premotivacional, motivacional y volitiva y describe los cambios psicológicos que ocurren cuando una persona hace una transición de conductas no letales al comportamiento suicida. El modelo de capacidad adquirida propone cambios psicológicos que pueden disminuir la aversión de un individuo al comportamiento autodestructivo y prepararlo psicológicamente para desarrollar una conducta suicida letal. El modelo de estrés-diátesis establece que un estresor típico puede provocar una crisis social o de un trastorno psiquiátrico, desarrollando comportamientos agresivos y pesimistas que son parte de la diátesis del suicidio, son influenciados por factores como la edad, sexo, factores genéticos, entre otros (Tomado y adaptado de Lutz, *et al.*, 2017).

En el modelo biopsicosocial se hace referencia a dos tipos de factores de riesgo, los proximales y los distales. Los factores distales son variables que confieren mayor susceptibilidad al suicidio, pero tienen una relación distal-temporal a las crisis suicidas; algunos de estos factores son: la predisposición genética, adversidades en la vida temprana y los mecanismos biológicos afectados por la adversidad de la vida temprana. Cuando los factores distales afectan procesos biológicos, pueden incrementar el riesgo a cometer suicidio. Sin embargo, estos agentes no causan directamente conductas suicidas. Los cambios ocasionados por los factores de riesgo distales junto con otras causas como el abuso crónico de sustancias pueden ser catalogados como factores de mediación, los cuales pueden incrementar el riesgo del suicidio. Específicamente, la predisposición familiar y las adversidades de la vida temprana pueden propiciar el desarrollo del comportamiento impulsivo agresivo y rasgos de ansiedad, lo que incrementa el desarrollo de la ideación

suicida (Turecki¹ 2014). Por otro lado, los factores proximales se han caracterizado por provocar alteraciones a nivel molecular que son asociados a estados de depresión; algunos cambios a nivel molecular son: alteraciones en la vía de serotonina, la respuesta a estrés de poliaminas, alteraciones en vías glutamatérgicas y GABAérgicas, factores de inflamación, disfunción de la glía y astrocitos, y disfunción neuroendocrina (Turecki y Brent 2016).

Asimismo, los factores proximales, se caracterizan por detonar crisis suicidas por eventos de la vida reciente y son altamente vinculados a episodios psiquiátricos. Aproximadamente 80 al 90% de los casos de suicidio consumado se encuentran relacionados con algún trastorno psiquiátrico (Shaffer, *et al.*, 1996; Bozorgmehr, *et al.*, 2018). Cuando los síntomas de un trastorno alteran la capacidad de resolver problemas individuales y el juicio del individuo es probable que detonen una crisis suicida.

1.3. El suicidio y su relación con el abuso de alcohol y otros trastornos mentales

Los trastornos mentales y de abuso de sustancias también son considerados factores de riesgo que pueden influir en el desarrollo de conductas suicidas. Dentro del manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-5, por sus siglas en inglés) se han descrito diversos trastornos ligados a la suicidalidad y algunos hacen referencia específicamente al riesgo de suicidio, tales como esquizofrenia, trastorno bipolar, trastorno depresivo mayor, desorden de uso de sustancias, ansiedad, trastorno obsesivo compulsivo, entre otros (Giner *et al.*, 2016).

La revisión realizada por Hufford (2001) clasifica la dependencia de alcohol como factor distal, además, menciona que los alcohólicos son más propensos a desarrollar conductas suicidas de 60 a 120 veces más que el individuo que no padece un trastorno psiquiátrico. Diversos estudios enfocados en el uso agudo de alcohol demostraron que de 10 a 69 % de las víctimas que cometieron suicidio dieron positivo a intoxicación por alcohol en el momento de la muerte y del 10 a 73 % de los que intentaron suicidarse dieron positivo al uso de alcohol. Algunas revisiones documentan que el uso de alcohol en intentos suicidas es mayor en países en desarrollo como México (Yuodelis-Flores y Ries, 2015; Borges y Loera, 2010). Otros ensayos han demostrado que el trastorno de uso de alcohol (TUA) está asociado significativamente con el riesgo a la ideación suicida, intento suicida y

suicidio consumado y declaran que el TUA es predictor potencial del suicidio (Darvishi *et al.*, 2015; Hoertel *et al.*, 2018).

Hufford (2001) clasifica dentro de los factores de riesgo proximales a la intoxicación por alcohol y señala que no es lo mismo que el abuso de alcohol o la dependencia, debido a que los riesgos de intento suicida se intensificarán durante la intoxicación por alcohol sin importar que el individuo abuse o dependa de las bebidas alcohólicas. De igual forma, Hufford describe como la intoxicación por alcohol puede precipitar la conducta suicida tanto en personas alcohólicas y no alcohólicas en 4 puntos: (1) aumenta la angustia psicológica, (2) incrementa la agresividad, (3) aumenta los pensamientos suicidas bajo efectos del alcohol, y (4) restringe la cognición, lo que afecta la generación de estrategias de afrontamiento alternativas. De acuerdo con Dawes y colaboradores (2008), la impulsividad se puede modificar por el estado psiquiátrico y eventos de vida, las funciones serotoninérgicas y el abuso de sustancias. Los autores mencionan dos vías de alteración de la impulsividad. La primera está ligada a crisis psicosociales y eventos de la vida que conllevan al desarrollo de depresión, desesperación e ideación suicida. La segunda vía se asocia a la desregulación de serotonina, que puede estar influenciada por el consumo de sustancias.

Además de la dependencia al alcohol, la literatura indica que puede existir la comorbilidad entre TUA y trastornos mentales. Hufford introduce esta variable como un factor distal y menciona que la comorbilidad de una psicopatología y el uso de alcohol puede incrementar el riesgo de suicidio. Un estudio revela que la presencia de TUA en individuos con trastorno bipolar (TB) puede producir más intentos suicidas (25 % del total de casos) que el grupo que únicamente padece TB (15 % del total de casos) (Oquendo *et al.*, 2010). Vijayakumar y colaboradores (2011) señalan que el trastorno de abuso de sustancias (TAS) está altamente relacionado con el TB tipo I, y esto deriva en alta impulsividad, hostilidad y agresividad; además, concluyen que la presencia de ambos trastornos aumenta el número de los intentos de suicidio. Un estudio compara la impulsividad que presentan individuos con dependencia al alcohol que han presentado conductas relacionadas al suicidio contra dependientes sin este comportamiento. Los sujetos que estuvieron expuestos a eventos violentos son los que tienen en su historial conductas suicidas y son mayormente agresivos e impulsivos (Khemiri *et al.*, 2016).

En el caso del trastorno depresivo mayor (TDM) se ha demostrado que individuos con comorbilidad con TUA tienen mayor probabilidad de cometer intentos suicidas y padecer dependencia al alcohol (Brière *et al.*, 2014). Un ensayo enfocado en la desinhibición inducida por alcohol (conducta que se presenta en 94 % de las personas con dependencia a alcohol) en una población coreana, corroboró que los individuos que tienen esta conducta y TDM tienden a incrementar de manera significativa el riesgo de uno o varios intentos suicidas, además de aumentar la impulsividad de las personas, la cual también es factor de riesgo del suicidio (Choi *et al.*, 2017). Otras aportaciones indican que sujetos que sufren alcoholismo y depresión tienen mayor ideación suicida e impulsividad en comparación con las personas que sólo padecen depresión (Yuodelis-Flores y Ries, 2015).

De acuerdo con Turecki² (2014), las crisis suicidas habitualmente son detonadas en conjunto por eventos de la vida reciente que están asociados principalmente a episodios psiquiátricos. Aproximadamente, 50 % de las personas que mueren por suicidio cumplen con los criterios que se asocian al TDM en los últimos meses antes de morir. El autor también menciona que casi todas las personas que se suicidaron presentan algún grado de desesperanza u otras distorsiones cognitivas similares que son características de los estados depresivos, independientemente de su diagnóstico psiquiátrico principal, si es que lo poseen. Cuando los síntomas depresivos o de algún otro trastorno psiquiátrico alteran drásticamente la capacidad de resolución de problemas del individuo y su juicio, pueden interpretarse como precipitantes de crisis suicidas. Estos estados de crisis psiquiátricas están asociados con cambios moleculares en distintas regiones del cerebro.

1.4. Corteza prefrontal dorsolateral

La corteza prefrontal (CPF) es de las partes más importantes del cerebro. Esta región es responsable de ejecutar funciones como: mediar pensamientos conflictivos, toma de decisiones, predecir eventos futuros, y el control social y emocional. La CPF es el área de cerebro mayormente implicada en la consciencia, inteligencia, y la personalidad (Gao *et al.*, 2012).

Esta región ha sido altamente estudiada debido a que la disfunción de esta área y las redes relacionadas subyace a muchos de los trastornos cognitivos y de comportamiento

asociados con trastornos neuropsiquiátricos como la esquizofrenia, el trastorno por déficit de atención/hiperactividad, la adicción a las drogas, el autismo y la depresión (Gao *et al.*, 2012).

La CPF se encuentra conectada con el sistema límbico. Este consta de muchas estructuras encefálicas, como el hipocampo, la amígdala y el núcleo accumbens. Las estructuras del sistema límbico están involucradas en las emociones, principalmente con aquellas relacionadas con la supervivencia, como el miedo, la ira, el placer y el comportamiento sexual. Es casi imposible identificar roles específicos para las estructuras, debido a que las funciones psicológicas realizadas no son por formaciones individuales, sino por complejos del sistema que interactúan entre sí (Ray y Zald, 2012; Salzman y Fusi, 2010).

La CPF es muy compleja debido a que muestra una enorme variación entre especies en términos citoarquitectónicos y conectividades. La característica distintiva de la CPF de primate es la aparición de cortezas disgranulares y granulares, que están completamente ausentes en roedores (Salzman y Fusi, 2010). La CPF de los primates a menudo se divide en diferentes subregiones, como la dorsolateral (CPF_{DL}), ventrolateral, medial y la orbitofrontal (Figura 3) (Carmichael y Price, 1996).

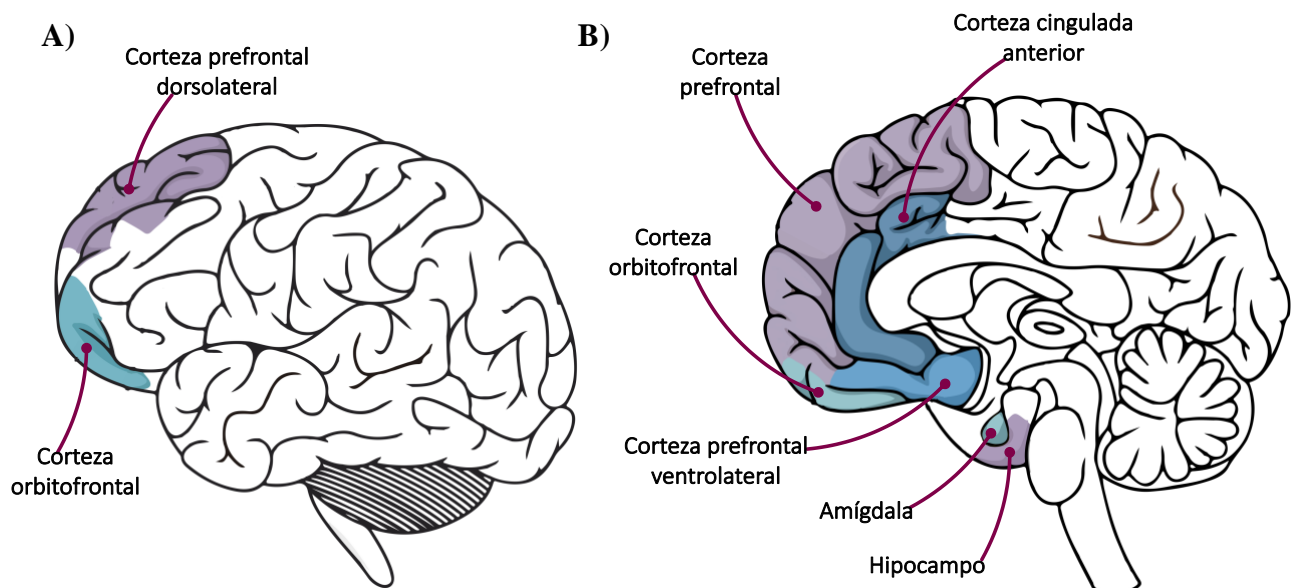


Figura 3. Ilustración de la vista lateral y medial del cerebro. Se representan diferentes vistas del cerebro. **A)** Vista lateral del cerebro en la que se representa el área que abarca la CPF_{DL} y la corteza orbitofrontal. **B)** Vista ventral del cerebro en la que se representan el área que abarca la corteza cíngula anterior, la CPF, la corteza orbitofrontal, la CPF_{ventrolateral}, la amígdala y el hipocampo (Tomado y adaptado de Zelazo *et al.*, 2016).

Las señales de salida de la CPFDL se dirigen a los sistemas motores y, por lo tanto, la CPF puede formar o controlar la planificación motora. En general, la CPF recibe entradas que proporcionan información sobre muchas variables externas e internas, incluidas las relacionadas con las emociones y las funciones cognitivas, lo que proporciona un posible sustrato anatómico para la representación de estados mentales. (Gao *et al.*, 2012).

La amígdala es un grupo de núcleos estructural y funcionalmente heterogéneos que se encuentran en la zona medial anterior del lóbulo temporal. La amígdala se ha ligado con los procesos emocionales. Además, está muy interconectado con la CPF, especialmente con la corteza orbitofrontal y la corteza cingulada anterior (Salzman y Fusi, 2010). La comunicación bidireccional entre la amígdala y la CPF proporciona la base para la integración de los procesos cognitivos, emocionales y fisiológicos de los trastornos mentales (Ray y Zald, 2011).

La CPF está altamente inervada por los sistemas de monoaminas, especialmente el sistema dopaminérgico. Las monoaminas contribuyen al estado de ánimo estable, y un exceso o deficiencia de estas causa varios trastornos del estado de ánimo. Esto explica por qué muchas de las funciones de CPF están asociadas con las funciones del sistema dopaminérgico. La CPF se dirige a los sistemas colinérgicos y monoaminérgicos del cerebro anterior, incluidas las neuronas que contienen noradrenalina en el locus coeruleus pontino, y las neuronas que contienen dopamina en el área ventral tegmental, las neuronas de serotonina en el núcleo de Raphe y neuronas de acetilcolina en el cerebro anterior basal. Estos sistemas modulan las redes corticales al influir en las transmisiones sinápticas excitadoras e inhibitorias, así como en otros procesos corticales en la CPF (Björklund y Dunnett, 2007).

La CPF tiene controles que regulan señales de arriba hacia abajo sobre los sistemas moduladores ascendentes del cerebro, y eso, a su vez, influye poderosamente en las funciones neuromoduladoras de la CPF (Robbins y Arnsten, 2009). Estas proyecciones inervan ampliamente diversas regiones del cerebro anterior, que incluyen el hipocampo, el cuerpo estriado, la amígdala y el tálamo. Entre estos sistemas moduladores ascendentes, el sistema de dopamina es el más importante que desempeña un papel crítico tanto en el proceso cognitivo normal como en las patologías neuropsiquiátricas asociadas con el CPF (Seamans y Yang, 2004). Además, la CPF recibe muchas inervaciones de dopamina en

comparación con otras regiones corticales. Sin embargo, los investigadores solo han vinculado vías aferentes de dopamina con dianas celulares específicas y circuitos neuronales (Seamans y Yang, 2004).

La disfunción de la CPF se asocia en gran medida con trastornos/deficiencias en las funciones cognitivas y ejecutivas que se observan en la mayoría de las enfermedades mentales. Debido a que la CPF desempeña un papel crítico en las funciones cognitivas y la inhibición cortical, especialmente para la percepción, el juicio, y la capacidad de planificar y organizar eventos futuros (Gao *et al.*, 2012)

Aunque se desconoce la causa exacta de la mayoría de los trastornos psiquiátricos, los estudios recientes indican que muchas de las alteraciones son causadas por una combinación de factores genéticos, biológicos, psicológicos y ambientales (Gao *et al.*, 2012). Las operaciones cognitivas de la CPF son especialmente vulnerables a factores fisiológicos, genéticos y ambientales. Pueden alterarse por cambios en el estado de excitación, como fatiga o estrés (Arnsten, 2009), y están muy deteriorados en la mayoría de las enfermedades mentales (Robbins y Arnsten, 2009).

Debido a lo anterior, es necesario realizar análisis de distintas muestras biológicas y de diferentes regiones de la CPF, regiones encefálicas, o muestras periféricas que proporcionen información sobre la expresión de genes y proteínas que ayuden a comprender como se desarrollan los trastornos psiquiátricos, o, como pretende el presente trabajo, el desarrollo del suicidio.

1.5. Neurobiología del suicidio

Los cambios moleculares están relacionados con la neurobiología del suicidio, para comprender esta característica se requiere la integración de los procesos que están involucrados en la desregulación de una región específica del cerebro afectada, junto con el tipo celular específico. Se han estudiado diferentes muestras biológicas como células de la sangre, líquido cefalorraquídeo, plasma y muestras de cerebro en estudios *post mortem*, para identificar anomalías a distintos niveles biológicos que se relacionan con el suicidio. En la Figura 4 se observan algunas de las partes del cerebro más estudiadas en torno a la suicidalidad, donde se encuentran el tallo cerebral, CPF, la corteza cingulada

anterior, la amígdala, y el hipocampo (Lutz *et al.*, 2017). Las irregularidades que se han encontrado a partir de diferentes estudios enfocados a nivel genético y proteómico son: cambios relacionados con el sistema serotoninérgico, eje hipotalámico-hipófisis-adrenal (HHA), sistema glutamatérgico y GABAérgico, respuesta a estrés de poliaminas, transducción de señales, factores de inflamación, disfunción de la glía, y citocinas, entre otros (Sarchiapone *et al.*, 2015; Furczyk *et al.*, 2013; Turecki², 2014).

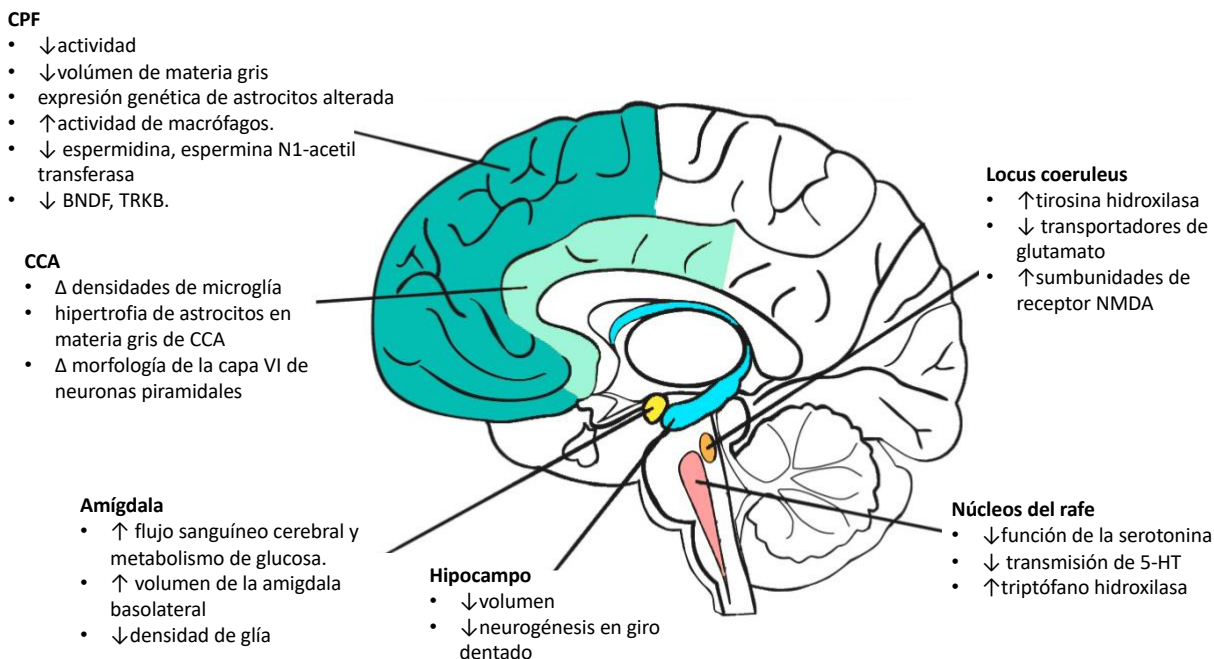


Figura 4. Regiones del cerebro implicadas en depresión y conducta suicida. Se representan algunos cambios moleculares y celulares en regiones como la corteza prefrontal (CPF), corteza cingulada anterior (CCA), amígdala, hipocampo, núcleos del rafe y locus coeruleus (Tomado y adaptado de Lutz *et al.*, 2017).

Las alteraciones del sistema serotoninérgico son de los principales mecanismos biológicos estudiados en el suicidio y se han postulado como biomarcadores del fenómeno (Sarchiapone *et al.*, 2015). Algunas características observadas van desde el incremento de la actividad de receptores de serotonina y el decremento de metabolitos de serotonina como el ácido 5-hidroxiindoleacético (5-HIAA). Este es el principal metabolito para la síntesis de serotonina el cual se ha relacionado a la impulsividad, comportamiento agresivo e intento suicida (Vijayakumar *et al.*, 2011; Sarchiapone *et al.*, 2015). Otros elementos identificados dentro de este sistema son el transportador de triptófano, la triptófano hidroxilasa, la velocidad de síntesis de la serotonina y de receptores de serotonina como, 5HT-1A, 5HT-

1B, 5HT-1D. Estos han sido objeto de los estudios *post mortem* debido a que se ha propuesto que desempeñan un papel importante en desordenes depresivos porque incrementan la respuesta al estrés, ansiedad y al comportamiento suicida (Furczyk *et al.*, 2013; Sarchiapone *et al.*, 2015).

Las anormalidades en el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) han sido asociadas a comportamientos suicidas por diversos estudios (Turecki, 2014; Sarchiapone *et al.*, 2015). Este eje es influenciado por el estrés y es responsable de modular los niveles de cortisol y puede alterarse cuando se encuentra bajo niveles altos de estrés. El gen *NR3C1* que codifica para el receptor de glucocorticoides se encuentra regulado a la baja en el hipocampo de individuos que fueron expuestos a adversidades en la vida temprana, lo que conlleva a la inhibición ineficaz de la secreción de la hormona liberadora de hormona adrenocorticotropa (CRH, por sus siglas en inglés) y el aumento en la actividad del eje HHA (Turecki, 2014). Un estudio realizado por Pandey y colaboradores (2013) analizó diferentes áreas del cerebro, entre ellas la CPF de adolescentes que consumaron el suicidio y los comparó con cerebros de personas que murieron por causas diferentes. Los resultados que obtuvieron mostraron la baja expresión de proteínas y de expresión de genes de glucocorticoide- α en la CPF y la amígdala. El estrés en parte es regulado por el cortisol y desempeñan funciones importantes en varios procesos psicopatológicos vinculados con desordenes del estado de ánimo y comportamiento suicida (Sarchiapone *et al.*, 2015).

Otros estudios se han enfocado en identificar anormalidades en elementos involucrados en procesos de transducción de señales como el fosfoinosítido (PI), adenilato ciclasa, MAP quinasa, y sistemas de señalización de factores de inflamación como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Sarchiapone *et al.*, 2015; Pandey, 2013). La actividad de la quinasa A (PKA) es dependiente de los niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) de la célula y tiene como función la regulación de la transcripción de genes, además de fosforilar diversas proteínas (Pandey, 2013) y se encuentra implicada en la psicopatología de la depresión y el suicidio (Sarchiapone *et al.*, 2015). Pandey (2013) menciona en su revisión que la actividad de esta enzima se encuentra disminuida de manera significativa en la CPF de individuos que consumaron el suicidio, también menciona que el ARNm de subunidades de PKA como PKA RII β y C β se encuentra disminuido de manera significativa. La quinasa C (PKC, por sus siglas en inglés) se encuentra involucrada en la

vía de señalización del PI, la síntesis y liberación de neurotransmisores, la regulación de receptores y canales iónicos, la excitación neuronal, la expresión génica y la proliferación celular (Sarchiapone *et al.*, 2015).

BDNF es la neurotrofina más abundante en el cerebro y se encuentra relacionada con la patofisiología de algunos trastornos psiquiátricos asociados al suicidio como la ansiedad y la depresión (Sarchiapone *et al.*, 2015). Un estudio realizado por Dwivedi y colaboradores (2003) demostró que el BDNF y la tirosina quinasa B (PTKB) se encontraban reducidos de manera significativa en el área 9 de Brodman (A9B) y en el hipocampo.

Las citocinas están enlazadas con la patofisiología de la depresión, trastornos psiquiátricos y comportamiento suicida, por lo que se han realizado diferentes estudios en líquido cefalorraquídeo, muestras de cerebro *post mortem* y otras muestras biológicas para comprobarlo (Sarchiapone *et al.*, 2015). Estas moléculas son secretadas por distintas células y actúan como señales entre las células y la regulación del sistema inmune ante una herida o infección (Pandey, 2013). Pandey y colaboradores (2011) realizan un estudio de la CPF de adolescentes que consumaron el suicidio, en el que determinan el incremento significativo de ARNm y las interleucinas IL-1 β , IL-6, así como el TNF- α .

Es notable que hay diferentes enfoques de estudio a nivel biológico del suicidio. No obstante, la mayoría de la investigación en torno a este fenómeno se encuentra enfocada principalmente a los genes. Sin embargo, las proteínas también pueden aportar información que contribuya con la neurobiología del suicidio.

1.6. Las proteínas

Antes de hablar de los estudios enfocados a proteínas es necesario mencionar que son y como se estudian estas moléculas. Las proteínas son cadenas poliméricas de aminoácidos y son las macromoléculas más abundantes en los sistemas vivos. Los aminoácidos se unen mediante un enlace covalente peptídico. Son 20 aminoácidos los que se encuentran presentes en los seres vivos, y casi todos comparten la misma estructura base (Figura 5), tienen un grupo carboxilo y un grupo amino enlazados en el mismo átomo de carbono. El

grupo R es diferente entre los 20 aminoácidos y por él varían en peso molecular y carga eléctrica (Nelson y Cox, 2005).

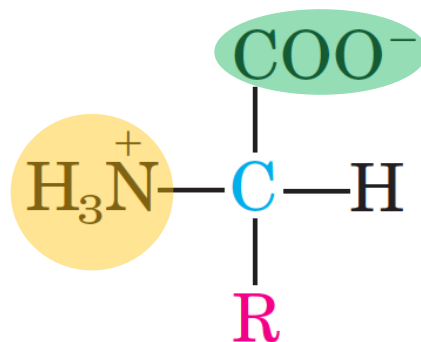


Figura 5. Estructura general de un aminoácido. Esta estructura es común en todos los aminoácidos- α , excepto en el aminoácido cíclico prolina. El grupo R (representado en rojo) es diferente en cada aminoácido y se encuentra enlazado al carbono- α (representado en azul). El círculo amarillo representa el grupo amino, mientras que el círculo verde el grupo carboxilo (Extraído y modificado de Nelson y Cox, 2005).

Dos aminoácidos se pueden unir de forma covalente mediante un enlace peptídico. Esta unión es posible gracias a la reacción de condensación (Figura 6), en esta ocurre la deshidratación del grupo carboxilo- α . Los aminoácidos pueden formar tetrapéptidos, pentapéptidos, y así sucesivamente, hasta elaborar una cadena de polipéptidos en la que se encontrará el grupo amino libre, también llamado terminal y el grupo carboxilo libre o terminal. Las proteínas pueden ser cadenas largas de polipéptidos compuesta de 100 hasta miles de residuos de aminoácidos (Nelson y Cox, 2005).

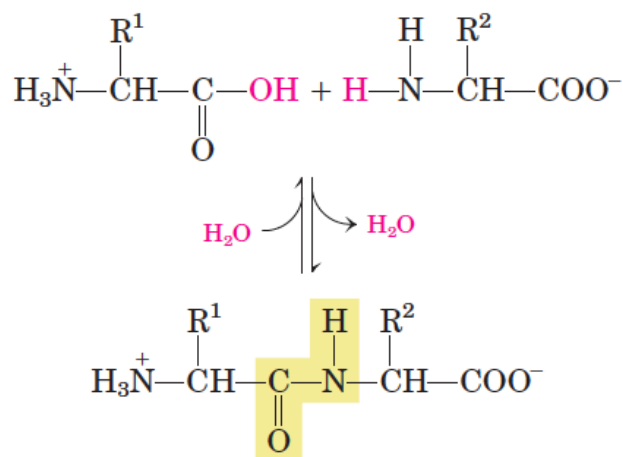
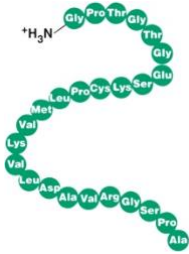
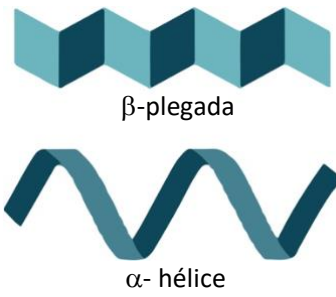
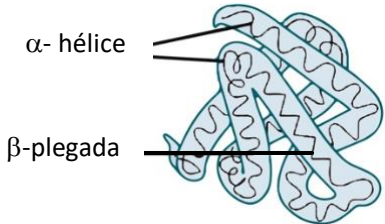
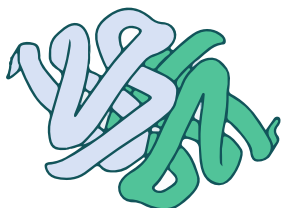


Figura 6. Formación de enlace peptídico mediante una reacción de condensación. El grupo amino- α de uno de los aminoácidos actúa como nucleófilo para desplazar el grupo hidroxilo del otro aminoácido y forma un enlace peptídico marcado en amarillo (extraído de Nelson y Cox, 2005).

Es bien sabido que las proteínas tienen cuatro conformaciones estructurales. Estas están enlistadas y representadas en la Tabla 3, también se proporcionan características de las diferentes conformaciones de proteínas.

Tabla 3. Niveles estructurales de las proteínas

Estructura	Representación	Características
Primaria		Es la unión covalente entre los aminoácidos (principalmente por enlaces peptídicos y disulfuro) en una cadena polipeptídica
Secundaria		Está estabilizada por puentes de hidrógeno formados entre los átomos de los polipéptidos. La mayoría de estas proteínas tienen segmentos de sus cadenas de polipéptidos enroscados o plegados en patrones que le confieren forma a la proteína. El enrosque o el plegamiento se pueden repetir varias veces que se les ha atribuido el nombre de α -hélice o β -plegada.
Terciaria		Es la estructura tridimensional estable de la organización de la cadena polipeptídica. Esta estructura se estabiliza por interacciones hidrofóbicas como los enlaces disulfuro que se forman entre los grupos R de los aminoácidos.
Cuaternaria		Es un complejo conformado por dos o más subunidades de cadenas polipeptídicas.

Información extraída de Nelson y Cox, 2005 y Berg *et al.*, 2002

Las proteínas son las macromoléculas más versátiles de los sistemas vivos y su función es crucial para todos los procesos biológicos. Las proteínas pueden funcionar como catalizadores, transportadores de otras moléculas como el oxígeno, también proporcionan mantenimiento y soporte inmune a las células, entre otras funciones (Berg *et al.*, 2002).

Como se mencionó anteriormente, las proteínas pueden ser objeto de estudio para las condiciones psiquiátricas, debido a que la mayoría de las funciones biológicas se llevan a cabo mediante proteínas codificadas en el genoma, por lo que es necesario estudiar como interactúan las moléculas entre sí con la finalidad de comprender el funcionamiento de la célula, tejido u organismo en determinadas condiciones.

1.7. Proteómica

Los estudios relacionados a trastornos psiquiátricos principalmente se encuentran enfocados al genoma. Sin embargo, es necesario disponer de técnicas que permitan comprender la relación entre la expresión de los genes y las disfunciones biológicas. La proteómica se dedica al estudio de la expresión de las proteínas y de sus cambios en dependencia del contexto biológico. A diferencia de otras técnicas utilizadas en bioquímica, la proteómica se basa en la separación e identificación de muchas proteínas (llegan a ser más de mil) simultáneamente (Castellanos *et al.*, 2004).

El proteoma es el conjunto de todas las proteínas expresadas por la célula, tejido u organismo en un momento determinado (Verrills, 2006). Esta técnica tiene relevancia clínica debido a que ofrece una aproximación de las proteínas o grupos de proteínas que son responsables de los procesos involucrados en padecimientos de interés, y estas pueden ser utilizadas como biomarcadores (Tambor *et al.*, 2010).

El dogma central de la biología molecular (Figura 7), es la base de los estudios proteómicos, debido a que el dogma plantea que a partir del ADN se codificará una proteína, es decir, un gen equivale a una proteína. De acuerdo con ese planteamiento los estudios genómicos podrían representar de manera adecuada la expresión de las proteínas. Sin embargo, hay alteraciones cuando la información del ADN es transcrita a ARN. Un gen está compuesto por exones (parte codificante) e intrones (regiones no codificantes); cuando la molécula de ARNm se va a formar, los intrones son eliminados dan origen a la secuencia que codificará a la proteína, los exones pueden reordenarse de varias formas y dar lugar a más de una proteína a partir de un solo gen. A ese reordenamiento de los exones se le llama *splicing* y es responsable de la producción de isoformas. También existen las modificaciones postraduccionales (MPT) y estas no están determinadas por el genoma.

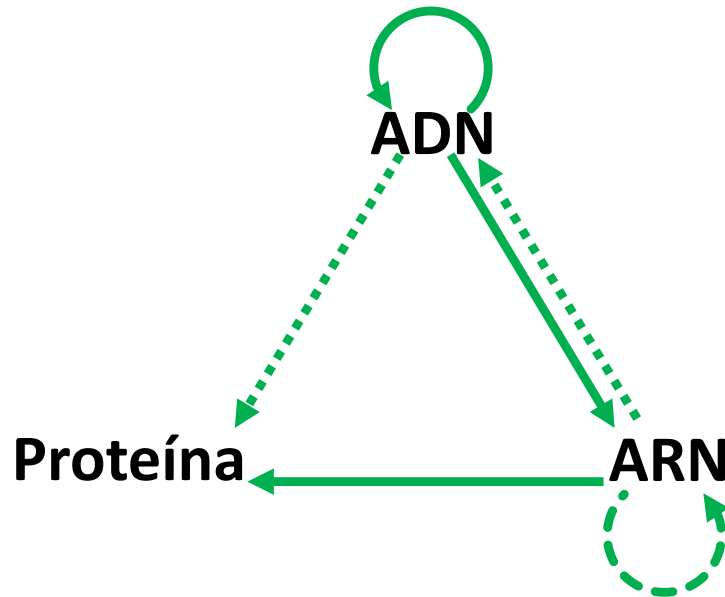


Figura 7. Dogma central de la biología molecular. Se muestra el flujo de información que existe entre las moléculas de ADN, ARN y proteínas.

Entonces, si existe un mayor número de proteínas por las modificaciones anteriormente mencionadas, los estudios del genoma no podrían identificar dichas alteraciones. Por lo tanto, los estudios del proteoma brindan la mejor interpretación de las condiciones de un padecimiento o condición en comparación con los estudios genómicos. Debido a lo anterior, los estudios genómicos no son buenas representaciones de las modificaciones que ocurren a nivel de proteóma, y por lo tanto no lograrían identificar proteínas que pueden estar enlazadas a vías de señalización o condiciones de alguna enfermedad (Tambor *et al.*, 2010). Además, estos estudios pueden identificar variantes producidas por el *splicing* y esto no sería posible en métodos de análisis de RNAm. Por otro lado, los estudios del proteoma son más informativos porque las proteínas se encuentran directamente involucradas en los procesos moleculares responsables de las condiciones que se desean estudiar (Betzen *et al.*, 2015).

Patel (2012), menciona que la proteómica incluye diferentes campos de investigación: 1) Proteómica de expresión, realiza estudios cuantitativos y cualitativos; 2) Proteómica funcional, es el estudio de las propiedades funcionales individuales de las proteínas y su organización en vías de interacción; y, 3) Proteómica clínica, es la que identifica los biomarcadores y los mecanismos biológicos de alguna enfermedad.

Entre las técnicas que se usan con mayor frecuencia en los análisis del proteoma se encuentra la electroforesis bidimensional (Figura 8). El principio de este método se basa en la combinación de dos técnicas ortogonales, es decir, que no comparten los mismos principios físicos. El isoelectroenfoque (Figura 8, A) es el primer paso de la electroforesis bidimensional, la cual consiste en la separación de las proteínas por su carga eléctrica. Las proteínas migran en el gradiente de pH deseado hasta alcanzar un punto donde carezcan de carga, es decir, alcancen su punto isoeléctrico. El segundo paso de la electroforesis bidimensional consiste en la separación de las proteínas por su masa molecular (Figura 8, B), para ello se realiza la electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes, por lo que se utiliza el dodecil sulfato de sodio (SDS), un detergente aniónico muy potente que desnaturaliza a las proteínas (Castellanos *et al.*, 2004; Sethi *et al.*, 2015).

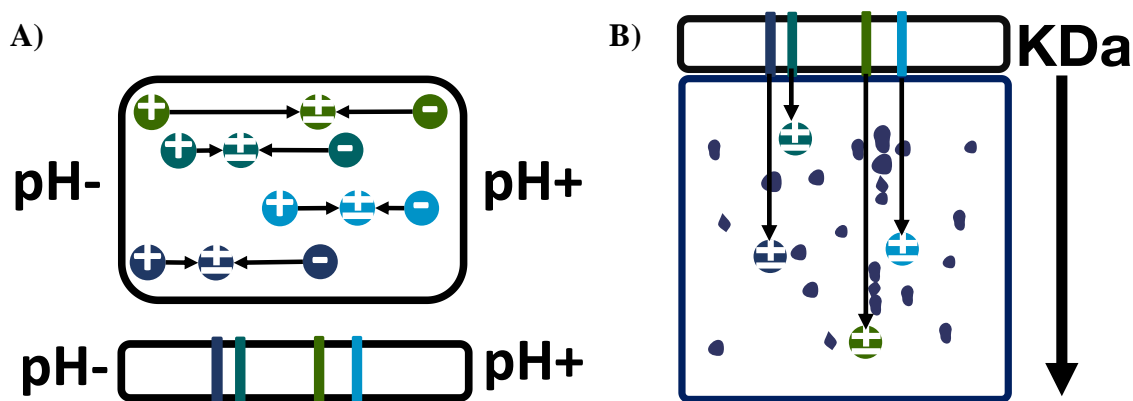


Figura 8. Ilustración de la electroforesis bidimensional. Se representan las técnicas que se utilizan en la electroforesis de segunda dimensión. A) En esta figura se ilustra el principio del isoelectroenfoque donde las proteínas en pH ácidos tienen carga positiva, mientras que en un pH básico tienen carga negativa. La parte superior representa la carga de las proteínas (círculos con + y - en el centro), dependiendo del pH en el que se encuentren. Las proteínas se desplazarán (flecha) hasta que alcancen su punto isoeléctrico (círculos con ± en el centro). La parte inferior representa las proteínas en el lugar donde encontraron su punto isoeléctrico. B) Se representa la electroforesis que se realiza con las proteínas que alcanzaron su punto isoeléctrico gracias al isoelectroenfoque. Las flechas en el recuadro indican el desplazamiento de las proteínas hasta que alcanzan su masa molecular.

Al concluir los análisis de los geles obtenidos por la electroforesis, las proteínas de interés son identificadas habitualmente mediante la espectrometría de masas (EM). La EM ha sido utilizada desde hace tiempo para el estudio de biomoléculas. No obstante, esta técnica se ha convertido en uno de los métodos más utilizados para el estudio de proteínas (Castellanos, *et al.*, 2004)

Uno de los objetivos principales de la proteómica basada en la EM es identificar y cuantificar proteínas a partir de una mezcla de proteínas purificada, enriquecida o compleja. La proteómica con base en fines de purificación se puede dividir en: *bottom-up*, *shotgun* y *top-down*. En la proteómica *bottom-up*, las proteínas se cortan en péptidos que sirven como entrada para el equipo de EM, mientras que en proteómica *top-down* el espectrómetro de masas aísla una proteína de longitud completa que puede fragmentarse posteriormente dentro del espectrómetro de masas. La técnica de *shotgun* es un caso especial de proteómica de tipo *bottom-up*, donde, una mezcla compleja de proteínas se digiere en péptidos, generalmente mediante tripsina, seguida de la cromatografía líquida multidimensional de alto rendimiento en línea acoplada al espectrómetro de masas (Matthiesen y Bunkenborg, 2013).

El espectrómetro de masas es un aparato que mide la masa respecto a la carga de moléculas ionizadas. El espectrómetro tiene tres partes importantes, la fuente de ionización, el analizador de masa y el detector. La fuente de ionización produce iones a partir del analito, los iones se generan cuando se transfieren moléculas condensadas a la fase gaseosa y se ionizan positiva o negativamente en el proceso. Los principales métodos de ionización utilizados en proteómica son, ESI (*Electro Spray Ionization*) el MALDI (*Assited Laser Deorption and Ionizaton*) (Matthiesen y Bunkenborg, 2013). Las biomoléculas cargadas en fase gaseosa pueden ser controladas y analizadas en el analizador, donde son separadas de acuerdo a su proporción masa/carga (m/z). Los principios con el que los analizadores manipulan los iones es diferente, pero todas arrojan resultados que pueden ser transformados en intensidades (Castellanos, et al., 2004; Matthiesen y Bunkenborg, 2013)

El MALDI emplea un láser ultravioleta para suministrar la energía capaz de ionizar la muestra, esta debe estar purificada casi al 100 %. Previamente, la muestra es mezclada con una matriz constituida por compuestos insaturados, como el ácido sinapínico, ácido 2,5 dihidroxibenzoico, ácido 4-hidroxi-a-cianocinámico, entre otros. Que son capaces de absorber energía a cierta longitud de onda. De esta forma la matriz absorbe la mayor parte de la energía suministrada por lo que facilita la ionización del compuesto que se desea analizar, en caso de que no se utilizara la matriz la energía suministrada destruiría la muestra totalmente (Castellanos, et al., 2004; Matthiesen y Bunkenborg, 2013) .

Las aplicaciones de la proteómica son amplias y en el caso de la neurociencia los análisis de las proteínas basados en geles se han convertido en la herramienta más utilizada para estas investigaciones. Los métodos a base de geles habitualmente comparan las muestras de control vs las muestras de modelos biológicos o humanas, estas son sometidas a electroforesis bidimensional y posteriormente analizadas en softwares especializados que comparan los *spots* que se observan en los geles e identifican las proteínas alteradas. Posteriormente son identificadas por espectrometría de masas (MS) y la expresión de las proteínas se evalúa con técnicas de inmunodetección como el Western blot (Sethi *et al.*, 2015). Gracias a las virtudes de la proteómica se puede extraer gran cantidad de información que contribuya a la comprensión de las condiciones psiquiátricas.

II. ANTECEDENTES

2.1. Proteínas alteradas en suicidio a nivel orgánico

El análisis del proteoma puede ayudar a identificar nuevas proteínas o modificaciones de estas moléculas vinculadas al suicidio. Dado que el proteoma es dinámico, variable y susceptible a alteraciones por cambios en los procesos intra y extracelulares, puede verse más afectado en comparación al genoma que es más estable. Esto quiere decir que, los genes pueden determinar diferentes productos, por lo que el estudio de las proteínas puede ayudar a comprender de mejor manera los procesos biológicos involucrados en trastornos psiquiátricos, por lo que es necesario describir vías de señalización y transducción, así como vías de interacción que puedan afectar las proteínas y no únicamente al ADN y ARN (Revisado por Furczyk *et al.*, 2013).

Los estudios *post mortem* en tejido de cerebro son pocos y más enfocados a las alteraciones en el genoma por lo que el proteoma no ha sido explorado lo suficiente. Estos análisis evalúan diferencias entre dos condiciones mediante la electroforesis en segunda dimensión en geles de poliacrilamida y lograron identificar diferentes proteínas (Tabla 4) que se han asociado a la neurobiología del suicidio.

Tabla 4. Proteínas asociadas al suicidio en estudios del proteoma

Citoesqueleto			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Actina citoplasmática 2	↓	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018
α-internexina	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Neurofilamento de polipéptido ligero 68 KDa	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Tubulina-α cadena 1B	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Señalización			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Anexina A5	↓	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018
Adenil ciclasa-asociada a proteína 2	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína quinasa 3 activada por mitógenos (ERK1)	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína 14-3-3 theta	↑	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018

Metabolismo			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Apolipoproteína A-I	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Apolipoproteína E	↓	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018
ATP sintetasa, transportador H ⁺ , complejo F1 mitocondrial, polipéptido gamma 1	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Creatina quinasa tipo-B	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Enoil-CoA hidratasa, mitocondrial	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Transaminasa glutámico-oxalacética 1, soluble (aspartato aminotransferasa 1)	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Isocitrato deshidrogenasa 2 [NADP ⁺], mitocondrial	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Piruvato deshidrogenasa (lipoamida) α 1	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Procesamiento de proteínas			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Proteína α cristalina, cadena beta.	Únicamente en suicidio	CPF	Schlicht <i>et al.</i> , 2007
Proteína 4 de unión-FK506, 59 KDa	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína de choque térmico cognato 71KDa	↑↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Desarrollo			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Dihidropirimidinasa	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína de unión a selenio 1	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Septina-3 neuronal-específica	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína de tumor D52	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Sinapsis, Neurona			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Proteína de unión A-I-apolipoproteína	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Apolipoproteína L2	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Sinapsina-1	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Metabolismo ADN y ARN			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Ribonucleoproteína nuclear heterogénea D-like	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Prohibitina	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Proteína de activación transcripcional Pur- α	↑	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017

Sistema redox			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Superóxido dismutasa de Mn	Únicamente en suicidio	CPF	Schlicht <i>et al.</i> , 2007
Glutación S-transferasa Mu 3 (cerebro)	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Peroxiredoxina 2	↓	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018
Peroxiredoxina 6	↓	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017
Células gliales			
Proteína	Expresión	Localización	Referencia
Proteína glial fibrilar ácida	↓ / Únicamente en suicidio	Amígdala, CPF	Kékesi <i>et al.</i> , 2017; Schlicht <i>et al.</i> , 2007
Fosfo proteína de astrocito	↓	LCF	Semančíková <i>et al.</i> , 2018

Las proteínas se encuentran enlistadas conforme a los procesos biológicos en los que se involucran. La expresión se indica con ↓ cuando es baja, ↑ cuando es alta. Los estudios se realizaron en la corteza prefrontal (CPF), amígdala y en el líquido cefaloraquídeo (LCF).

Kékesi y colaboradores (2012) analizaron el proteoma de la amígdala y la CPF de individuos que consumaron el suicidio y encontraron proteínas como la dihidropirimidinasa, la proteína glial fibrilar ácida (GFAP), la glutamina sintetasa, la proteína de choque térmico de 71 KDa, entre otras y de acuerdo con su escrito ya han sido identificadas en otros trastornos psiquiátricos. Dichas proteínas se encuentran relacionadas con procesos biológicos como metabolismo, funciones estructurales, sistema REDOX, citoesqueleto, sinapsis y proteólisis. Otro dato importante es que la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), α -internexina (INA), el neurofilamento ligero (NEFL), el neurofilamento mediano (NEFM) y la cadena $\alpha 1$ de tubulina (TUBA1), cambian tanto en la amígdala como en la CPF. Por otro lado, GFAP, la actina citoplasmática (ACTB) y la catepsina d (CTSD), tienen cambios opuestos en ambas estructuras (elevado en amígdala y baja expresión en CPF). Otras proteínas ligadas a este fenómeno son la α -cristalina (CRYAB), proteína que pertenece a las proteínas de choque térmico de bajo peso molecular y la superóxido dismutasa (SOD2), enzima antioxidante encargada de detoxificar a la célula de superóxido (Schlicht *et al.*, 2007). Un estudio más reciente realizado por Pandey y colaboradores (2016), se enfocó en analizar la expresión de la proteína y del gen codificante de SKA2, debido a que la función de esta proteína se ha visto involucrada en el eje HHA y se ha identificado como un factor neurobiológico en depresión y suicidio. Los resultados indican

que la expresión es significativamente reducida en la CPF de víctimas de suicidio en comparación con sujetos no suicidas y controles normales.

Un análisis de proteínas del LCR compara tres condiciones: muerte por suicidio, muerte por otra causa y muestras control *in vivo*. Encontraron 20 proteínas alteradas de manera significativa en la condición suicida. Las proteínas identificadas fueron: la enolasa 1 y 2 (ENO1 y ENO2, respectivamente), 14-3-3 ϵ (YWHAE), y 14-3-3 θ (YWHAQ), entre otras (Semančíková *et al.*, 2018).

Toda la información recopilada en esta sección es un reflejo de que los estudios enfocados en el proteoma de personas que tienen conductas relacionadas al suicidio propician gran cantidad de información. En conjunto, estos datos pueden ser relacionados a vías de señalización y metabólicas que tengan relación con la neurobiología del suicidio.

2.2. Vías de señalización y metabólicas relacionadas a la conducta suicida

Identificar las vías metabólicas y de señalización alteradas en el comportamiento suicida puede ayudar a comprender el desarrollo de este fenómeno y proponer objetivos para el posible tratamiento de la condición. Algunas vías como la del metabolismo de aminoácidos, metabolismo energético, estrés oxidante y lipídico, han sido relacionadas al TDM en modelos animales como ratones, específicamente las vías de alanina, aspartato y glutamato, d-glutamina y d-glutamato, arginina y prolina, y metabolismo de nitrógeno (Wu *et al.*, 2016). Las proteínas identificadas por Semančíková y colaboradores (2018) vinculan alteraciones en el metabolismo de la glucosa, especialmente en la utilización de glucosa y la respuesta al estrés oxidante, junto con alteraciones en vías de señalización mediadas por proteínas 14-3-3 a la neurobiología del suicidio. Los datos concuerdan con el estudio realizado por Yang y colaboradores (2016), han identificado proteínas ligadas al metabolismo energético como la glucólisis/gluconeogénesis, el ciclo del ácido tricarboxílico y la fosforilación oxidativa. Un segundo análisis vincula al metabolismo de glicina, serina, treonina, y el metabolismo de glutatión. Otro estudio *post mortem* de las A46B, A44B, A45B y A47B de sujetos que murieron por suicidio consumado, encontró sobrerrepresentados factores implicados en el control del ciclo celular, división celular, transcripción y mielinización. Asimismo, encontraron alteraciones en la expresión de genes implicados en la síntesis de ATP (Klempner *et al.*, 2009).

Las vías de coagulación y de inflamación se han asociado al intento suicida, un ensayo comparó el plasma de individuos que padecían TDM e intentaron suicidarse contra pacientes con TDM sin intento suicida y controles sanos. Obtuvieron el perfil proteico de las muestras e identificaron dos proteínas ligadas a la vía de inflamación y ocho a vías de coagulación, como la protrombina (Yang *et al.*, 2016).

El sistema inflamatorio influye en la suicidalidad, debido a que se han encontrado niveles altos de la interleucina-6 (IL-6) en sangre y en tejido cerebral (Black y Miller, 2015). IL-6 se encuentra a niveles significativamente altos en el LCR en personas que han intentado el suicidio (Lindqvist *et al.*, 2009). Además, algunos estudios han encontrado niveles bajos de ω -3 en individuos que intentaron y completaron el suicidio. Sin embargo, la relación entre la suicidalidad, el ω -3 y el sistema inflamatorio no es clara (Salloum, 2017). La glucógeno sintasa quinasa (GSK3) está involucrada en los procesos de inflamación y comportamiento agresivo en modelos de roedores en los que se estudia el TDM. Se ha propuesto que esta proteína responde al estrés y propicia la inflamación (Beurel y Jope, 2014). Se ha demostrado que la inflamación induce el metabolismo del triptófano mediante la vía de quinurenina y que algunos metabolitos y enzimas implicadas en esta vía pueden influir en el comportamiento suicida (Bryleva y Brundin, 2017).

La vía de la quinurenina está involucrada en procesos de inflamación y regulación de la neurotransmisión de glutamato. Parte de su metabolismo es regulado por la enzima (ACMSD), la cual limita la formación del ácido quinólico mediante la producción competitiva del ácido picolínico. La baja actividad de ACMSD puede provocar un aumento en el ácido quinolínico. Se ha encontrado aumentado el ácido quinolínico y la prevalencia de un polimorfismo de ACMSD en individuos con intento suicida, lo cual se vincula al incremento en ácido quinolínico (Brundin *et al.*, 2016). Los datos anteriores, son consistentes en suicidio consumado, donde han encontrado incrementado el ácido quinólico, por el contrario, el ácido quinurénico está disminuido en el LCR (Bay-Richter *et al.*, 2015).

Algunas vías de señalización involucradas en la suicidalidad son: la vía de beta-catenina/WNT, vías de señalización cAMP, y vía de PKC/calcio. La vía de señalización WNT se involucra con procesos fisiológicos como cognición, desarrollo cerebral y supervivencia. La glucógeno sintasa quinasa (GSK)-3 β y β -catetina son componentes

importantes en vía WNT y se han encontrado disminuidas en la CPF e hipocampo en adolescentes que murieron por suicidio (Ren *et al.*, 2013). La actividad de las proteínas quinasa activadas por mitógenos (MAPK) 44 y 42 se encuentra significativamente reducida en la CPF (AB 8, 9 10) y en hipocampo de individuos que murieron por suicidio y padecían TDM, se asocia a bajos niveles de proteína y ARNm de ERK1 y 2 (Dwivedi, 2001). La baja actividad de las proteínas PKA y PKC se han relacionado con el suicidio, específicamente un bajo contenido de PKA-R1 α , PKA y PKC α del AB10 de la CPF (Shelton, Manier y Lewis, 2009). Además, sitios de unión de PKA a AMPc se han visto reducidos en la CPF, junto con la baja actividad de la PKA en ausencia y presencia de AMPc (Dwivedi *et al.*, 2002).

Son muchas las vías metabólicas y de señalización que se han relacionado con el suicidio a partir de los estudios de proteínas. Sin embargo, el propósito del presente trabajo es encontrar relaciones biológicas del suicidio con el consumo de alcohol y por lo tanto se hablará de los estudios del proteoma en personas que padezcan algún trastorno psiquiátrico asociado al consumo de alcohol.

2.3. Proteínas modificadas por consumo de alcohol en tejido cerebral

Los estudios *post mortem* del proteoma del tejido cerebral pueden ayudar en diferentes aspectos a la comprensión del desarrollo y procesos biológicos afectados por el consumo de alcohol mediante la identificación de alteraciones en diferentes proteínas (Tabla 5). Se han realizado múltiples estudios en diferentes regiones del cerebro y han encontraron proteínas con alta expresión como la peroxiredoxina-2, proteína de unión a ácidos grasos, proteína antioxidante 2, creatina quinasa (cadena B), proteína de choque térmico cognato 71, piruvato quinasa, entre otras. Los resultados anteriores, concuerdan con otros trabajos donde han identificado proteínas como, tropomiosina 2 (beta), varias proteínas 14-3-3, enolasa γ y α , α -tubulina, tirosina 3 monoxigenasa, y las proteínas de choque térmico 70 y 71, proteínas que se encontraban disminuidas en su expresión (Lewohl *et al.*, 2004). Otros estudios también se han enfocado en identificar proteínas del A9B, y encontraron alteraciones en la α -internexina, la transcetolasa, la unidad beta de la ATP sintasa vacuolar, la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, entre otras (Alexander-Kaufman *et al.*, 2006).

En un segundo ensayo realizado por el mismo grupo de investigadores en el A9B de individuos que eran alcohólicos, identificó a la unidad E1 β de la piruvato deshidrogenasa, la enzima succinilcoa:3-cetoácido-coenzima a transferasa1, la antiquitina 1, las proteínas de choque térmico 70 y 71, la ATPasa de transición ER, la subunidad E de la ATP sintasa vacuolar, la α -internexina, la cadena ligera de ferritina, entre otras (Alexander-Kaufman¹ *et al.*, 2007).

Tabla 5. Proteínas asociadas al abuso de alcohol en estudios del proteoma

Citoesqueleto				
Proteína	Exp. AA	Exp. AAC	Localización	Ref.
Triplete L de neurofilamento	x	↓	CPF (B9)	1
Proteína glial fibrilar ácida	x	↓	Cerebelo	2
Señalización				
Proteína	Exp. AA	Exp. AAC	Localización	
Dihidropirimidinas-relacionada a proteína 2	↑	↑	CPF (B9)	1
Proteína fijadora a nucleótido de guanina, G(o) a1	↑	↑	CPF (B9)	1
Piruvato quinasa, M2 isozima	x	↓	CPF (B9)	1
Succinilo-CoA:3-cetoácido-coenzima A transferasa 1, mitocondrial [precursor]	↑	↑	CPF (B9)	1
3-oxoácido CoA transferasa	↑	↑	CPF (B9)	1
Proteína de choque térmico- relacionada a proteína 2 de 70 KDa	↑	↑	CPF (B9)	1
Metabolismo				
Proteína	Exp. AA	Exp. AAC	Localización	
Cadena de ATP sintetasa, mitocondrial (precursor)	↓	↑	Cerebelo	2
Fructosa-bisfosfato aldolasa C	↓	↓	Cerebelo	2
Proteína de estrés-70, mitocondrial (precursor)	x	↓	Cerebelo	2
Piruvato deshidrogenasa (lipoamida) α 1	↑	↑	Cerebelo	2
DJ-1	↓	↓	Cerebelo	2
Canal aniónico dependiente de voltaje, proteína 1	↓	↓	CPF (B9)	1
ATPasa vacuolar, subunidad E	↓	↓	CPF (B9)	1
Factor de elongación 2	↑	Ausente	CPF (B9)	1
Factor de translación elongación EF-Tu (precursor)	↑	↑	CPF (B9)	1

Abreviaciones: Exp.AA: expresión de proteínas en abuso de alcohol, Exp.AAC: expresión de proteínas en abuso de alcohol complicado. La expresión se indica con ↓ cuando es baja, ↑ cuando es alta, y con una x cuando no hay cambios. Las estudiadas fueron el cerebelo y la corteza prefrontal (CPF). Referencias: 1) Alexander-Kaufman¹ *et al.*, 2007 y 2) Alexander-Kaufman² *et al.*, 2007.

La espectrina- β II, y la tubulina- α y β , disminuyen de manera significativa en el A9B de alcohólicos. Asimismo, se observa el incremento significativo en la acetilación de la α -tubulina y un incremento significativo de la proteína isoaspartil metiltransferasa (Endorzain *et al.*, 2014). La transcetolasa y la unidad E1 β de la piruvato deshidrogenasa se han vinculado al consumo de alcohol mediante un estudio proteómico de la materia gris y blanca de la CPF dorsolateral, los autores asocian esta falla a anomalías en la cascada dependiente de tiamina (Matsumoto, 2009).

Otra área estudiada a nivel proteómico es el cuerpo caloso. Específicamente en la parte del esplenio, donde se ha realizado un estudio que compara controles vs dos condiciones, la primera de consumo de alcohol complicado (alcohólicos cirróticos) y la segunda de consumo de alcohol no complicado (controles). En el grupo de consumo de alcohol no complicado se encontraron 45 proteínas, 36 proteínas en el grupo de consumo complicado de alcohol, y 14 proteínas que se encontraban en ambos grupos. De estas proteínas el 44% tenían una expresión baja en ambos grupos. Se identificaron también proteínas como la GFAP, la internexina, la profilina-2, la beta tubulina, la creatina cinasa cadena beta, la ATP sintasa, la ferritina, la aldehído reductasa, la α -sinucleína, la glutatión peroxidasa entre otras (Kashem *et al.*, 2007). El *genu* es otra parte del cuerpo caloso en la que se han realizado estudios proteómicos y se han identificado proteínas como la GFAP, la α -espectrina, la mitofilina, la tropomiosina, la aldehído reductasa, las proteínas 14-3-3, la glutatión-*s*-transferasa, la proteína de choque térmico, alcohol deshidrogenasa, entre otras (Kashem, Harper y Matsumoto, 2008).

En el hipocampo identificaron proteínas como la superóxido dismutasa, la proteína de unión a nucleótido de guanina, la glutamina sintasa, la creatina quinasa tipo β , entre otras (Matsuda-Matsumoto *et al.*, 2007). Las proteínas antes mencionadas son similares a las identificadas en otro estudio, donde también encontraron isoformas de la proteína dinamina-1. Las isoformas de dinamina se encontraban reducidas en la corteza occipital de alcohólicos (Etheridge *et al.*, 2009). En el cerebelo se han descrito proteínas como, la ALDH1, la cadena α de la ATP sintetasa mitocondrial, la peroxiredoxina-6, la actina β y γ , entre otras (Alexander-Kaufman² *et al.*, 2007).

La alcohol deshidrogenasa (ADH) y la aldehído deshidrogenasa (ALDH), son proteínas implicadas en el metabolismo del etanol y se ha reportado que variantes de ellas

pueden influir en conductas asociadas al consumo de alcohol. Una variante de la ALDH2 codifica a la enzima esencialmente inactiva, lo que resulta en la acumulación de acetaldehído. La ALDH2 mitocondrial es la enzima más importante en la eliminación de acetaldehído y mantiene bajos los niveles de este compuesto (Edenberg, 2007).

Al igual que en los estudios enfocados al suicidio, las proteínas identificadas en el cerebro de personas que padecen trastornos relacionados al consumo de alcohol pueden estar involucradas en vías metabólicas y de señalización que estén directamente asociados a la neurobiología de trastornos por abuso de alcohol y alcoholismo.

2.4. Vías de señalización y metabólicas afectadas por el alcohol

El consumo de bebidas alcohólicas puede ocasionar alteraciones directas en el cerebro. Sin embargo, no es claro el mecanismo de interacción del etanol con las biomoléculas y procesos biológicos en este órgano. Se ha demostrado que el cerebro es capaz de realizar la oxidación del etanol, el cual es metabolizado a acetaldehído por la enzima ADH y este posteriormente se metaboliza a acetato por la ALDH. Como se mencionó, las variantes genéticas de la ADH y ALDH influyen en el desarrollo del alcoholismo mediante la acumulación de acetaldehído provoca la rápida intoxicación por el etanol en el caso de la ADH, o bien, por oxidación más lenta del acetaldehído en el caso de las variantes menos activas de la ALDH (Edenberg, 2007). Además, se ha comprobado que la catalasa y el citocromo p-450 (CYP2E1) tienen la capacidad de oxidar el alcohol en acetaldehído en el cerebro (Hipolito *et al.*, 2007). Los metabolitos que se generan por la oxidación del etanol son tóxicos, tal es el caso del acetaldehído y ésteres etílicos de ácidos grasos, que provocan daños en los lípidos, lo que interrumpe las funciones mitocondriales y propicia el daño neuronal (Zahr, Kaufman y Harper, 2011; Ali *et al.*, 2013).

El consumo de alcohol incrementa la generación de especies reactivas de oxígeno como el óxido nítrico y productos de la peroxidación de lípidos provocan daños en el ADN y muerte neuronal. Los niveles de BDNF disminuyen con el consumo de etanol y puede afectar diferentes vías en el cerebro involucradas en la supervivencia, crecimiento y diferenciación celular, lo que ocasiona la muerte celular (Zahr, Kaufman y Harper, 2011). Proteínas identificadas por Kashem (2007) y colaboradores son asociadas al estrés

oxidante, la peroxidación de lípidos, y la apoptosis. Los procesos vinculados, concuerdan con los propuestos por Matsuda-Matsumoto y colaboradores (2007).

Se ha demostrado que, en cerebro de ratones, que el consumo de alcohol disminuye el metabolismo de glucosa e incrementa la oxidación de acetato y que la oxidación de etanol por la astrogliá y neuronas se incrementa. El acetato producido por la oxidación del etanol es consumido por el cerebro donde reemplaza al consumo de glucosa (Wang *et al.*, 2013). Los datos concuerdan con otros resultados obtenidos al estudiar los metabolitos de la oxidación de glucosa en ratas, donde se observa el bajo consumo de ¹³C-glucosa en el cerebro, así como la alta concentración de malonil-CoA. Asimismo, se observó la delta G baja de ATP en el cerebro de rata infundido con acetato (Pawlosky *et al.*, 2010). La reducción del metabolismo de glucosa no sólo afecta al sistema GABAérgico, sino también al consumo de acetato como energía alternativa. Mediante la tomografía por emisión de positrones se demostró que el metabolismo de la glucosa disminuye en toda la corteza y el encéfalo de humanos, principalmente en el cerebelo y corteza occipital. En contraste, el consumo de acetato se ve incrementado principalmente en el cerebelo (Volkow *et al.*, 2013). También, se observaron diferencias en el metabolismo de la glucosa mediante tomografía por emisión de positrones entre el cerebro de hombres y mujeres intoxicados por alcohol, encontrándose mayormente disminuido en el de los hombres (Wang *et al.*, 2003).

Los alcohólicos tienen alto riesgo de presentar deficiencia de tiamina, debido a que el alcohol interfiere en la conversión de tiamina a su forma metabólicamente activa llamada tiamina pirofosfato (TPP). Cuando la cantidad de TPP se reduce interrumpe los siguientes procesos: metabolismo de carbohidratos, metabolismo de lípidos, la producción de ATP mediante el ciclo de Krebs y la vía de la pentosa fosfato, la producción y mantenimiento de la mielina, altera el metabolismo de los aminoácidos, e interrumpe la producción de neurotransmisores derivados de la glucosa (Zahr *et al.*, 2011). Las proteínas alteradas identificadas por Alexander-Kaufman, Wilce y Matsumotoson (2006) son enzimas dependientes de tiamina, donde proponen que puede haber deficiencia de tiamina que provoque estas alteraciones.

Los canales GIRK son un componente inhibitorio postsináptico importante y pueden ser activados por el etanol; se ha demostrado que el incremento de esta proteína en

el cerebro medio reduce el consumo de alcohol en ratones (Herman *et al.*, 2015). Además, la actividad de estos canales está involucrada con la vía canónica de activación de proteínas, sin embargo, cuando son activados por etanol y colesterol se ha observado que pueden funcionar en la ausencia de proteínas-G, pero requieren del fosfatidilinositol difosfato (PIP2) para interactuar (Glaaser y Slesinger, 2017).

Ya se habló por separado de las alteraciones de las proteínas documentadas en distintas regiones del cerebro y el encéfalo de suicidas y personas con algún trastorno relacionado al alcohol. No obstante, son pocos los estudios que han analizado estas dos condiciones juntas. Por ello, se hablará de la relación molecular que se ha reportado en esta comorbilidad.

2.5. Relación neurobiológica del suicidio con el consumo de alcohol

Con la finalidad de comprender el vínculo entre el suicidio y los efectos del alcohol se han realizado algunos estudios sobre los cambios moleculares que se manifiestan en ambos comportamientos. Por ejemplo, se han reportado cambios en el sistema endocannabinoide de individuos con alcoholismo y suicidalidad. Este sistema está compuesto por receptores cannabinoides (RC) y endocannabinoides, hasta ahora se han identificado dos tipos de receptores el CB1 y el CB2, estos difieren en su distribución en diferentes tejidos y la forma en que transmiten señales y pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G. La activación de los receptores CB da lugar a la inhibición de la adenilciclase, e impide la conversión de ATP a AMPc. El receptor CB1 se encuentra mayormente distribuido en el SNC y periférico, la activación de estos da lugar a la inhibición de liberación de neurotransmisores en terminales nerviosas. Esto quiere decir que los receptores CB1 protegen al sistema nervioso (SN) contra la sobre-activación o la sobre-inhibición provocada por los neurotransmisores. Estos receptores son abundantes en regiones responsables del movimiento (Ganglios basales y cerebelo), procesamiento de la memoria (hipocampo y corteza) y de la modulación del dolor (partes de la médula espinal). Los ligandos endógenos de los RC son conocidos como endocannabinoides. En el cerebro actúan como neuromoduladores. Todos los endocannabinoides son derivados de ácidos

grasos poliinsaturados, lo que los diferencia en estructura química de los fitocannabinoides de la planta de cannabis (Grotenhermen, 2006).

Un estudio observó la alta densidad y actividad del receptor CB1 en la CPFDL de suicidas alcohólicos en comparación con alcohólicos no suicidas. También encontraron niveles altos de N-araquinodil, etanolamida y 2-araquinodilglicerol en la misma región (Vinod *et al.*, 2005). Los autores mencionan que altos niveles de los receptores CB1 se han asociado con la impulsividad bajo los efectos de la marihuana y, por lo tanto, proponen que en el caso de suicidas alcohólicos los CB1 pueden propiciar un comportamiento impulsivo, debido a que es característico de alcohólicos crónicos y suicidas con depresión.

Otro ensayo *post mortem* evalúa mediante experimentos de autoradiografía cuantitativa la CPF al comparar casos de suicidio con alcoholismo y sin alcoholismo, alcohólicos que murieron por otra causa y controles que no eran alcohólicos y no murieron por suicidio. El estudio demuestra que la unión de serotonina a los receptores 5-HT1A disminuye en alcohólicos con suicidio consumado y en alcohólicos que murieron por otra causa, concluyen que esta alteración del receptor es característico del consumo de alcohol, debido a que no se encontraron anomalías en las muestras de suicidio. Además, la unión al receptor aumenta en la CPF ventral de los suicidas sin alcoholismo, esto puede ser ocasionado por la baja concentración de serotonina. También realizaron un ensayo en el que evaluaron la actividad del receptor 5-HT de la CPFventral de suicidas alcohólicos en respuesta a la baja transmisión de serotonina, observaron que el receptor no mitiga el impacto que ocasiona la baja concentración de serotonina en la transducción de señales y que por lo tanto esta falla puede estar relacionada directamente con el suicidio. Además, encuentran que la unión al transportador de serotonina es baja en suicidas alcohólicos, pero no en alcohólicos no suicidas. (Underwood, Mann y Arango, 2004).

Asimismo, se han detectado cambios en la densidad de células gliales de suicidas alcohólicos. Las células gliales son un grupo heterogéneo celular que se encuentran en el NS, tienen funciones indispensables relacionadas con el neurodesarrollo y con el funcionamiento del SN como la supervivencia, formación sináptica, mielinización, homeostasis de la regulación de neurotransmisores y concentraciones del ion potasio. Se pueden encontrar diferentes tipos de células gliales, astrocitos (la más abundante), oligodendrocitos, células endoteliales, células de Schwann y la microglía.

Las alteraciones en la población de células gliales incrementan en un 38% en el A24B en suicidas alcohólicos en comparación con suicidas no dependientes. Los autores mencionan que estos cambios pueden estar mayormente ligados al consumo de alcohol debido a que también analizaron las poblaciones de astrocitos provenientes de sujetos que murieron por suicidio y que tenían TDM y no encontraron alguna diferencia (Hercher *et al.*, 2009).

Es evidente que son pocos los estudios que intenta relacionar a nivel neubiológico el consumo de alcohol con el suicidio consumado. Además, de los estudios mencionados no se encontró alguno con enfoque en el proteoma. Al ser un campo poco investigado, el presente trabajo analiza la comorbilidad del uso de alcohol con el suicidio a nivel bilógico, debido a que el estudio de este podría proporcionar información para identificar el riesgo que hay en las personas propensas al suicidio cuando consumen bebidas alcohólicas.

III. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen diferencias en el perfil de proteínas de la corteza prefrontal dorsolateral de suicidas que presentan toxicología positiva al alcohol en el momento de la muerte en comparación con personas que murieron por causas diferentes al suicidio y personas que murieron por suicidio y presentaban toxicología negativa al alcohol

IV. HIPÓTESIS

Los casos de suicidio consumado que presentan toxicología positiva al alcohol en el momento de la muerte presentarán diferencias en el proteoma de la corteza prefrontal dorsolateral al compararlos con los suicidas que no presentaron intoxicación con alcohol al momento de morir.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Analizar diferencias en la expresión del perfil proteómico de la corteza prefrontal dorsolateral del cerebro de suicidas con toxicología positiva al alcohol en comparación con controles y casos de suicidio con toxicología negativa.

5.2. Objetivos particulares

- Proponer posibles biomarcadores
- Identificar vías de señalización y metabólicas que estén alteradas en los casos de suicidio con toxicología positiva al alcohol

VI. JUSTIFICACIÓN

El estudio del suicidio es de suma importancia debido a que es un problema de salud pública a nivel mundial. El suicidio no es una muerte común, a pesar de ser un fenómeno que ha estado presente a lo largo de la historia humana, y tiene gran impacto social porque este tipo de muerte deja secuelas como el sufrimiento en los familiares y amigos. Lo que conlleva al aumento del riesgo de sufrir trastornos de ansiedad y depresión, por parte de las personas afectadas. Los individuos que sufren la muerte tienden a generar la estigmatización del fenómeno, y desarrollan sentimientos de culpa, muy pocos deseos de hablar sobre la muerte y fuertes cuestionamientos en relación con lo que se pudo o se debió hacer (Garciandía, 2013). En resumen, los efectos de la muerte por suicidio a nivel social pueden derivar en el desarrollo de sentimientos de culpa y malestar, incluso la manifestación de algún trastorno psiquiátrico que ponga en riesgo la estabilidad física y emocional de las personas afectadas.

Borges y colaboradores (2010) mencionan que la tasa de suicidio ha aumentado en México y sugieren se necesita trabajar mucho para mejorar la atención clínica que se ofrece a personas que tienen conductas suicidas. Además, mencionan que es necesario el control de sustancias, como el alcohol. El alcohol puede incrementar el riesgo a desarrollar conducta suicida en personas alcohólicas y no alcohólicas. Los casos de suicidio con intoxicación por alcohol son de aproximadamente el 50%. Asimismo, el abuso de alcohol se ha utilizado como predictor de la suicidalidad (Wilcox, 2004). El intento suicida en individuos con abuso de alcohol es más habitual en países en desarrollo como México. Por su parte, un estudio ha revelado que personas que tienen un trastorno relacionado al alcohol e intentan suicidarse en su mayoría son hombres (Vijayakumara, Kumar y Vijayakumara, 2011). Los intentos suicidas impulsivos son más comunes en pacientes con abuso de alcohol, dado que el estar intoxicado por etanol puede precipitar los comportamientos suicidas mediante la inducción de conductas negativas y la baja habilidad para resolver problemas (Brady, 2006). El alcohol afecta principalmente la ideación suicida e intentos no planeados, por lo que la intoxicación por alcohol tiene más influencia en la suicidalidad que el abuso crónico (Borges, Walters y Kessler, 2000).

No se cuenta con modelos animales establecidos para el estudio del suicidio. Por esta razón los investigadores se han enfocado en los análisis *post mortem* del tejido cerebral de humanos. La mayoría de las investigaciones realizadas en tejido de cerebro son análisis de la expresión génica; sin embargo, los estudios en proteínas son escasos. La ventaja de utilizar técnicas de proteómica es propician información de las proteínas que los análisis genómicos no pueden ofrecer, como el caso de las MPT e isoformas derivadas del *splicing*. Otra virtud de estos análisis de proteínas es que a partir de la muestra se puede analizar gran cantidad de proteínas (hasta más de mil) de manera simultánea. Asimismo, los estudios *post mortem* del proteoma en el cerebro humano es que reflejan los cambios patológicos que sufren las proteínas mientras el individuo se encontraba con vida (Robinson *et al.*, 2009). Por otro lado, esta técnica tiene relevancia clínica porque se utiliza para identificar posibles biomarcadores del padecimiento de interés (Tambor *et al.*, 2010).

El presente trabajo intenta demostrar la relación biológica entre el consumo de alcohol y el suicidio porque, como ya se mencionó, la intoxicación por alcohol es considerado un factor de riesgo proximal y por lo tanto puede propiciar el desarrollo de las conductas suicidas. Asimismo, hay recordar que los factores de riesgo proximales producen alteraciones biológicas en personas que tienen conducta suicida. No obstante, son pocos los análisis moleculares que intentan explicar la relación neurobiológica entre el consumo de alcohol y el suicidio consumado, por lo tanto, las alteraciones biológicas en torno a esta comorbilidad no son del todo conocidas. Dado lo anterior, es necesario obtener más información sobre los mecanismos biológicos alterados por el alcohol en el comportamiento suicida.

El presente trabajo analiza el perfil proteómico de la CPFDL de individuos que consumaron el suicidio y pretende encontrar las proteínas diferencialmente expresadas al comparar con un grupo control (CTR) y un grupo de suicidio con toxicología positiva al alcohol (SuiTOX+) y las diferencias al comparar un grupo de suicidio con toxicología negativa al alcohol (SuiTOX-) vs SuiTOX+. Las proteínas identificadas pueden ser utilizadas para proponer nuevos biomarcadores implicados en el desarrollo de la suicidalidad.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Muestra

La muestra fue obtenida y caracterizada gracias al trabajo de siete personas entre la que se encuentran psicólogos biólogos, médicos psiquiatras y médicos patólogos.

7.1.1. Obtención de la muestra

El muestreo no fue aleatorio y se realizó a conveniencia. Las muestras utilizadas se obtuvieron a través del instituto de Ciencias Forenses (INCIFO). La disección del A9B se realizó con base en mapas neuroanatómicos. Se utilizaron como referencias neuroanatómicas la segunda circunvolución prefrontal y el giro precentral, y se extrajeron 5 cm³ de tejido cerebral. Los cortes fueron almacenados y congelados a -80 ° C.

7.1.2. Caracterización de la muestra

La información sociodemográfica y clínica de los individuos, así como un probable padecimiento psiquiátrico se encuentra documentado en los expedientes médicos legales forenses. Estos contienen la declaración de la policía auxiliar, de testigos y familiares. También, se incluyen los dictámenes de los peritos, de los criminalistas de campo, del fotógrafo, de balística, del departamento de genética, del departamento de toxicología y del departamento de patología. Finalmente, estos expedientes también se conforman del acta médica realizada por el médico legista, el protocolo de necropsia, el certificado de defunción y las historias médicas hospitalarias en el caso de que el individuo haya sido atendido a consecuencia del acto suicida.

7.1.3. Criterios de inclusión y exclusión

En la Tabla 6 se resumen los criterios que se tomaron en cuenta para el presente trabajo.

Tabla 6. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión y exclusión			
Variable	Grupo suicidio tox+	Grupo suicidio tox-	Grupo control
Causa de muerte		Suicidio	Diferente a suicidio
Examen Toxicológico	Sólo positivo a EtHO	Negativo a cualquier sustancia	
ITM		No más de 48hrs	
Sexo		Indistinto	
Edad		15 a 45 años	
Ciudad de origen		Ciudad de México	

ITM: intervalo de toma de muestra.

7.1.4. Muestra utilizada

Se utilizó el tejido proveniente de la corteza prefrontal dorsolateral, específicamente el A9B, de individuos que consumaron el suicidio con toxicología negativa y positiva al alcohol como casos y se obtuvo el tejido de personas que murieron por otras causas como controles. El ensayo se realizó con 13 muestras (Tabla 7), cinco controles y ocho casos de suicidio, de los cuales cinco tienen toxicología positiva al alcohol y tres con toxicología negativa al alcohol.

Tabla 7. Listado de muestras utilizadas

Casos de suicidio (SUI)				
No.	Sexo	Edad	Toxicología al etanol	Probable trastorno padecido de acuerdo con el DSM-5
1	F	29	Negativo	F32.9 Episodio Depresivo sin especificación
2	M	16	Negativo	Consumo de alcohol leve 305.00/ Consumo de tabaco leve 305.1
3	M	35	Negativo	Depresión mayor grave, episodio único 296.23.
4	M	45	Positivo 272mg/100ml	Depresión mayor grave, episodio único 296.23.
5	M	31	Positivo 388mg/100ml	Depresión mayor 296.23/ Consumo de cocaína
6	M	29	Positivo 256mg/100ml	Consumo de alcohol grave 303.9
7	M	39	Positivo 390mg/100ml	Depresión mayor grave, episodio único 296.23. Consumo de alcohol leve 305.00. Consumo de tabaco leve 305.1
8	M	26	Positivo 100mg/100ml	Depresión mayor sin especificación 296.20. Consumo de alcohol leve 305.00
Controles (CTR)				
No.	M	Edad	Toxicología al etanol	Probable trastorno padecido de acuerdo con el DSM-5
9	M	24	Negativo	Consumo de alcohol Consumo de tabaco
10	M	28	Negativo	Trastorno por consumo de tabaco, trastorno por consumo de alcohol, trastorno por consumo de cannabis
11	M	30	Negativo	Ninguno
12	M	33	Negativo	No se integra
13	M	26	Negativo	Sin info. suficiente.

Se muestra el sexo, la edad, y el resultado del análisis toxicológico al momento de la autopsia. Asimismo, se presenta el resultado de la autopsia psicológica del probable trastorno que pusieron padecer de acuerdo con el DSM-5.

7.1.5. Consideraciones éticas

Las muestras utilizadas para el presente estudio fueron aprobadas por el comité de bioética de investigación del Instituto Nacional de Medicina Genómica con el no. de dictamen: CEI 2016/33

7.2. TÉCNICAS

7.2.1. Extracción de la proteína de cerebro

Para obtener las proteínas del tejido cerebral se utilizó el amortiguador DIGE (Urea 8M, Tiourea 7 M, Tris/HCl 50 mM, CHAPS 4 % pH 8.0) en proporción de 1/3 (peso (g)/volumen(mL)); después de agregar el amortiguador a la muestra se homogeneizó con ayuda de un pistilo de teflón y se sonicó con amplitud de 60 Hz durante 15 segundos en intervalos de un minuto, con la finalidad de deshacer la mayor parte del tejido. Todo el proceso mencionado fue realizado en frío para evitar la degradación de la proteína. Ya sonicada la muestra, se centrifugó durante 15 minutos a 12000 rpm a 4°C para quitar los residuos celulares. Al terminar la centrifugación, se tomaron 300 µL de muestra y a esta alícuota se le agregaron 900 µL de metanol y 300 µL de diclorometano para centrifugar la muestra posteriormente a 15000 rpm durante 15 min (este paso es con la finalidad de eliminar principalmente los lípidos que hay en la muestra). Al terminar se desechó el sobrenadante. A la interfase (capa de proteínas) se le añadieron 900 µl de metanol y se mezcló en el agitador, esto para entonces centrifugar a la misma velocidad y al mismo tiempo del paso anterior. Cuando la centrifugación terminó se desechó el sobrenadante y se dejó secar el sedimento al vacío, una vez seco se resuspendió en el amortiguador TRIS/HCl 50 mM pH 7.4 o DIGE hasta que el sedimento se solubilizó completamente.

7.2.2. Cuantificación de la proteína de extractos de cerebro

Para determinar la cantidad de proteína que contiene cada muestra, se realizó la cuantificación mediante el método de Lowry, modificado por Peterson (1977). En esta técnica se obtiene la curva patrón a partir de BSA y se utilizan concentraciones de 10 a 100 µg, los valores de la curva están dados por la absorbancia del complejo colorido el cual se lee en el espectrofotómetro a 750 nm. El cálculo para la cuantificación está dado por la utilización de los valores de la ecuación de la recta de la relación entre la absorbancia y la cantidad de BSA estándar agregada en cada punto de la curva. Se calcula la concentración

de proteína con base en los miligramos obtenidos del cálculo anterior divididos entre los mililitros del extracto de proteínas obtenidos.

7.2.3. Gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes para verificar la integridad de las proteínas del extracto de cerebro

Con la finalidad de observar la integridad de la proteína por cada muestra, se realizó la electroforesis en condiciones desnaturizantes en gel de poliacrilamida al 12 % (BIO-Rad TGX stain-free™ acrylamide kit) se carga 20 µg de proteína en cada uno de los pozos junto con el amortiguador de carga (glicerol 7.5%, TRIS 5 M, SDS 10 %, β-mercaptoetanol 5%, y azul de bromofenol 0.002%). Para ayudar en la identificación se colocó el marcador de peso molecular Kaleidoscope de BIO-Rad. La electroforesis se inició en 30 V hasta que el frente de corrida pasara del gel concentrador al gel separador, ya en el gel separador se aumentó el voltaje 15 V cada 15 min hasta alcanzar 150 V, todo se realizó bajo condiciones desnaturizantes con amortiguador de corrida Tris-Glicina-SDS 1x. Al finalizar el procedimiento se tiñó el gel con azul de coomassie R-350 (phastGel™ Blue R, de GE Healthcare) en solución al 0.01 % mezclada con metanol, ácido acético y agua destilada en porción 3:1:6 respectivamente.

7.2.4. Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS en doble dimensión

Los geles en dos dimensiones se utilizan para separar las mezclas de proteínas con base en dos propiedades fisicoquímicas, en este caso son el punto isoelectrico y masa molecular. De esta manera se pueden estudiar con más detalle las proteínas que se encuentran en la muestra. Primero se realizó el isoelectroenfoco y posteriormente la electroforesis en condiciones desnaturizantes (con detergente SDS) para separar las proteínas en gel de poliacrilamida. Para observar las proteínas se tiñe el gel con *Coomassie-blue* y *Sypro-Ruby* de *ThermoFisher scientific*. El procedimiento desde el isoelectroenfoco (IEF) hasta la electroforesis en condiciones desnaturizantes se describe en las siguientes secciones.

7.2.4.1. Isoelectroenfoque

El primer proceso consiste en separar las proteínas a partir de la carga eléctrica de las moléculas, estas se detendrán hasta que las proteínas alcancen el pH equivalente a su punto isoeléctrico. Se utilizaron 100 µg de proteína por cada muestra y se realizó el isoelectroenfoque en un total de 15 tiras con gradientes de inmovilización de pH. Se utilizaron las *Immobiline DryStrips* de 7 cm y rango de pH de 4-7 y se corrieron en el sistema Ettan IPGphor 3 de *GE healthcare*. En este procedimiento las proteínas se separan por su punto isoeléctrico.

Se procedió a rehidratar las tiras en 125 µL de solución de rehidratación (Urea 8 M, CHAPS 4 %, amortiguador IPG 2% (Amersham Biosciences) y ditiotreitól 40 mM y 100 µg de proteína) durante 10 hrs a temperatura ambiente, y previamente se les administró aceite mineral para evitar la evaporación del amortiguador. El isoelectroenfoque se realizó en seis pasos, durante 4 hrs, con un voltaje/hora total de 7100, a 20 °C (Tabla 8)

Tabla 8. Condiciones del isoelectroenfoque

Paso	Voltaje (V)	Voltaje/Hora (V/h)
1	100	100
2	300	200
3	1000	300
4	5000	4500
5	5000	2000

Pasos y condiciones utilizadas para la realización el isoelectroenfoque.

7.2.4.2. Electroforesis de segunda dimensión (SDS-PAGE) en condiciones desnaturalizantes

Terminado el isoelectroenfoque se procedió a realizar la electroforesis en segunda dimensión en geles de poliacrilamida de 7 cm, 1 mm de grosor, y 12 % de acrilamida. En este procedimiento las proteínas se separan por el peso molecular. Inicialmente las tiras se equilibraron con dos amortiguadores de equilibrio (TRIS-HCL 50 mM, urea 6 M, Glicerol

30 %, SDS 2 %, azul de bromofenol 0.002 %, en ambos amortiguadores). Las tiras se colocaron en tubos individuales y se añadieron 10 ml del amortiguador de equilibrio I, el cual contiene DTT. Posteriormente se decantó el amortiguador I y se agregó el II el cual contiene la iodoacetamida. Cada paso se realizó durante 15 minutos en agitación constante.

Posteriormente, cada gel fue cargado con la tira de isoelectroenfoque que inicialmente se había cargado con 100 µg de proteína, los cuales fueron corridos a 60 V durante 20 min y después de este intervalo se continuó a 120 V hasta el final de la corrida. Todo se realizó bajo condiciones desnaturalizantes con amortiguador de corrida Tris-Glicina-SDS 1X. Este proceso se realizó por duplicado en algunas muestras.

Finalmente, los geles fueron teñidos con el colorante *Sypro Ruby* de *ThermoFisher scientific* de acuerdo con el protocolo del fabricante. Esta tinción proporciona al gel una tinción fluorescente de alta sensibilidad. Por último, los geles se escanearon en el fotodocumentador Universal Hood III de BIO-Rad, a una longitud de onda de 300 nm.

7.2.5. Análisis de las imágenes en el software PD-Quest

Para realizar el análisis del perfil de proteínas obtenido a partir de la electroforesis en segunda dimensión se utilizó el software llamado PD-Quest versión 8.0.1 de Bio-Rad, el cual permitió comparar la densidad de las manchas que representan las proteínas entre los tres grupos: controles (CTR), suicidio con toxicología negativa (SuiTOX-) y suicidio con toxicología positiva (SuiTOX+). Este software permite elegir ciertos parámetros para la mejor selección de la mancha y así evitar elegir las que hayan sido resultado de errores técnicos, además, proporciona la visión tridimensional de las proteínas. PD-Quest ayuda a obtener el total de manchas obtenidas en cada gel para posteriormente realizar las comparaciones pertinentes que permitan identificar diferencias entre los grupos de imágenes seleccionadas. Finalmente se obtuvo la densidad de cada mancha del gel para así poder realizar los análisis estadísticos pertinentes. Los datos obtenidos fueron normalizados con el mismo software.

El funcionamiento del software se basa en un empalme de las imágenes de los geles en segunda dimensión, e identifica las proteínas que se encuentran presentes en todos los geles y las que éstos tienen en común. Una vez que las proteínas son localizadas, el

software ofrece un valor numérico de la densidad de las manchas que representan a las proteínas, y se utiliza para realizar los diferentes análisis que sean necesarios.

7.2.6. Análisis estadísticos

A partir de los datos obtenidos por el software PD-Quest se realizaron pruebas estadísticas con el software libre Metaboanalyst (<http://www.metaboanalyst.ca>) (versión 4.0, actualizado y mantenido por Xia Lab, Universidad de McGill, Canadá) para calcular la razón de cambio (*fold change*) a partir de las densidades que se obtuvieron con el software PD-Quest, en este caso la razón de cambio fue utilizada para determinar las proteínas diferencialmente expresadas entre las distintas comparaciones. La razón de cambio se obtiene al dividir la densidad de la mancha caso sobre control, al resultado obtenido se le saca el logaritmo base 10.

7.2.6.1. Análisis discriminante de mínimos cuadrados PLS-DA

Con la finalidad de observar la separación entre el grupo CTR, SuiTOX- y SuiTOX+ se realizó un PLS-DA. Este análisis es una herramienta de reducción de dimensionalidad multivariable, que ha sido recomendada para el análisis de datos «ómicos». Los datos obtenidos en este tipo de análisis se caracterizan por un gran volumen, gran cantidad de funciones, ruido y datos faltantes. Este conjunto de datos también suele tener menos muestras que características. El PLS-DA puede considerarse como una versión supervisada del análisis de componentes principales reduciendo la dimensionalidad, pero con plena consciencia de las etiquetas de clase. También puede utilizarse para la selección de características, así como para la clasificación de las muestras (Ruiz-Pérez y Narasimhan, 2017).

7.2.6.2. Diagrama de volcán

Un diagrama de volcán es un tipo de gráfico de dispersión que se aplica para buscar rápidamente cambios en grandes conjuntos de datos compuestos de datos replicados, como

es el caso del presente estudio. Esta herramienta se utiliza cada vez más en experimentos ómicos como genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica, en los que se suele tener una larga lista de múltiples datos replicados entre dos condiciones distintas y se pretende identificar rápidamente los cambios más significativos. Un diagrama de volcán combina la medida de significación estadística de pruebas estadísticas (por ejemplo, un valor de p de un ANOVA) con la razón de cambio, lo que permite la rápida determinación visual de estos datos que representan cambios de gran magnitud que también son estadísticamente significativos.

En el diagrama de volcán el eje y representa el logaritmo negativo del valor p (generalmente base 10). Esto da como resultado puntos altamente significativos con valores de p bajos que aparecen hacia la parte superior de la gráfica. La razón de cambio o FC entre las dos condiciones se representa en el eje x . El FC se adopta para que los cambios en ambas direcciones se vuelvan equidistantes del centro. De este modo, los puntos de trazado forman dos regiones de interés en el gráfico: los puntos que se encuentran hacia la parte superior del gráfico que se encuentran demasiado a la izquierda o al lado derecho. Estos representan valores que muestran grandes cambios de pliegues de magnitud, así como alta significación estadística.

Con esta herramienta se realizaron dos comparaciones, la primera de CTR vs SuiTOX+ y la segunda entre SuiTOX- vs SuiTOX+. La comparación entre SuiTOX- vs SuiTOX+, donde se utiliza el primer grupo como control. Se realiza para identificar las alteraciones bioquímicas en el cerebro de suicidas con toxicología positiva a alcohol con mayor especificidad.

7.2.7. Identificación por espectrometría de masas de las proteínas diferencialmente expresadas entre los grupos

Con la finalidad de identificar las proteínas diferencialmente expresadas, se realizó la espectrometría de masas. Para ello, las manchas de proteína fueron cortadas manualmente del gel y desteñidos con ACN: NH_4HCO_3 50 mM (50/50 v/v). Posteriormente se llevó a cabo la digestión proteica durante 18 horas a 37 ° C con tripsina grado masas (Promega V528A). Se extrajeron los péptidos obtenidos de la digestión (ACN:H₂O: ácido fórmico

50:45:5 v/v), se disminuyó el volumen de la muestra en un concentrador (Eppendorf 5301) y se desaló la muestra con la columna C18 (ZipTipC18). La muestra se colocó por sextuplicado en la placa y se utilizó como matriz el ácido α -ciano 4 hidroxicinámico, y se analizaron en el MALDI TOF/TOF 4800. Los espectros (MS/MS) obtenidos fueron utilizados para la identificación en base de datos de las proteínas con base en los péptidos obtenidos con el algoritmo de búsqueda Paragon del software ProteinPilot, con el porcentaje de confianza del 66 %.

7.2.8. Análisis de interacción proteína-proteína

Con el software libre STRING versión 10.5, de ELIXIR (consorcio europeo) (<http://string-db.org>), se construyó la vía de interacción proteína-proteína. STRING es una base de datos de interacciones proteína-proteína conocidas y predichas. Las interacciones incluyen asociaciones directas (físicas) e indirectas (funcionales); provienen de la predicción computacional, de la transferencia de conocimiento entre organismos y de las interacciones agregadas de otras bases de datos (primarias). Las fuentes de los datos son derivadas de 5 fuentes principales: predicciones y contexto genómico, experimentos de alto rendimiento, coexpresión conservada, minería de texto automatizada, y conocimiento previo en bases de datos.

Cada interacción proteína-proteína se anota con uno o más «puntuajes». Estas puntuaciones no indican la fuerza o la especificidad de la interacción. En cambio, son indicadores de confianza, es decir, la probabilidad de que STRING juzgue que la interacción es verdadera, dada la evidencia disponible.

VIII. RESULTADOS

8.1. Proteínas totales extraídas de la CPF dorsolateral

En la Tabla 9 se observa la cantidad total de las proteínas extraídas (μg) de algunas muestras representativas. Se obtuvo un total de 3-7 μg , este valor depende de la cantidad de tejido utilizado, pues no se contaba con la misma porción de tejido en todas las muestras iniciales.

Tabla 9. Proteínas totales extraídas de muestras representativas del la CPFDL

Muestra	Promedio ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	Proteína total (μg)
Caso 1	7.988	7,988.39
Caso 3	7.872	7,872.30
Control 1	7.407	7,407.96
Control 2	5.865	5,865.67
Control 4	3.991	3,991.70

8.2. Integridad de las proteínas extraídas de la CPF dorsolateral

La Figura 9 es el resultado de la electroforesis monodimensional de algunas muestras representativas, en la que se puede apreciar un bandeo que representa las proteínas que se encontraban en la CPF dorsolateral de las muestras. No obstante, el patrón de bandeo obtenido en esta separación no es específico y las bandas representan grupos de proteínas que tienen masa molecular similar.

El patrón de bandeo observado por la tinción con azul de coomassie, nos indica la integridad de las proteínas, esto quiere decir que nos permite observar si la muestra se encuentra en condiciones óptimas, o bien se ha empezado a degradar. En caso de que la muestra se encontrase degradada no se podría notar las bandas en los carriles y se contemplaría una mancha a lo largo del carril donde se corrió la muestra. En este caso, las proteínas se encuentran en condiciones óptimas para su procesamiento y para realizar los análisis pertinentes para el presente estudio.

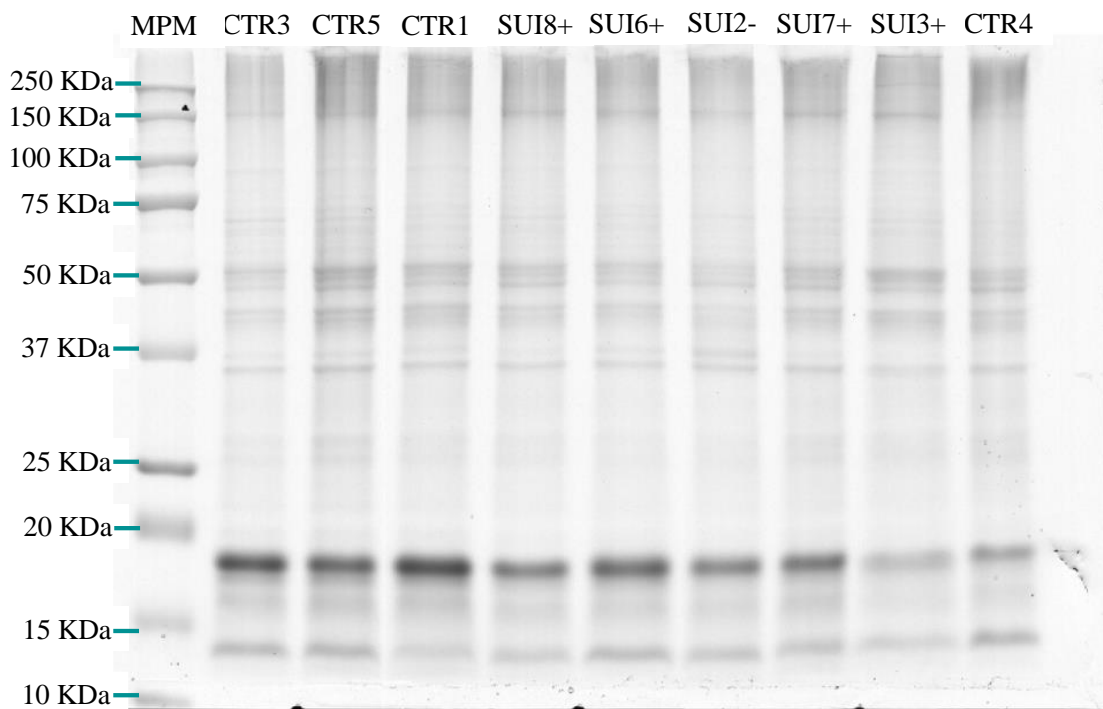


Figura 9. SDS PAGE representativo de extracto proteico de la CPFDL. Gel de poliacrilamida al 12%. El marcador de masa molecular (*Kaleidoscope* de *BIO-Rad*) se encuentra en el primer carril. En los siguientes carriles se encuentran 20 μ g la proteína de la CPF dorsolateral de controles (CTR3, CTR5, CTR1 y CTR4), casos de suicidio con toxicología positiva (SUI8+,SUI9+,SUI7+ y SUI3+), y casos con toxicología negativa (SUI2-).

8.3. Perfil de proteínas obtenido por la electroforesis en segunda dimensión

Como resultado de la electroforesis en segunda dimensión se obtienen las imágenes mostradas en la Figura 10, estas son geles representativos de los grupos: CTR, SuiTOX-, y SuiTOX+. Todas las imágenes obtenidas de la electroforesis de las proteínas de la CPF dorsolateral se encuentran recopiladas en el Apéndice.

Aunque la separación de las proteínas por la electroforesis bidimensional es más específica que la electroforesis monodimensional puede que las manchas representen una o más proteínas, debido a que pueden tener un punto isoeléctrico y masa molecular similares.

Las proteínas se pueden observar gracias a la tinción con SyproRuby, esta tinción puede identificar 1-2 ng de proteína, esto quiere decir que este tipo de tinción es de alta sensibilidad. Además, las imágenes que se presentan en la Figura 10 y el Apéndice presentan un perfil proteómico muy similar entre sí.

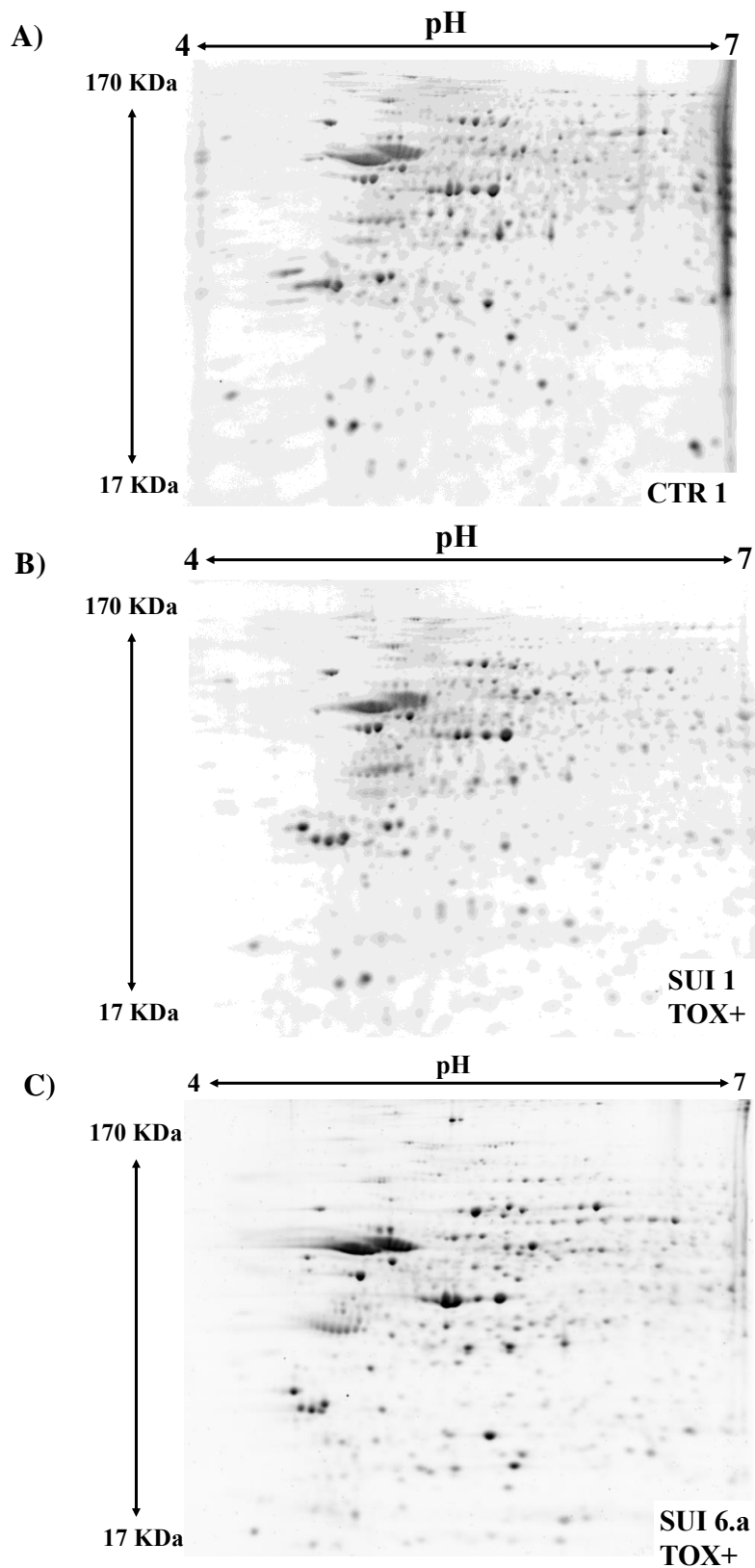


Figura 10. Geles representativos de electroforesis bidimensional de proteínas de la CPF dorsolateral. Geles de poliacrilamida cargados con 100 μ g de proteína. Se muestran las proteínas en un rango de pH 4-7. A) Perfil de proteínas de controles (CTR). B) Perfil de proteínas de suicidio con toxicología positiva (SUI TOX+). C) Perfil de proteínas de casos de suicidio con toxicología negativa (SUI TOX-).

8.4. Proteínas identificadas en el software PD-Quest

Con ayuda del software PD-Quest se identificó un total de 120 proteínas, de las cuales únicamente 94 se encontraban presentes en los geles de los CTR, SuiTOX- y SuiTOX+. De esas 94 proteínas se obtuvo un valor que representa la densidad en pixeles de las proteínas y esos datos se utilizaron para realizar los análisis estadísticos.

8.5. Análisis estadísticos

Con la finalidad de observar la correlación entre los grupos, se realizó un PLS-DA en Metaboanalyst. La Figura 11 contiene la gráfica que se realizó con los datos de la densidad de pixeles obtenidos por el software PD-Quest. Cada punto de la gráfica representa una imagen de los geles que se obtuvieron a partir de la electroforesis bidimensional. Cada color representa a los grupos, el rojo el CTR, el verde SuiTOX-, y el azul SuiTOX+.

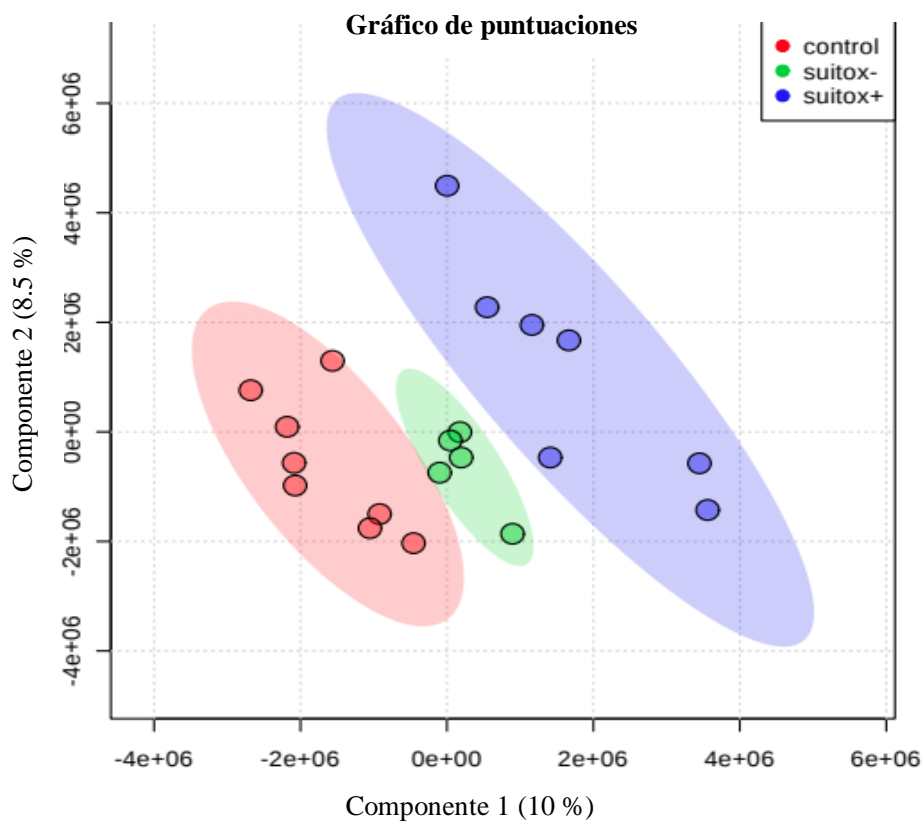


Figura 11. Gráfico del análisis discriminante de mínimos cuadrados (PLS-DA). Se muestra la correlación entre las muestras utilizadas.

Este gráfico de puntuaciones indica la separación que hay entre los tres grupos analizados, con base en el valor de la densidad de píxeles de las proteínas de cada imagen. Se aprecia que no hay gran separación entre grupos, principalmente entre el grupo CTR y el de SuiTOX-, sin embargo, hay mayor separación entre el grupo CTR y el de SuiTOX+. Lo anterior puede indicar que no se encontrarán demasiadas diferencias al realizar comparaciones con el grupo de SuiTOX- con los otros grupos. Finalmente, este análisis sugiere que posiblemente hay un mayor número de proteínas diferencialmente expresadas en la CPF dorsolateral de los individuos que consumaron el suicidio y consumieron alcohol al momento del suicidio.

El diagrama del volcán (Figura 12) representa la densidad de píxeles de las 94 proteínas identificadas con el software PD-Quest y se elaboró con el software Metaboanalyst, el cual ilustra 11 proteínas (Tabla 10) significativamente diferentes en su expresión. El $-\log_{10}$ (valor de P corregido por Benjamini-Hochberg) se representa frente al \log_2 (razón de cambio: CTR / SuiTOX+). Las líneas verticales no axiales denotan un cambio de ± 1.5 veces, mientras que la línea horizontal no axial denota $p = 0.05$, que es el umbral de significación (antes de la transformación logarítmica). El diagrama de volcán indica que, de las 11 proteínas expresadas diferencialmente, 10 tienen baja expresión y una incrementa su expresión.

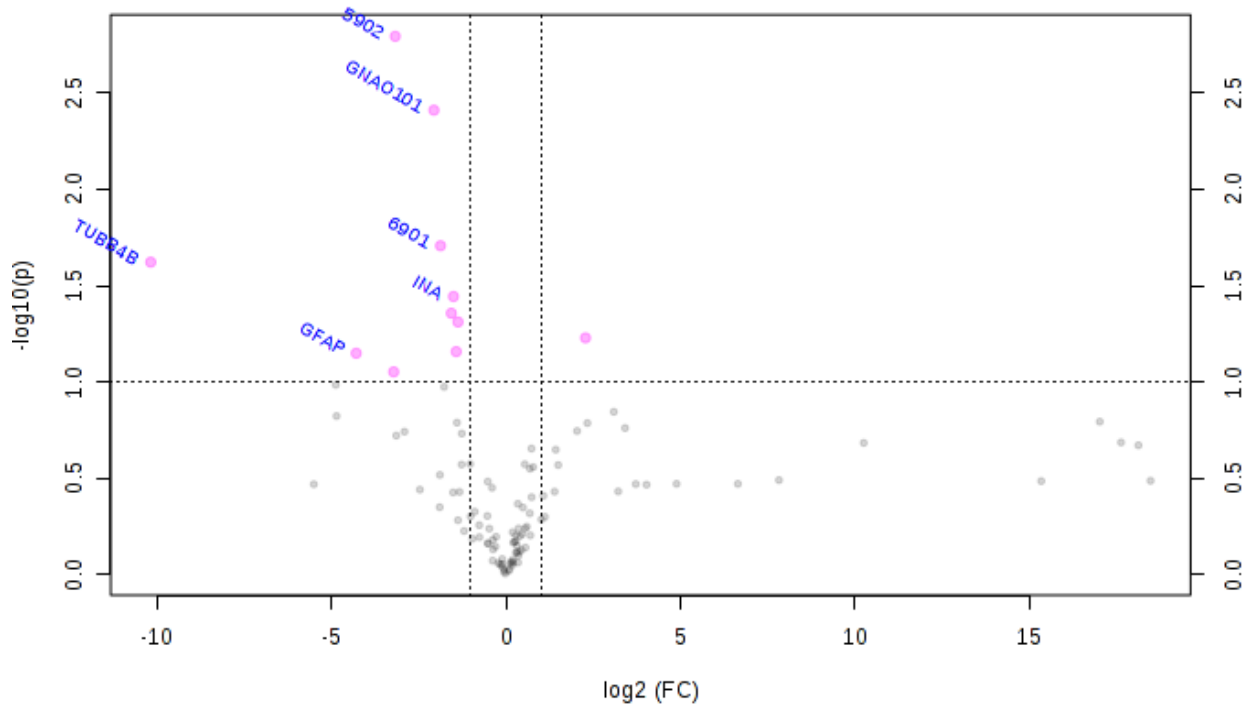


Figura 12. Diagramas de volcán de CTR vs SuiTOX+. Diagrama de volcán que muestra el $-\log_{10}$ de los valores p (eje y) representados frente al \log_2 de la razón de cambio de cada una de las proteínas (eje x). Las proteínas diferencialmente expresadas ($p < 0.05$) se representan en rosado. Entre las proteínas diferencialmente expresadas se encuentran INA, TUBB4B, GFAP y GNAO1.

Tabla 10. Proteínas diferencialmente expresadas entre CTR vs SuiTOX+

Proteína	FC	Log2 (FC)	Valor de p	$-\log_{10}(p)$
5902	0.11104	-3.1709	0.0016069	2.794
GNAO1	0.023932	-2.063	0.0038858	2.4105
6901	0.27283	-1.874	0.019649	1.7067
TUBB4B	0.00086485	-10.175	0.023901	1.6216
INA	0.33278	-1.5032	0.03604	1.4432
FABP3	0.33802	-1.5648	0.044032	1.3562
OSBPLA1	0.38594	-1.3735	0.04887	1.311
OXCT1	4.8543	2.2793	0.059104	1.2284
5901	0.3726	-1.4242	0.069653	1.1571
GFAP	0.051136	-4.2895	0.071019	1.1486
GFAP	0.10766	-3.2154	0.088724	1.052

FC: *fold change*, Log2 (FC): logaritmo base 2 del *fold change*, $-\log_{10}(p)$: menos logaritmo base 10 del valor de p .

Se elaboró un segundo diagrama de volcán (Figura 13) con los mismos datos que en el anterior y también se realizó con el software Metaboanalyst, donde se muestran 13 proteínas (Tabla 11) significativamente diferentes en expresión. El $-\log_{10}$ (valor de P corregido por Benjamini-Hochberg) se representa frente al \log_2 (razón de cambio: SuiTOX- / SuiTOX+). El diagrama de volcán indica que 10 proteínas disminuyen en su expresión al comparar entre SuiTOX- vs SuiTOX+ y que tres incrementan su expresión.

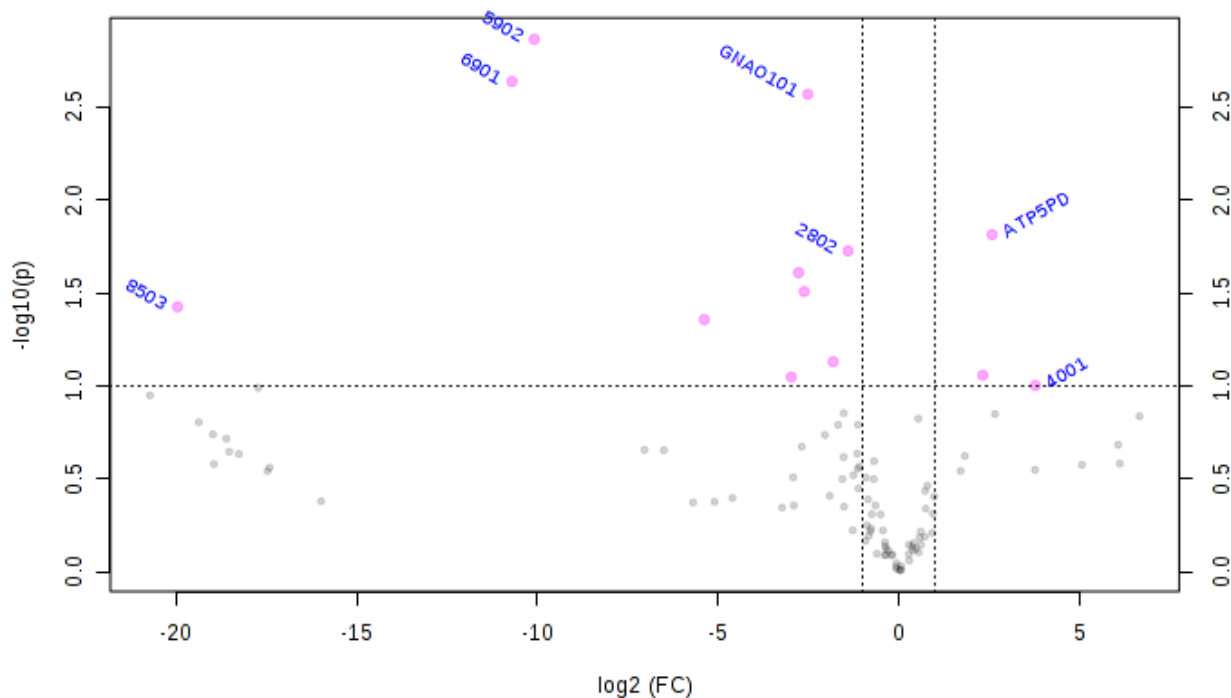


Figura 13. Diagramas de volcán de SuiTOX- vs SuiTOX+. Diagrama de volcán que muestra el $-\log_{10}$ de los valores p (eje y) representados frente al \log_2 de la razón de cambio de cada una de las proteínas (eje x). Las proteínas diferencialmente expresadas ($p < 0.05$) se representan en rosado. Entre las proteínas diferencialmente expresadas se encuentran GNAO1, ATP5PD, y DYSL2.

Tabla 11. Proteínas diferencialmente expresadas entre SuiTOX- vs SuiTOX+

Proteínas	FC	Log2 (FC)	Valor de <i>p</i>	<i>-log10(p)</i>
5902	0.0009157	-10.093	0.0013634	2.86537671
6901	0.00059796	-10.708	0.0023012	2.63804563
GNAO1	0.17472	-2.5168	0.0026953	2.56939289
ATP5PD	5.9976	2.5844	0.015346	1.81400481
2802	0.37813	-1.403	0.018769	1.72655887
GDA	0.1461	-2.7749	0.024583	1.60936512
ATP5F1B	0.16289	-2.6181	0.031046	1.50799435
8503	9.77E-07	-19.965	0.037507	1.42588767
DPYSL2	0.023966	-5.3829	0.043929	1.35724868
OSBPL1A	0.28404	-1.8158	0.074092	1.13022868
206	5.0129	2.3256	0.087538	1.05780338
401	0.12716	-2.9753	0.089509	1.04813329
4001	13.756	3.782	0.099467	1.00232098

FC: *fold change*, Log2 (FC): logaritmo base 2 del *fold change*, *-log10(p)*: menos logaritmo base 10 del valor de *p*.

8.6. Identidad de las proteínas identificadas por espectrometría de masas

A partir de los análisis estadísticos se obtuvieron 24 proteínas (Figura 14) diferencialmente expresadas, las cuales se identificaron por espectrometría de masas. De esas 24 proteínas se obtuvo la identidad de 22, de las cuales 11 son proteínas diferentes (Tabla 12).

Para determinar la identidad de las proteínas se eligieron aquellas que tuvieran el mayor porcentaje de cobertura, esto es el porcentaje de aminoácidos coincidentes de péptidos identificados que tienen una confianza mayor que 0 dividido por el número total de aminoácidos en la secuencia. También, se tomó en cuenta el menor valor del *unused*, esto es la medida de la confianza para una proteína detectada, calculada a partir de la confianza del péptido para los péptidos de espectros que aún no se han "utilizado" por completo por las proteínas de puntuación más alta.

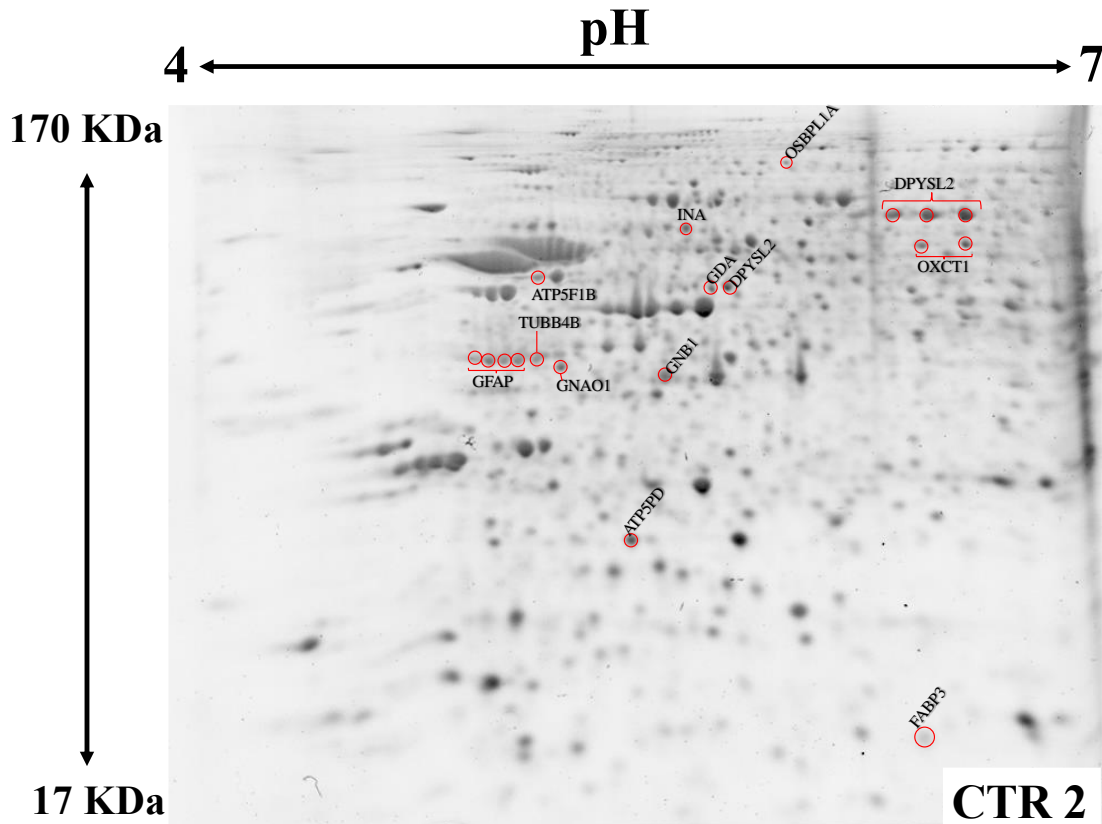


Figura 14. Imagen representativa con proteínas seleccionadas para identificar por espectrometría de masas. Se muestra el resultado de la electroforesis bidimensional con las proteínas seleccionadas para su identificación encerradas en un círculo rojo junto con la etiqueta de su identidad.

La dihidropirimidinasa (DYSLD2) y GFAP, se identificaron en más de una mancha, lo cual indica que probablemente se trate de isoformas de estas proteínas.

Por otro lado, hay proteínas que no se pudieron identificar y esto es debido a que la tinción inicial se realiza con Sypro Ruby, esta tinción es de alta sensibilidad, esto quiere decir que puede detectar desde 1-2 ng de proteína; al momento de realizar la identificación por espectrometría de masas se destiñe el gel y se vuelve a teñir con Azul de Coomassie, el cual es visible a partir de 30 ng en adelante.

Tabla 12. Proteínas identificadas por espectrometría de masas

#	Código de acceso	Gen	Proteína	%Cov	Unused
1	A0A024R231	<i>GDA</i>	Desaminasa de guanina, isoforma	33	19.98
2	A0A024R040	<i>OXCT1</i>	Succinil-CoA:3-cetoácido-coenzima A transferasa	38.8	18.55
3	O75947	<i>ATP5PD</i>	ATP sintetasa subunidad d, mitocondrial	64	12.31
4	V9HW31	<i>ATP5F1B</i>	ATP sintetasa subunidad beta	64.3	37.36
5	Q59GB4	<i>DPYSL2</i>	Proteína 2 relacionada con la dihidroprimidinas (Fragmento)	62.7	39.34
				51.4	31.11
6	P62873	<i>GNAO1</i>	Proteína G quimérica GO2-q	48.9	14.53
7	Q16352	<i>INA</i>	α -internexina	54.3	39.94
8	K7EMP8	<i>GFAP</i>	Proteína ácida fibrilar glial	22.5	10.46
				46.5	18.96
				39.8	22.3
9	Q8IVZ3	<i>OSBPL1A</i>	Proteína OSBPL1A	20	1.3
10	S4R371	<i>FABP3</i>	Proteína de unión a ácidos grasos, corazón (Fragmento)	62.9	14.71
11	Q96HX0	<i>TUBB4B</i>	Tubulina beta- cadena 4B	58.1	18.01

Los espacios en blanco indican una mancha identificada con el nombre de la proteína que le antecede.
 Abreviaciones: % Cov, porcentaje de cobertura.

8.7. Interacciones proteína-proteína

Elaboró una red de interacción proteína-proteína mediante el software de STRING (Figura 15), donde se pueden observar las posibles interacciones proteína-proteína en la vía construida. La vía se elaboró solamente con la lista de proteínas identificadas. No obstante, no es clara la relación biológica de estas proteínas puesto que no todas están conectadas en la red. Se aprecia que GFAP, INA, DPYSL2, y GDA interactúan de manera directa o indirecta entre sí. El siguiente grupo de proteínas que aparenta tener interacciones es el de TUBB4B, ATP5B y ATP5D. Por otro lado, GNAO1, OXCT1, OSBPL1A y FABP3 no interactúan con las demás proteínas.

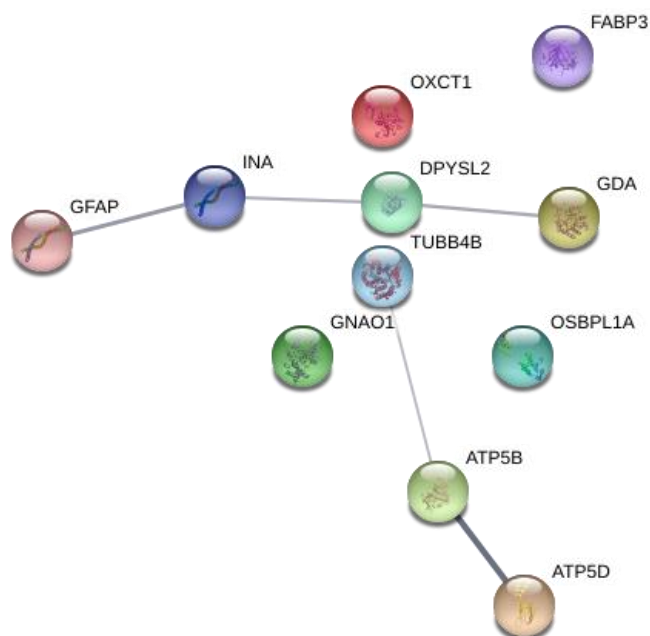


Figura 15. Red de interacción proteína-proteína. Cada nodo representa una proteína, la línea representa la interacción entre proteínas, y el grosor de la línea la fuerza de los datos que soportan la interacción.

La relación de las proteínas no es clara, el análisis de enriquecimiento tiene valor de $p=0.00319$, lo que quiere decir que al menos se encuentran relacionadas biológicamente como grupo y que las proteínas tienen diversas interacciones entre ellas mismas. Asimismo, las proteínas seleccionadas tienen función en la síntesis de ATP, en la organización de filamentos intermedios en el citoesqueleto, y en el metabolismo de moléculas pequeñas (Figura 16).

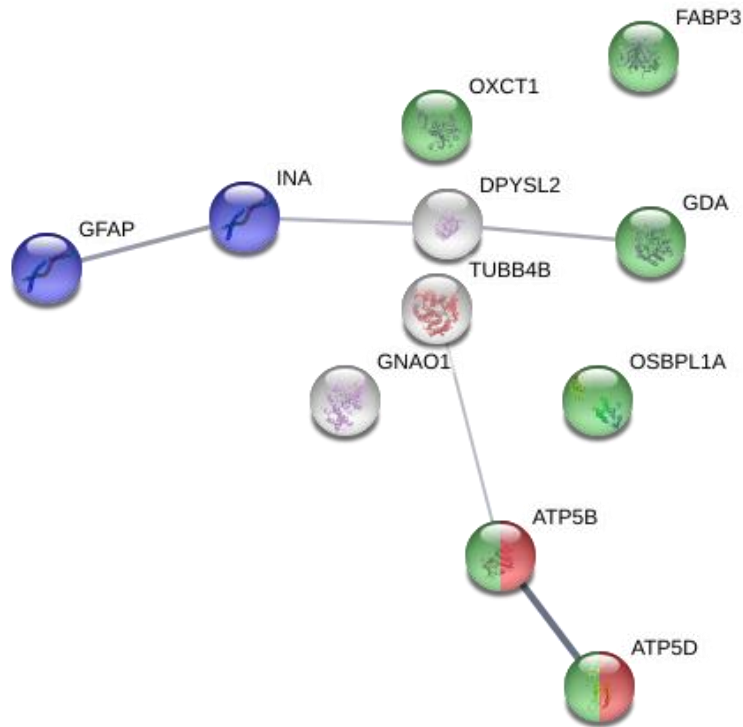


Figura 16. Procesos biológicos relacionados con el grupo de proteínas. Cada nodo representa una proteína, la línea interacción entre proteínas, y el grosor de la línea la fuerza de los datos que soportan la interacción. Los nodos rojos representan proteínas involucradas en la síntesis de ATP acoplado a transporte de protones. Los nodos azules representan proteínas involucradas en la organización de filamentos intermedios en el citoesqueleto. Los nodos en verde representan proteínas relacionadas al metabolismo de moléculas pequeñas.

La función molecular que presenta la mayoría de las proteínas es la actividad de hidrolasa, mientras que tres fungen en la organización estructural del citoesqueleto, dos en el transporte de lípidos y dos en la síntesis de ATP mediante el transporte de protones por el mecanismo rotacional (Figura 17).

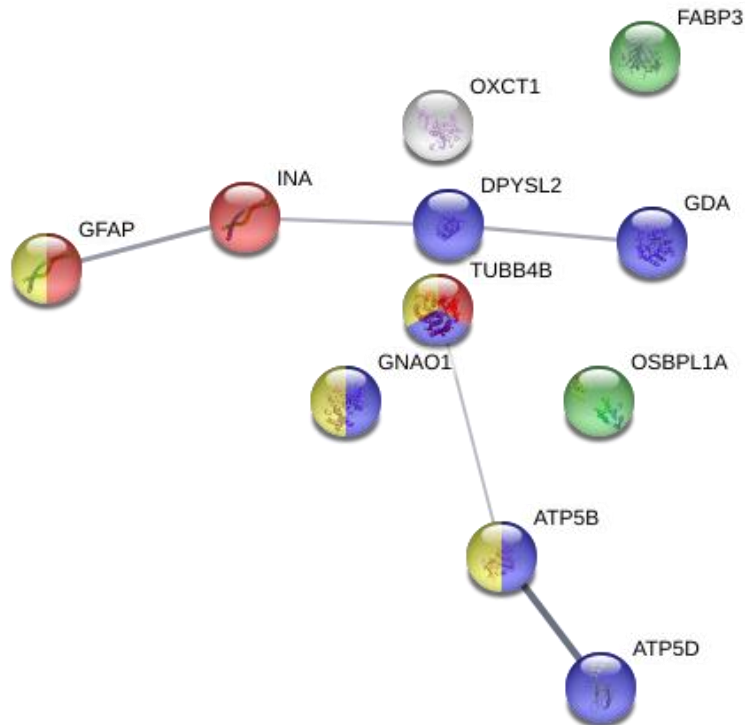


Figura 17. Funciones moleculares del grupo de proteínas. Cada nodo representa una proteína, la línea interacción entre proteínas, y el grosor de la línea la fuerza de los datos que soportan la interacción. Los nodos en rojo representan a las proteínas asociadas a componentes estructurales del citoesqueleto. Los nodos en azul representan proteínas con actividad de hidrolasa. Los nodos verdes representan proteínas involucradas en transporte de lípidos. Los nodos amarillos funcionan como enlace a receptores de señalización.

IX. DISCUSIÓN

9.1. Consideraciones de la muestra utilizada

Para la interpretación de los resultados anteriores hay que tener en cuenta que el proteoma del cerebro representa los cambios en la expresión de proteínas que tuvo el cerebro humano mientras estaba vivo, e incluyen los cambios causados por los procesos psicopatológicos que condujeron al suicidio. Sin embargo, tanto los factores *pre* y *post mortem* pueden alterar el tejido e influir en los datos cuantitativos de proteína. Algunos factores *pre mortem* incluyen, estados prolongados de agonía, uso de drogas, infecciones e hipoxia (Kékesi *et al.*, 2012).

Para evitar variaciones en los resultados por la causa de muerte de casos y controles se utilizaron muestras de casos de suicidio de individuos que utilizaron el método de ahorcamiento, la causa de muerte en los controles fue provocada por PAF de tórax. Las proteínas se mantienen estables con respecto a los factores *post mortem* como el intervalo de toma de muestra (ITM), que se refiere al periodo de tiempo desde que se toma la muestra hasta refrigerarla (Crecelius *et al.*, 2008). En este estudio se eligieron muestras que no rebasaran el rango de 24 horas en el ITM. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los cambios en la expresión de proteína pudieron haberse dado antes del suicidio o fueron resultado del trauma por el suicidio, por lo que los estudios *post mortem* de tejido de cerebro enfocados en el suicidio no se exentan de lo anterior. Además, estos cambios pueden haberse sido influenciado por la presencia del estado psicótico, un estado de depresión mayor, o por las alteraciones en las proteínas a través del tiempo (Kékesi *et al.*, 2012). Finalmente, es importante recordar que la diferencia de expresión entre gen y proteína no es lineal, lo que significa que la expresión diferencial del gen en específico no necesariamente conduce a la misma diferencia en la expresión de una proteína (Martins-de-Souza, 2010).

9.2. Implicación de las proteínas identificadas en suicidio y el abuso de alcohol

Los resultados obtenidos a partir del análisis del proteoma del A9B de la CPF dorsolateral demuestra cambios en la expresión de 24 proteínas entre las dos comparaciones realizadas, y únicamente se identificaron 11 que son las que se discuten a continuación. Los datos obtenidos son un reflejo de que el suicidio es multifactorial, puesto que algunas de las proteínas ya han sido vinculadas con anterioridad al suicidio y al alcoholismo, así como a otros trastornos asociados al suicidio como esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión.

Alteraciones en los procesos biológicos en los que se involucran las proteínas identificadas como el metabolismo y síntesis de ATP, se han reportado con anterioridad en otros estudios enfocados al consumo del alcohol, suicidio y algunos otros padecimientos psiquiátricos como TDM y TB (Wu *et al.*, 2016; Semančíková *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2013).

Finalmente, es importante considerar que, aunque se posee el posible diagnóstico psiquiátrico de los individuos, no podemos asegurar que las personas que cometieron suicidio bajo los efectos del etanol eran alcohólicos, por lo que las modificaciones encontradas serán atribuidas a la intoxicación por alcohol y no a un consumo crónico de éste.

9.2.1. Desaminasa de guanina (GDA)

Se encontró baja expresión de GDA al comparar el SuiTOX- vs el SuiTOX+. Esta proteína se encarga de la desaminación irreversible de guanina a xantina. La guanina es una molécula de señalización extracelular y la concentración de esta molécula depende de la GDA. Se ha propuesto que la guanina puede ejercer un papel en los desórdenes de ánimo por los efectos que tiene en la señalización, estos son: inhibición glutamatérgica principalmente en astrocitos, impacto en la memoria y el comportamiento, y efectos trópicos en neuronas (Schmidt *et al.*, 2007).

Es posible que la baja expresión de GDA provoque que los niveles de xantina disminuyan en la CPF dorsolateral, los niveles bajos de xantina en LCR se han vinculado a síntomas de depresión (Ågren, Niklasson y Hällgren, 1983). Por su parte, la guanina está vinculada en la vía de señalización de proteínas-G mediante nucleótidos a base de guanina

como guanosín trifosfato (GTP), guanosín difosfato (GDP) y guanosín monofosfato (GMP), o el nucleósido guanosina (Schmidt *et al.*, 2007); las purinas a base de guanina son importantes en la modulación de neurotransmisores y neuropatologías (Di Liberto *et al.*, 2016). Por ejemplo, la guanosina ha demostrado tener efectos antidepresivos y modular el estrés oxidante al prevenir la alteración de proteínas como la glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, y la catalasa (CAT) en el hipocampo de ratones sometidos a estrés agudo (Bettio *et al.*, 2014).

Los impactos clínicos en los que está implicada esta proteína surgen de la insolubilidad del ácido úrico y su degradación, lo que puede conducir a enfermedades inflamatorias (Akum *et al.*, 2004). Moléculas pequeñas, pueden actuar como inhibidores de GDA y alterar los moduladores de la polimerización de microtúbulos promovidos por cipina (GDA), que afectan el desarrollo y la morfología neuronal (Akum *et al.*, 2004). Al verse alterada la polimerización de microtúbulos por cipina podría incrementar o disminuir el número de dendritas y afectar así la comunicación celular (Fernández *et al.*, 2010).

Perroud y colaboradores (2012) realizaron un estudio de asociación del genoma para determinar factores genéticos relacionados a la ideación suicida en individuos con depresión tratados con nortriptilina y escitalopram. Uno de los marcadores genéticos más significativos que se encontró fue en el polimorfismo de un sólo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés) SNP:rs11143230, localizado 30kb río abajo del gen que codifica a la GDA y se cree puede incrementar el nivel de suicidalidad (8.28×10^{-7}). Los autores, mencionan que la cipina interactúa con la proteína postsináptica de densidad-95 (PSD-95), PSD-95 está implicada en la neurotransmisión y señalización glutamatérgica.

Posiblemente la expresión de GDA se altere por el consumo de alcohol, debido a que se encontró baja expresión en SuiTOX+ en comparación con SuiTOX-. Como ya se mencionó, la interacción de esta proteína con PSD-95 podría poner en riesgo el desarrollo de dendritas y por ello, alterar la señalización glutamatérgica en la corteza prefrontal dorsolateral.

9.2.2. Succinil CoA:3 cetoácido transferasa (OXCT1)

La Succinil CoA:3 cetoácido transferasa (OXCT1) tiene mayor expresión en el SuiTOX+ en comparación con el CTR. OXCT1 se ha documentado alterada en individuos con

alcoholismo, TB y TDM (Alexander-Kaufman¹ *et al.*, 2007; Beasley *et al.*, 2006) pero poco se ha descrito de la posible influencia de esta proteína en desordenes del ánimo. La OXCT1 es la principal fuente de energía derivada de lípidos en el cerebro (Mitchell *et al.*, 1995). Se ha demostrado que las neuronas y las células gliales pueden utilizar acetoacetato como precursor de lípidos y como sustrato para la producción de energía (Lopes-Cardozo *et al.*, 1986). Por esa razón es posible que haya mayor actividad en la CPFDL del SuiTOX+, para mitigar los efectos del alcohol relacionado con el metabolismo energético y compensar la falta de energía.

Asimismo, los cuerpos cetónicos se utilizan para mantener la integridad y estabilidad neuronal y pueden ser utilizados como fuente de energía alternativa (Izumi *et al.*, 1998). En contraste, la actividad de esta proteína disminuye debido a la glutacionilación causada por el estrés oxidante y provoca la disminución en producción de energía en la mitocondria (García *et al.*, 2010), lo que concuerda con la posible desregulación energética anteriormente descrita en cerebro de alcohólicos y suicidas.

9.2.3. Proteína de unión a ácidos grasos, tipo corazón (FABP-H)

Al comparar el CTR vs el SuiTOX+ la proteína FABP tiene baja expresión. Las proteínas de unión a ácidos grasos (FABPs) son importantes en el transporte y acoplamiento de ácidos grasos de cadena larga. Se han identificado tres tipos de FABPs en el cerebro: FABP-H, la de cerebro ((B)-FABP) y la epidermal ((E)-FABP) (Cheon *et al.*, 2003). La disminución de los niveles de FABP-H puede alterar la composición de los lípidos y/o la fluidez de la membrana en las células de cerebro. Asimismo, la reducción de FABP-H podría modificar el metabolismo de ácidos grasos del cerebro, modular la sensibilidad de las moléculas de señalización para unirse a los receptores y reflejar estructuras y funciones sinaptosómicas deterioradas (Cheon *et al.*, 2003) Esto quiere decir que, probablemente el alcohol altera procesos relacionados al transporte de lípidos en la CPFDL de suicidas que consumieron alcohol.

En contraste, el incremento en la expresión FABP-B ha sido asociado a TB, y con un incremento en ansiedad y depresión, estos desordenes han sido relacionados con la deficiencia de omega 3 por la alteración en procesos dopaminérgicos y serotoninérgicos

(Chalon, 2006). El desequilibrio de ω -3 y ω -6 está ligado con la patogénesis de desordenes neurológicos (Chalon, 2006) y se ha demostrado que FABP-H tiene cierta afinidad con el ω -6 (Murphy *et al.*, 2005).

Es posible que la disminución de ácidos grasos polinsaturados junto con el decremento en FABP-H tenga un papel importante en disfunción celular del cerebro, dado que este necesita gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados y FABP-H se une a ellos (Cheon *et al.*, 2003).

9.2.4. Subunidades β y d de la ATPsintetasa

En este estudio se encontró baja expresión de la subunidad β (ATP5F1B) del complejo F1 y la alta expresión de la subunidad d (ATP5PD) del complejo F0 de la ATPsintetasa mitocondrial al comparar el SuiTOX- vs SuiTOX+.

La ATPsintetasa de la membrana mitocondrial, también conocida como complejo V produce ATP a partir de ADP en presencia del gradiente de protones a través de la membrana. En modelos animales se ha demostrado que el consumo de alcohol reduce los niveles de los complejos I-V de la mitocondria y de la carnitina palmitoiltransferasa 1 (cPT1) y 2 (cPT2). Las enzimas cPT1 y cPT2 se especializan en la acilación de ácidos grasos del exterior al interior para producir ATP. Las alteraciones de cPT1 y cPT2 junto con el decremento de la β -oxidación de palmitato y la producción de ATP, sugieren que la incapacidad para introducir el sustrato (función del complejo I) puede causar un impacto negativo en la producción de ATP del complejo V (Haorah *et al.*, 2013).

Estudios realizados en TDM reportaron la incapacidad significativa de producción de ATP, actividades bajas de enzimas mitocondriales y deleciones en el ADN mitocondrial lo cual indica disfunción mitocondrial (Gardner *et al.*, 2003). En TB el estrés oxidante afecta los complejos I-V mitocondriales expresados en bajos niveles (Sun *et al.*, 2006). La cadena transportadora de electrones se encarga de la fosforilación oxidativa y es responsable de la mayoría del consumo de oxígeno en la célula y también de la producción de ERO; la disfunción mitocondrial en TB puede llevar a la sobreproducción de estos compuestos reactivos y derivar en estrés oxidativo (Wang *et al.*, 2009).

Por otro lado, el consumo de alcohol de manera crónica ha demostrado disminuir la actividad de todos los complejos de fosforilación oxidativa, excepto la del complejo II

(Bailey y Cunningham, 1999), lo cual puede provocar la reducción en la producción de ATP (Bailey, 2003). Asimismo, en el cerebro también hay aumento de ERO y óxido nítrico por el metabolismo de alcohol y puede derivar en estrés oxidante y nitrosativo (Haorah *et al.*, 2008). Las alteraciones en las moléculas mitocondriales pueden ser producto del aumento de las ERO y ERN, las cuales incrementan por el consumo de alcohol y disminuyen varios mecanismos antioxidantes en el hígado (Klein y Harmjanz, 1975). Se ha demostrado que las modificaciones postraduccionales como la nitrosilación pueden inhibir la actividad de la ATPsintetasa (Chang *et al.*, 2014). Es probable que las mismas alteraciones en las mitocondrias del hígado se den de igual forma en el cerebro, porque se ha demostrado que las neuronas pueden metabolizar el alcohol y algunos efectos colaterales es la producción de ERO y ERN lo que deriva en estrés oxidante y posteriormente en peroxidación de lípidos y finalmente en neuroinflamación o daño neuronal (Haorah *et al.*, 2008).

9.2.5. Proteína-G(o), subunidad α (GNAO1)

Al comparar el CTR vs el SuiTOX+ GNAO1 se encontró con baja expresión, este mismo resultado se encontró al comparar el SuiTOX- vs SuiTOX+. De acuerdo con la revisión realizada por Jiang y Bajpayee (2009), las proteínas Go son las proteínas G más abundantes en el SNC. Su función consta en acoplar los receptores de la superficie celular con efectores intracelulares, lo que es esencial para recibir, interpretar y reaccionar ante a las señales extracelulares. Estas proteínas funcionan como intermediarios entre proteínas G y los efectores intracelulares como canales iónicos, enzimas y pequeñas GTPasas para modular los mecanismos celulares. Las proteínas G(o), pertenecen a la subfamilia de proteínas Gi, las cuales inhiben la actividad del adenilato ciclasa. La subunidad α de la proteína Go ha demostrado tener actividad de GTPasa que hidroliza GTP a GDP y convierte las proteínas G activas a inactivas y por lo tanto controla la duración de la señal. Además, las proteínas Gi/o tienden a acoplarse más a receptores de serotonina, dopamina, GABA_B, opioides, glutamato, y colinérgicos.

GNAO1 se encontró con baja expresión en el presente estudio, en contraste, estudios anteriormente realizados en la CPF y han encontrado alta expresión de la variable

de ARNm ABCD al suicidio, esta variante incluye genes de proteínas G como la GNAO1 y codifica una isoforma hipoactiva del receptor 5-HT₂CR. Asimismo, esta variante interactúa con genes involucrados en procesos de sinapsis y otros genes relacionados a trastornos como esquizofrenia, TDM y TB. El receptor 5-HT₂CR se encuentra acoplado a varias proteínas G que se encargan de la estimulación de respuestas intracelulares por vía de moléculas efectoras que influyen en la actividad de canales iónicos (Di Narzo *et al.*, 2014).

9.2.6. α -internexina (INA)

INA se encontró con baja expresión al comparar el CTR vs del SuiTOX+ es un filamento intermedio neuronal de clase IV el cual es expresado en la mayoría de las neuronas. Esta proteína está encargada de mantener la morfogénesis de las neuronas. Los filamentos intermedios neuronales son estructuras proteicas que dan resistencia mecánica a la célula. Esta proteína se encuentra relacionada al desarrollo neuronal, debido a que es la primera proteína en expresarse en células en desarrollo de neuroblastoma y en neuronas en desarrollo. INA es importante en procesos apoptóticos, control de calibre axonal y la regulación en la expresión de otros filamentos interneurales (Schult *et al.*, 2014).

En el presente estudio INA tiene baja expresión en la CPFDL del SuiTOX+. Los resultados obtenidos concuerdan con otro análisis proteómico donde se encontró que INA presenta alteraciones en muestras de cerebro *post mortem* de CPF y amígdala de personas que se suicidaron, esta proteína también ha sido asociada a la esquizofrenia y a la depresión (Kékesi *et al.*, 2012) Asimismo, alteraciones en INA pueden contribuir a cambios en la circulación neuronal y propiciar vulnerabilidad a daños en el cerebro por alcohol (Alexander-Kaufman² *et al.*, 2007).

9.2.7. Proteína ácida fibrilar glial (GFAP)

De manera interesante se encuentran dos proteínas con baja expresión que tienen la identidad de GPA al comparar el CTR vs SuiTOX+. Esta proteína también pertenece a la familia de proteínas de filamento intermedio de clase III, esta proteína es utilizada para distinguir a los astrocitos de otras células gliales. GFAP tiene un papel en la migración

celular y la motilidad, en el anclaje de transportadores de glutamato en la membrana, y en la mitosis. Los astrocitos son células que están implicadas en la fisiología y patología del SNC. Son esenciales para el desarrollo neuronal; el mantenimiento de iones, neurotransmisores, y agua; en la homeostasis de energía; y en la modulación de la señalización neuronal (Hol y Pekny, 2015). En general, la astrogliá suministra soporte estructural y funcional a las neuronas, y está involucrada en el reciclaje de glutamato y la liberación de factores tróficos (Yang y Wang, 2015)

Estudios han registrado la baja expresión de GFAP en cerebro de suicidas con depresión, específicamente en el tálamo mediodorsal y núcleo caudado, donde se (Torres-Platas *et al.*, 2015). Además, se ha reportado que el etanol tiende a provocar cambios principalmente en ciertas regiones del cerebro, como la CPF y el hipocampo, donde la exposición al alcohol resulta en la reducción de la densidad de poblaciones de astrocitos (de la Monte y Krill, 2014; Miguel-Hidalgo *et al.*, 2002; Miguel-Hidalgo *et al.*, 2006; Torres-Platas *et al.*, 2016). La exposición al etanol provoca la inhibición de proliferación celular y de la síntesis de ADN y proteínas, entre las que se encuentra la GFAP (Miguel-Hidalgo, 2018).

9.2.7.1. Isoformas de la proteína GFAP

Como se mencionó anteriormente varias manchas seleccionadas tienen como identidad la misma proteína, es posible que esto se deba a la presencia de isoformas de GFAP y DPYLS2 en la CPF dorsolateral.

Se han descrito distintas isoformas de GFAP, pero poco se sabe de su implicación en padecimientos. El gen de GFAP contiene nueve exones y ocho intrones y puede sufrir de splicing alternativo para formar diferentes proteínas: GFAP α , GFAP β , GFAP γ , GFAP δ/ϵ , GFAP κ , GFAP Δ 135, GFAP Δ 164, GFAP Δ exon6, GFAP Δ exon7, y GFAP ζ . Asimismo, el nivel de expresión de estas variantes tiene influencia en la red de filamentos intermedios y altera la estructura de la célula y la motilidad (revisado por Sullivan 2014), y GFAP α es la isoforma más abundante (Yang y Wang, 2015). Se ha demostrado que la fosforilación es una de las MPTs más comunes que ocurren en GFAP y esta es realizada por las proteínas PKC, PKA, y la quinasa II dependiente de calmodulina (CAMPKII). La fosforilación de

GFAP regula la interacción célula-célula entre neuronas y astrocitos (Tykhomyrov *et al.*, 2016).

9.2.8. Proteína 2 relacionada con la dihidropirimidinas (DPYSL2)

DPYSL2 tiene baja expresión al comparar SuiTOX- vs SuiTOX+. Esta proteína también es conocida como proteína de respuesta a colapsina (CRMP2), es una proteína que al unirse a la tubulina regula parte del desarrollo neuronal y el crecimiento axonal y dendrítico, también tiene influencia en la fisiología de la sinapsis y liberación de neurotransmisores (Zhang *et al.*, 2016).

Estudios el SNP rs11995227 del gen DPYLS2 ha sido asociado de manera significativa a la dependencia de alcohol (Taylor y Wang, 2014). El gen *DPYLS2* codifica a un miembro de las proteínas de respuesta a colapsina, la cual facilita el crecimiento neuronal y puede tener un papel en la señalización sináptica mediante interacciones con los canales de Ca (Hamajima *et al.*, 1996). Esta proteína regula el crecimiento axonal en conjunto con los heterodímeros de tubulina (Fukata *et al.*, 2002). Se ha propuesto que esta proteína tiene un papel en la patogénesis de la neuroinflamación (Vincent *et al.*, 2005). Estudios han reportado que variantes genéticas de *CRMP2* están relacionadas con esquizofrenia en muestras *post mortem* (Liu *et al.*, 2015). Además, el gen *GPYSL2* ha sido vinculado a la vía mTOR la cual tiene relación en la modulación de neurotransmisores como serotonina, glutamato y sus receptores y se ha propuesto que esta vía está relacionada con la esquizofrenia (Pham *et al.*, 2016) y al suicidio (Flory *et al.*, 2017)

Se ha reportado que ratones *knockout* en DPYSL2 presentan un incremento en la locomoción, y una discapacidad en comportamientos afectivos, sociales, y cognitivos. A niveles moleculares los ratones mostraron composiciones aberrantes de subunidades de receptores NMDA y potenciación anormal de transmisión sináptica (Zhang *et al.*, 2016).

9.2.9. Cadena- β 4B de tubulina (TUBB4B)

TUBB4B se presenta baja expresión al comparar el CTR vs SuiTOX+. La tubulina es un heterodímero de subunidades α y β de las cuales se han identificado ocho isoformas de las subunidades α y nueve de las subunidades β en los humanos. La tubulina forma parte de los microtúbulos y se encuentra involucrada en funciones celulares como la mitosis, transporte intracelular, determinación de la morfología celular, y la diferenciación (Guo, *et al.*, 2010). Junto con los neurofilamentos, los microtúbulos son necesarios para la estabilización y el mantenimiento de la morfología neuronal. Además, son importantes para estabilizar la velocidad de conducción en neuronas y el transporte axonal (Mink y Johnston, 2000). La tubulina β es el mayor componente de los axones, y espinas dendríticas (Guo, *et al.*, 2010)

La baja expresión de TUBB4B que se identificó en este estudio puede estar relacionadas a la pérdida de tubulina relacionado a la reducción del volumen cerebral como se ha presentado en alcohólicos, además, es posible que comprometa la arquitectura del citoesqueleto, lo que conlleva a la pérdida de conexiones dendríticas. Estos resultados concuerdan con un estudio en el que se ha ligado bajos niveles de tubulina α y β en el A9B de sujetos con consumo de alcohol. En el mismo estudio, la tubulina β tiene baja expresión en casos de suicidio con alcoholismo (Labisso *et al.*, 2018). La pérdida de proteínas del citoesqueleto está asociada con pérdida de tejido neuronal en alcohólicos (Erdozain *et al.*, 2014)

9.2.10. Proteína de unión a oxisterol-1A (OSBPLA1)

La proteína de unión a oxisterol-1A (OSBPLA1) tiene baja expresión al comparar el CTR vs el SuiTOX+, sin embargo, esta proteína no ha sido relacionada al suicidio ni a trastornos de abuso de sustancias. La proteína de unión a oxisterol regula la síntesis de colesterol mediante la unión al 25-hidroxicolesterol (Massey, 2006). Las bajas concentraciones de colesterol en el cerebro se han relacionado con el suicidio (Sarchiapone *et al.*, 2000), la impulsividad (Marcinko *et al.*, 2008) y violencia en general (Golomb, 1998). También, casos de suicidio violentos y con previo intento suicida de manera violenta han sido relacionados con bajos niveles de colesterol (Marcinko, 2005). A nivel funcional, se ha

propuesto que la actividad del transportador de serotonina es afectada por el agotamiento de colesterol en la membrana sináptica (Scanlon *et al.*, 2001). Asimismo, se ha documentado que el colesterol disminuye y los fosfolípidos disminuyen en la membrana sinaptosomal ante la exposición de etanol en modelo de ratas (Reddy *et al.*, 2017). El colesterol puede influir en la depresión y el comportamiento a través de diversas funciones importantes tales como: componente de la vaina de mielina, un precursor de la síntesis de hormonas esteroideas y un componente de las membranas celulares con funciones posteriores en el intercambio transmembranal, la función enzimática y la expresión del receptor de neurotransmisores (Golomb *et al.*, 2004). De forma interesante, se ha demostrado que los niveles totales de colesterol en personas que padecen esquizofrenia y cometieron un intento suicida tenían niveles bajos de colesterol en comparación con los que no intentaron suicidarse (Mensi *et al.*, 2016).

9.3. Posible interacción biológica

9.3.1. Estrés oxidante y el consumo de alcohol

Para la mejor interpretación de los resultados es importante retomar la influencia del alcohol en el cerebro. El estrés oxidante puede ser causado principalmente por el consumo de alcohol, por ejemplo, en modelos de roedores que han sido expuestos de manera prolongada o excesiva al etanol se ha demostrado el incremento en la peroxidación de lípidos, niveles de nitrato, NADPH oxidasa (NOX), y citocromo *c* oxidasa II (Crews y Nixon, 2009). Asimismo, marcadores de estrés oxidante como bajos niveles de glutatión peroxidasa y un aumento en la peroxidación de lípidos han sido considerados como signos de toxicidad en el cerebro de alcohólicos (Rendón-Ramírez *et al.*, 2013). El metabolismo del alcohol propicia efectos del estrés oxidante de diferentes maneras, por ejemplo, el CYP2E1 es responsable de metabolizar el etanol en el cerebro produciendo acetaldehído y se ha demostrado en modelos animales que CYP2E1 tiene un papel importante en la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) ante la exposición del etanol y se relaciona a la acumulación de ERO en cerebro (Zhong *et al.*, 2012). La nitrosilación es una modificación postraduccional causada por la acumulación de especies reactivas de nitrógeno (ERN) y puede provocar el estrés oxidante junto con las ERO. Algunas

modificaciones oxidativas pueden actuar como mensajeros en la señalización del balance redox y así permitir a la célula regular el metabolismo (Chen y Zweier). Aproximadamente un cuarto de las proteínas nitrosiladas en el cerebro pertenecen a la mitocondria (Doulias *et al.*, 2013). Asimismo, tanto el estrés oxidante como el nitrosativo son importantes en la neurofisiología del comportamiento suicida (Vargas *et al.*, 2013) y diversas revisiones han mencionado que el estrés oxidante está relacionado con otros trastornos psiquiátricos como la ansiedad, depresión, TB y esquizofrenia (Salim, 2014; Ng *et al.*, 2008.).

El acetaldehído puede unirse a la dopamina para formar salsolinol, este compuesto ha sido relacionado a daños neuronales por el uso de alcohol. El salsolinol también se ha identificado en el cerebro y LCR de pacientes con Parkinson y es posible que pueda incrementar la producción de ERO y el decremento del glutatión, también puede reducir las concentraciones de ATP en la mitocondria y causar la muerte en cultivos de células dopaminérgicas por estrés oxidante (Wanpen *et al.*, 2004). El estrés oxidante y mediadores proinflamatorios se encuentran relacionadas con la intoxicación por alcohol, lo cual puede ocasionar un daño en las membranas de las neuronas y células gliales que están constituidas principalmente de ácidos grasos poliinsaturados los cuales son vulnerables a daños por las especies reactivas de oxígeno (He y Crews, 2008).

9.3.2. Integración de daños por el uso de alcohol y las alteraciones en el proteoma de la CPFDL con suicidio consumado

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que hay alteraciones en diferentes procesos biológicos (Figura 18). Estas pueden ocurrir en diferentes niveles y por lo tanto comprometer el buen funcionamiento de la CPFDL de los individuos que consumaron el suicidio y consumieron alcohol.

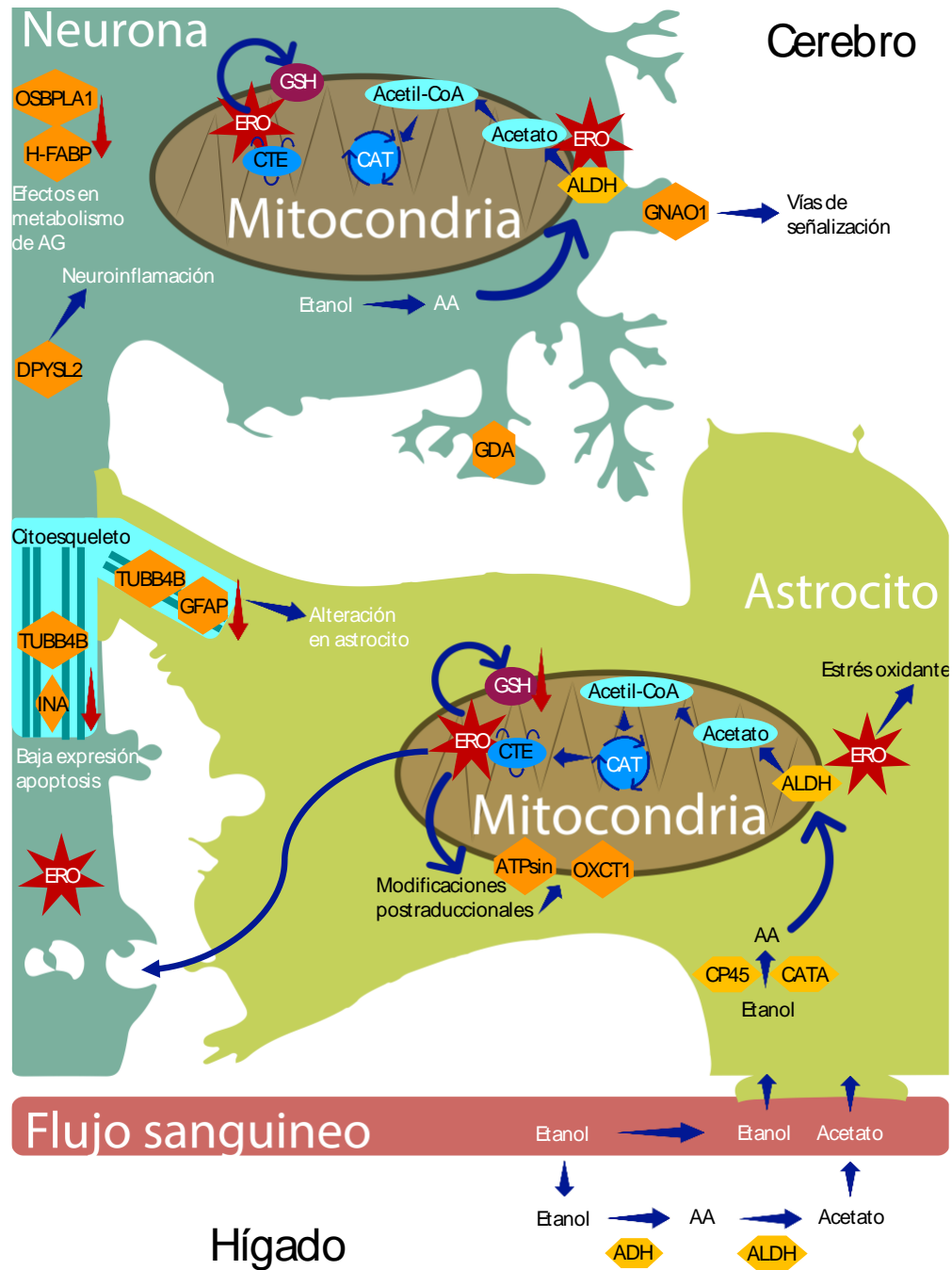


Figura 18. Modelo propuesto de integración biológica. Diagrama que explica la posible relación de los efectos del alcohol en el cerebro de personas que consumaron el suicidio. AA: acetaldehído, GSH: glutatión, CAT: ciclo del ácido tricarboxílico, CTE: cadena transportadora de electrones, AG: ácidos grasos.

Las alteraciones a nivel mitocondrial afectan la correcta síntesis de ATP en el A9B, también está relacionada al aumento en la producción de ERO. Esto propicia el desarrollo de estrés oxidante el cual también ha sido relacionado al suicidio y otros trastornos como ya

se mencionó anteriormente. Es posible que las proteínas del cerebro de personas que consumaron el suicidio bajo la influencia del alcohol sufran modificaciones PTMs a causa del estrés oxidante como la S-glutationilación, nitrosilación y oxidación, las cuales se asocian a cambios en la actividad de las proteínas. En este caso, es posible que la ATPsintasa y OXCT1 hayan sido glutacioniladas y como consecuencia provocar la baja producción energética en la mitocondria (García *et al.*, 2010).

El citoesqueleto puede ser otro blanco de la toxicidad del etanol y esto también puede ser causado por el estrés oxidante. En cultivos de astrocitos tratados con alcohol, el citoesqueleto de actina presenta alteraciones y la red microtubular aparenta estar desorganizada (Tomás *et al.*, 2005). En los resultados obtenidos se puede observar que las proteínas INA y GFAP se encuentran alteradas en el A9B de víctimas de suicidio, las cuales ya se han vinculado con anterioridad a este fenómeno y se han sugerido como biomarcadores de trastornos psiquiátricos a nivel proteico y genético (Kékesi *et al.*, 2012). La alteración en la expresión de INA y GFAP puede comprometer el papel de la astrogliá en la señalización y transducción (Haydon, 2001), y probablemente presenten cambios a nivel de expresión por la exposición al etanol y al estrés oxidante, o que ocasiona que procesos de neuroinflamación, señalización de calcio, balance de neurotransmisión inhibitoria y excitatoria, así como la regulación de procesos conductuales dependientes de dopamina (Adermark y Bowers, 2016). La exposición ante altas concentraciones de etanol produce daños neuronales, gliosis, un aumento en la expresión de GFAP, reducción del volumen del cerebro, pérdida de neuronas en zonas corticales y subcorticales y la contracción de materia gris y materia blanca (Zahr, Kaufman y Harper, 2011). Como ya se mencionó la síntesis de GFAP disminuye ante la exposición prolongada al alcohol propicia que la población de astrocitos disminuya en la CPF. Por ejemplo, la exposición al alcohol en roedores provoca alteraciones en citosinas pro-inflamatorias como la interleucina 1 β y factor de necrosis tumoral- α , y esto provoca una cascada de señalización de citocinas que derivan en la fragmentación de ADN, la activación de microglía, y finalmente la muerte neuronal (Crews y Nixon, 2009). Estos cambios en la señalización de estrés oxidante han sido reportados en la CPF de alcohólicos (Quin y Crews, 2012).

DPYSL2 puede estar implicado en procesos inflamatorios que deriven en la neuroinflamación lo que posteriormente provocaría la muerte neuronal, comprometiendo la

transmisión sináptica. La baja masa encefálica que se ha documentado en individuos que consumen alcohol se podría explicar con la baja expresión de la proteína FABPE-H y TUBB4B, debido a que se ha asociado a la baja expresión de estas proteínas debido a la muerte neuronal derivada también por el consumo del alcohol (Erdozain *et al.*, 2014; Cheon *et al.*, 2003).

El incremento en el metabolismo de acetato en el cerebro se espera que pueda incrementar los niveles de NADH:NAD, esto puede afectar algunos procesos metabólicos como la glucólisis, la cual requiere NAD. El acetato se metaboliza en los astrocitos en acetil-CoA (Jiang *et al.*, 2013). El consumo de alcohol provoca un bajo flujo glucolítico en el cerebro, lo cual puede contribuir a la dependencia del alcohol mediante la preferencia del acetato derivado del etanol (Enculescu *et al.*, 2018). Sin embargo, eso no sucede en el caso de los individuos que consumaron el suicidio lo cual indica que los mecanismos no son idénticos en un suicida con consumo de alcohol comparados con un individuo que padece TUA.

En resumen, las proteínas identificadas comprometen la síntesis de ATP y sugieren alteraciones metabólicas en el cerebro de SuiTOX+. Además, alteraciones en la expresión de proteínas del metabolismo de ácidos grasos son importantes porque los cambios en sus niveles dan como resultados cambios en el comportamiento de los individuos como en el caso de la conducta suicida. Es probable que estos cambios sean propiciados por el consumo de alcohol ante la posible susceptibilidad de los efectos del etanol en el cerebro de los individuos propensos a cometer el suicidio.

X. CONCLUSIONES

- ◆ Se encontraron cambios en el perfil de expresión de proteínas de la corteza prefrontal dorsolateral de individuos que consumaron el suicidio y presentan toxicología positiva al alcohol en comparación con los que no tenían toxicología positiva y controles.
- ◆ Los mecanismos biológicos afectados por el consumo de alcohol en personas que consumaron el suicidio son las vías metabólicas de moléculas pequeñas, la síntesis de ATP y el transporte de lípidos.
- ◆ El consumo de alcohol provoca la baja expresión de GFAP, INA y TUBB4B pueden comprometer la estructura del citoesqueleto de neuronas y astrocitos en la corteza prefrontal dorsolateral de suicidas.
- ◆ GNAO1 y DPYSL2 pueden estar relacionadas a vías de señalización
- ◆ Adicionalmente, las isoformas de las proteínas GFAP y DPYSL2 pueden ser producto de modificaciones postraduccionales relacionada con mecanismos asociados al consumo de alcohol.

XI. LIMITACIONES

La principal limitación en este trabajo fue trabajar con muestras en diferentes rangos de edad y no del mismo sexo. Lo anterior es debido a la escasez de la muestra y la dificultad para conseguir el tejido y su posterior caracterización. Para evitar la posible variación en los resultados se utilizaron muestras de suicidio que hayan compartido la misma causa de muerte entre sí.

XII. PERSPECTIVAS

El presente trabajo es el primer estudio en México que intenta demostrar la relación de los mecanismos biológicos del cerebro de personas con suicidio consumado e intoxicado por alcohol. Las proteínas identificadas en este estudio han sido anteriormente relacionadas al suicidio, a trastorno de usos de sustancias como alcohol, y otros trastornos como depresión y trastorno bipolar que al presentar comorbilidad con el abuso alcohol incrementan el riesgo de suicidio. Dado que el suicidio es un fenómeno multifactorial es posible que futuras investigaciones se realicen para esclarecer los mecanismos biológicos de este fenómeno.

Los estudios posteriores deberían de considerar el aumento en el número de las muestras a utilizar y evitar la variación entre el sexo y la edad, y parear los controles con los casos.

Además, es importante la futura validación de los resultados obtenidos mediante técnicas como el Western blot y complementar con estudios del transcriptoma, metaboloma, y genoma, para así obtener la mejor comprensión de los mecanismos biológicos que están involucrados en el desarrollo del suicidio.

Asimismo, los estudios a futuro podrían realizar comparaciones entre diferentes áreas del cerebro con la finalidad de esclarecer circuitos neuronales que puedan influir en los cambios de la corteza prefrontal dorsolateral u otras partes del cerebro y cómo es que los cambios observados pueden influir en el desarrollo del suicidio.

XIII. REFERENCIAS

- Adermark, L., y Bowers, M. S. (2016). Disentangling the Role of Astrocytes in Alcohol Use Disorder. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 40(9), 1802-1816. <https://doi.org/10.1111/acer.13168>
- Ajdacic-Gross, V., Wang, J., Bopp, M., Eich, D., Rössler, W., y Gutzwiller, F. (2003). Are seasonalities in suicide dependent on suicide methods? A reappraisal. *Social Science and Medicine*, 57(7), 1173-1181 [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(02\)00493-8](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(02)00493-8)
- Ajdacic-Gross, V., Bopp, M., Ring, M., Gutzwiller, F., y Rössler, W. (2010). Seasonality in suicide - A review and search of new concepts for explaining the heterogeneous phenomena. *Social Science and Medicine*, 71(4), 657-666 <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2010.05.030>
- Ågren, H., Niklasson, F., y Hällgren, R. (1983). Brain purinergic activity linked with depressive symptomatology: Hypoxanthine and xanthine in CSF of patients with major depressive disorders. *Psychiatry Research*, 9(3), 179-189. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(83\)90042-2](https://doi.org/10.1016/0165-1781(83)90042-2)
- Akum, B. F., Chen, M., Gunderson, S. I., Riefler, G. M., Scerri-Hansen, M. M., y Firestein, B. L. (2004). Cypin regulates dendrite patterning in hippocampal neurons by promoting microtubule assembly. *Nature Neuroscience*, 7(2), 145-152. <https://doi.org/10.1038/nn1179>
- Alexander-Kaufman, K., James, G., Sheedy, D., Harper, C., y Matsumoto, I. (2006). Differential protein expression in the prefrontal white matter of human alcoholics: A proteomics study. *Molecular Psychiatry*, 11(1) 56-65. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001741>
- Alexander-Kaufman, K., Cordwell, S., Harper, C., y Matsumoto, I. (2007)¹. A proteome analysis of the dorsolateral prefrontal cortex in human alcoholic patients. *Proteomics - Clinical Applications*, 1(1), 62-72. <https://doi.org/10.1002/prca.200600417>
- Alexander-Kaufman, K., Harper, C., Wilce, P., y Matsumoto, I. (2007)². Cerebellar vermis proteome of chronic alcoholic individuals. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(8), 1286-1296. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00437.x>
- Ali, S., Nathani, M., Jabeen, S., Yazdani, I., Mouton, C. D., Bailey, R. K., ... Riley, W. J. (2013). Alcohol: The lubricant to suicidality. *Innovations in Clinical Neuroscience*, 10(1), 20-29.
- Arnsten, A. F. T. (2009). Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 410-422. <https://doi.org/10.1038/nrn2648>

- Bailey, S. M., y Cunningham, C. C. (1999). Effect of dietary fat on chronic ethanol-induced oxidative stress in hepatocytes. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(7), 1210–1218. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1999.tb04280.x>
- Bailey, S. M. (2003). A review of the role of reactive oxygen and nitrogen species in alcohol-induced mitochondrial dysfunction. *Free Radical Research*, 37(6), 585–596. <https://doi.org/10.1080/1071576031000091711>
- Barzilay, S., y Apter, A. (2014). Psychological Models of Suicide. *Archives of Suicide Research*, 18(4), 295-312. <https://doi.org/10.1080/13811118.2013.824825>
- Bay-Richter, C., Linderholm, K. R., Lim, C. K., Samuelsson, M., Träskman-Bendz, L., Guillemin, G. J., ... Brundin, L. (2015). A role for inflammatory metabolites as modulators of the glutamate N-methyl-d-aspartate receptor in depression and suicidality. *Brain, Behavior, and Immunity*, 43, 110-117 <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.07.012>
- Beasley, C. L., Pennington, K., Behan, A., Wait, R., Dunn, M. J., y Cotter, D. (2006). Proteomic analysis of the anterior cingulate cortex in the major psychiatric disorders: Evidence for disease-associated changes. *Proteomics*, 6(11), 3414-3425 <https://doi.org/10.1002/pmic.200500069>
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer y L. Biochemistry. 5th edition. New York: W H Freeman; 2002. Chapter 3, Protein Structure and Function. Disponible en: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21177/>](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21177/)
- Bettio, L. E. B., Freitas, A. E., Neis, V. B., Santos, D. B., Ribeiro, C. M., Rosa, P. B., ... Rodrigues, A. L. S. (2014). Guanosine prevents behavioral alterations in the forced swimming test and hippocampal oxidative damage induced by acute restraint stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 127, 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.10.002>
- Betzen, C., Alhamdani, M. S. S., Lueong, S., Schröder, C., Stang, A., y Hoheisel, J. D. (2015). Clinical proteomics: Promises, challenges and limitations of affinity arrays. *Proteomics - Clinical Applications*, 9(3-4), 342-347. <https://doi.org/10.1002/prca.201400156>
- Beurel, E., y Joep, R. S. (2014). Inflammation and lithium: Clues to mechanisms contributing to suicide-linked traits. *Translational Psychiatry*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.129>
- Björklund, A., y Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.006>

- Black, C., y Miller, B. J. (2015). Meta-analysis of cytokines and chemokines in suicidality: Distinguishing suicidal versus nonsuicidal patients. *Biological Psychiatry*, 78(1), 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.10.014>
- Borges, G., Walters, E. E., y Kessler, R. C. (2000). Associations of substance use, abuse, and dependence with subsequent suicidal behavior. *American Journal of Epidemiology*, 151(8), 781-789. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010278>
- Borges, G., y Loera, C. R. (2010). Alcohol and drug use in suicidal behaviour. *Current Opinion in Psychiatry*, 23(3), 195-204. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3283386322>
- Borges, G., Orozco, R., Benjet, C., y Medina-Mora, M. E. (2010). Suicidio y conductas suicidas en México: Retrospectiva y situación actual. *Salud Publica de Mexico*, 52(4), 292-304. <https://doi.org/10.1590/S0036-36341998000500007>
- Borges, G., Orozco, R., y Medina Mora, M. E. (2012). Índice de riesgo para el intento suicida en México. *Salud Pública de México*, 54(6), 595-606. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342012000600008>
- Bozorgmehr, A., Ghadirivasfi, M., Tavakoli, M., Rahmani, H., Heydari, F., y Shahsavand Ananloo, E. (2018). Integrated analysis of the genetic basis of suicidal behavior. *Psychiatric Genetics*, 28(2), 31, 1-7. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000191>
- Brady, J. (2006). The association between alcohol misuse and suicidal behaviour. *Alcohol and Alcoholism*, 41(5), 473-478. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agl060>
- Brière, F. N., Rohde, P., Seeley, J. R., Klein, D., y Lewinsohn, P. M. (2014). Comorbidity between major depression and alcohol use disorder from adolescence to adulthood. *Comprehensive Psychiatry*, 55(3), 526-533. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2013.10.007>
- Brundin, L., Sellgren, C. M., Lim, C. K., Grit, J., Pålsson, E., Landén, M., ... Erhardt, S. (2016). An enzyme in the kynurenine pathway that governs vulnerability to suicidal behavior by regulating excitotoxicity and neuroinflammation. *Translational Psychiatry*, 6(8), e865-e865 <https://doi.org/10.1038/tp.2016.133>
- Bryleva, E. Y., y Brundin, L. (2017). Suicidality and activation of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 269-284. https://doi.org/10.1007/7854_2016_5
- Carroll, P. W. O., Berman, A. L., Maris, R. W., Moscicki, E. K., Tanney, B. L., y Silverman, M. M. (1996). Beyond the Tower of Babel: A Nomenclature for Suicidology. *Suicide and Life-Threatening Behavior*, 26(3), 237- 252. <https://doi.org/10.1111/j.1943-278X.1996.tb00609.x>

- Carmichael, S. T., y Price, J. L. (1996). Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, 371(2), 179-207.
- Castellanos, L., González, L. J., & Padrón, G. (2004). Proteómica, 367–403., en: D. Silva y A. Mariña (ed.). *Combinatoria molecular*, Elfos. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Haban, Cuba.
- Chang, A. H. K., Sancheti, H., Garcia, J., Kaplowitz, N., Cadenas, E., y Han, D. (2014). Respiratory substrates regulate S-nitrosylation of mitochondrial proteins through a thiol-dependent pathway. *Chemical Research in Toxicology*, 27(5), 794-804
<https://doi.org/10.1021/tx400462r>
- Chen, Y. R., y Zweier, J. L. (2014). Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circulation Research*. 114(3), 524-537.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.300559>
- Chalon, S. (2006). Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 75(4.5), 259-569.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2006.07.005>
- Cheon, M. S., Kim, S. H., Fountoulakis, M., y Lubec, G. (2003). Heart type fatty acid binding protein (H-FABP) is decreased in brains of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *J.Neural Transm*, 67, 225-234. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6721-2_20
- Choi, S. B., Lee, W., Yoon, J. H., Won, J. U., y Kim, D. W. (2017). Risk factors of suicide attempt among people with suicidal ideation in South Korea: A cross-sectional study. *BMC Public Health*. 17(1), 1-11 <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4491-5>
- Crecelius, A., Götz, A., Arzberger, T., Fröhlich, T., Arnold, G. J., Ferrer, I., y Kretzschmar, H. A. (2008). Assessing quantitative post-mortem changes in the gray matter of the human frontal cortex proteome by 2-D DIGE. *Proteomics*, 8(6), 1276-1291.
<https://doi.org/10.1002/pmic.200700728>
- Crews, F. T., y Nixon, K. (2009). Mechanisms of neurodegeneration and regeneration in alcoholism. *Alcohol and Alcoholism*, 44(2), 115-127.
<https://doi.org/10.1093/alcalc/agn079>
- Darvishi, N., Farhadi, M., Haghtalab, T., y Poorolajal, J. (2015). Alcohol-related risk of suicidal ideation, suicide attempt, and completed suicide: A meta-analysis. *PLoS ONE*, 10(5), e0126870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126870>
- Dawes, M. A., Mathias, C. W., Richard, D. M., Hill-Kapturczak, N., y Dougherty, D. M. (2008). Adolescent Suicidal Behavior and Substance Use: Developmental Mechanisms. *Substance Abuse : Research and Treatment*, 2, 13-28

- Di Liberto, V., Mudò, G., Garozzo, R., Frinchi, M., Fernandez-Dueñas, V., Di Iorio, P., ... Belluardo, N. (2016). The guanine-based purinergic system: The tale of an orphan neuromodulation. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00158>
- Di Narzo, A. F., Kozlenkov, A., Roussos, P., Hao, K., Hurd, Y., Lewis, D. A., Sibille, E., Siever, L. J., Koonin E., y Dracheva, S. (2014). A unique gene expression signature associated with serotonin 2C receptor RNA editing in the prefrontal cortex and altered in suicide. *Human Molecular Genetics*, 23(18), 4801–4813. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu195>
- Doulias, P. T., Tenopoulou, M., Greene, J. L., Raju, K., y Ischiropoulos, H. (2013). Nitric oxide regulates mitochondrial fatty acid metabolism through reversible protein S-nitrosylation. *Science Signaling*, 6(256), rs1-rs1. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003252>
- Dunn, M. J., y Kraus, H.-J. (2016). PROTEOMICS: The first 15 years. *Proteomics*, 16(1), 1–3. <https://doi.org/10.1002/pmic.201670013>
- Dwivedi, Y., Rizavi, H. S., Roberts, R. C., Conley, R. C., Tamminga, C. A., y Pandey, G. N. (2001). Reduced activation and expression of ERK1/2 MAP kinase in the post-mortem brain of depressed suicide subjects. *Journal of Neurochemistry*, 77(3), 916–928. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00300.x>
- Dwivedi, Y., Conley, R. R., Roberts, R. C., Tamminga, C. a, y Pandey, G. N. (2002). [(3)H]cAMP binding sites and protein kinase a activity in the prefrontal cortex of suicide victims. *The American Journal of Psychiatry*, 159(1), 66-73. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.1.66>
- Dwivedi, Y., Rizavi, H. S., Conley, R. R., Roberts, R. C., Tamminga, C. A., y Pandey, G. N. (2003). Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Archives of General Psychiatry*, 60(8), 804-815. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.60.8.804>
- Edenberg, H. J. (2007). The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Research & Health : The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 30(1), 5–13. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3914>
- Egeblad, L., Welin, M., Flodin, S., Gräslund, S., Wang, L., Balzarini, J., ... Nordlund, P. (2012). Pan-pathway based interaction profiling of FDA-approved nucleoside and nucleobase analogs with enzymes of the human nucleotide metabolism. *PLoS ONE*, 7(5), e37724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037724>

- Enculescu, C., Kerr, E. D., Yeo, B. K. Y., Dodd, P. R., Schenk, G., Fortes, M. R. S., y Schulz, B. L. (2018) Proteomics reveals profound metabolic changes in the alcohol use disorder brain. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/447912>
- Erdozain, A. M., Morentin, B., Bedford, L., King, E., Tooth, D., Brewer, C., ... Carter, W. G. (2014). Alcohol-related brain damage in humans. *PLoS ONE*, 9(4), e93586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093586>
- Etheridge, N., Lewohl, J. M., Mayfield, R. D., Harris, R. A., y Dodd, P. R. (2009). Synaptic proteome changes in the superior frontal gyrus and occipital cortex of the alcoholic brain. *Proteomics - Clinical Applications*, 3(6), 730-742 <https://doi.org/10.1002/prca.200800202>
- Fernández, J. R., Sweet, E. S., Welsh, W. J., y Firestein, B. L. (2010). Identification of small molecule compounds with higher binding affinity to guanine deaminase (cypin) than guanine. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 18(18), 6748-6755. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.07.054>
- Flory, J. D., Donohue, D., Muhie, S., Yang, R., Miller, S. A., Hammamieh, R., ... Yehuda, R. (2017). Gene expression associated with suicide attempts in US veterans. *Translational Psychiatry*, 7, e1226 <https://doi.org/10.1038/tp.2017.179>
- Fukata, Y., Itoh, T. J., Kimura, T., Ménager, C., Nishimura, T., Shiromizu, T., ... Kaibuchi, K. (2002). CRMP-2 binds to tubulin heterodimers to promote microtubule assembly. *Nature Cell Biology*, 4, 583-591. <https://doi.org/10.1038/ncb825>
- Furczyk, K., Schutová, B., Michel, T. M., Thome, J., y Büttner, A. (2013). The neurobiology of suicide - A Review of post-mortem studies. *Journal of Molecular Psychiatry*, 1(1), 2. <https://doi.org/10.1186/2049-9256-1-2>
- Gao, W.-J., Wang, H.-X., A., M., y Li, Y.-C. (2012). The Unique Properties of the Prefrontal Cortex and Mental Illness, en: T. Mantamadiotis (ed.). *When Things Go Wrong - Diseases and Disorders of the Human Brain*. IntechOpen. University of Melbourne, Australia. <https://doi.org/10.5772/35868>
- Garcia, J., Han, D., Sancheti, H., Yap, L. P., Kaplowitz, N., y Cadenas, E. (2010). Regulation of mitochondrial glutathione redox status and protein glutathionylation by respiratory substrates. *Journal of Biological Chemistry*, 285(51), 39656-39654. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.164160>
- Garciandía, J. A. (2013). Familia, suicidio y duelo. *Revista Colombiana de Psiquiatria*, 43, 71-79 <https://doi.org/10.1016/j.rcp.2013.11.009>

- Gardner, A., Johansson, A., Wibom, R., Nennesmo, I., Von Döbeln, U., Hagenfeldt, L., y Hällström, T. (2003). Alterations of mitochondrial function and correlations with personality traits in selected major depressive disorder patients. *Journal of Affective Disorders*, 76 (1-3), 55-68. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(02\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(02)00067-8)
- Glaaser, I. W., y Slesinger, P. A. (2017). Dual activation of neuronal G protein-gated inwardly rectifying potassium (GIRK) channels by cholesterol and alcohol. *Scientific Reports*, 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04681-x>
- Ginger, L., Guija, J., Root, C., y Baca-García, E. (2016). Nomenclature and definition of suicidal behavior, 3-15, en: P. Courtet (ed.). *Understanding Suicide From Diagnosis to Personalized Treatment*. Springer. University of Montpellier, Francia
- Golomb, B. A. (1998). Cholesterol and violence: Is there a connection? *Annals of Internal Medicine*, 128, 4787-478 <https://doi.org/10.7326/0003-4819-128-6-199803150-00009>
- Golomb, B. A., Criqui, M. H., White, H. L., y Dimsdale, J. E. (2004). The UCSD Statin Study: A randomized controlled trial assessing the impact of statins on selected noncardiac outcomes. *Controlled Clinical Trials*, 25(2), 178-202. <https://doi.org/10.1016/j.cct.2003.08.014>
- Grotenhermen, F. (2006). Los cannabinoides y el sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*, 1(1), 10-14.
- Guo, J., Walss-Bass, C., y Ludueña, R. F. (2010). The β isotypes of tubulin in neuronal differentiation. *Cytoskeleton*, 67(7), 431-441 <https://doi.org/10.1002/cm.20455>
- Hamajima, N., Matsuda, K., Sakata, S., Tamaki, N., Sasaki, M., y Nonaka, M. (1996). A novel gene family defined by human dihydropyrimidinase and three related proteins with differential tissue distribution. *Gene*. 180(1-2), 157-163. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(96\)00445-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(96)00445-3)
- Haorah, J., Ramirez, S. H., Floreani, N., Gorantla, S., Morsey, B., y Persidsky, Y. (2008). Mechanism of alcohol-induced oxidative stress and neuronal injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(11), 1542-1550. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.030>
- Haorah, J., Rump, T. J., y Xiong, H. (2013). Reduction of Brain Mitochondrial β -Oxidation Impairs Complex I and V in Chronic Alcohol Intake: The Underlying Mechanism for Neurodegeneration. *PLoS ONE*, 8(8), e70833 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070833>
- Hercher, C., Parent, M., Flores, C., Canetti, L., Turecki, G., y Mechawar, N. (2009). Alcohol dependence-related increase of glial cell density in the anterior cingulate cortex of suicide completers. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*. 34(4), 281-8.

- Herman, M. A., Sidhu, H., Stouffer, D. G., Kreifeldt, M., Le, D., Cates-Gatto, C., ... Contet, C. (2015). GIRK3 gates activation of the mesolimbic dopaminergic pathway by ethanol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(22), 7091-7096. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416146112>
- Hernández-Bringas, H. H., y Flores-Arenales, R. (2011). El suicidio en México. *Papeles de Poblacion*.
- Hipolito, L., Sanchez, M., Polache, A., y Granero, L. (2007). Brain Metabolism of Ethanol and Alcoholism: An Update. *Current Drug Metabolism*, *8*(7), 716-727. <https://doi.org/10.2174/138920007782109797>
- Hoertel, N., Faiz, H., Airagnes, G., Blanco, C., Pascal De Raykeer, R., Franco, S., ... Limosin, F. (2018). A comprehensive model of predictors of suicide attempt in heavy drinkers: Results from a national 3-year longitudinal study. *Drug and Alcohol Dependence*, *186*, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2018.01.010>
- Hol, E. M., & Pekny, M. (2015). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Current Opinion in Cell Biology*, *32*, 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2015.02.004>
- Hufford, M. R. (2001). Alcohol and suicidal behavior. *Clinical Psychology Review*, *21*(5), 797–811. [https://doi.org/10.1016/S0272-7358\(00\)00070-2](https://doi.org/10.1016/S0272-7358(00)00070-2)
- INEGI. (2017). ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL... DÍA MUNDIAL PARA LA PREVENCIÓN DEL SUICIDIO. *Estadísticas de Mortalidad*, pp. 1–9. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/suicidios2017_Nal.pdf> Consultado el 15 de abril del 2018
- Izumi, Y., Ishii, K., Katsuki, H., Benz, A. M., y Zorumski, C. F. (1998). β -Hydroxybutyrate fuels synaptic function during development. Histological and physiological evidence in rat hippocampal slices. *Journal of Clinical Investigation*, *101*(5), 1121-1132. <https://doi.org/10.1172/JCI1009>
- Jiang, M., y Bajpayee, N. S. (2009). Molecular mechanisms of Go signaling. *NeuroSignals*, *17*, 23-41. <https://doi.org/10.1159/000186688>
- Jiang, L., Gulanski, B. I., De Feyter, H. M., Weinzimer, S. A., Pittman, B., Guidone, E., ... Mason, G. F. (2013). Increased brain uptake and oxidation of acetate in heavy drinkers. *Journal of Clinical Investigation*, *123*(4), 1605-1614. <https://doi.org/10.1172/JCI65153>

- Kang, H. J., Adams, D. H., Simen, A., Simen, B. B., Rajkowska, G., Stockmeier, C. A., ... Duman, R. S. (2007). Gene expression profiling in postmortem prefrontal cortex of major depressive disorder. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(48), 13329-13340.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4083-07.2007>
- Karthick, S., y Barwa, S. (2017). A review on theoretical models of suicide. *International Journal of Advances in Scientific Research*, 3(9), 101-109.
<https://doi.org/10.7439/ijasr.v3i9.4382>.
- Kashem, M. A., James, G., Harper, C., Wilce, P., y Matsumoto, I. (2007). Differential protein expression in the corpus callosum (splenium) of human alcoholics: A proteomics study. *Neurochemistry International*.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.10.009>
- Kashem, M. A., Harper, C., y Matsumoto, I. (2008). Differential protein expression in the corpus callosum (genu) of human alcoholics. *Neurochemistry International*, 50(2), 450-559 <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2008.04.003>
- Kékesi, K. A., Juhász, G., Simor, A., Gulyássy, P., Szego, É. M., Hunyadi-Gulyás, É., ... Czurkó, A. (2012). Altered Functional Protein Networks in the Prefrontal Cortex and Amygdala of Victims of Suicide. *PLoS ONE*, 7(12), e50532.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050532>
- Khemiri, L., Jokinen, J., Runeson, B., & Jayaram-Lindstrom, N. (2016). Suicide Risk Associated with Experience of Violence and Impulsivity in Alcohol Dependent Patients. *Scientific Reports*, 6, srep19373. <https://doi.org/10.1038/srep19373>
- Kim, J. J., Lee, S. J., Toh, K. Y., Lee, C. U., Lee, C., y Paik, I. H. (2001). Identification of antibodies to heat shock proteins 90 kDa and 70 kDa in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 52(1-2), 127-135. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(00\)00091-8](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(00)00091-8)
- Klein, H., y Harmjan, D. (1975). Effect of ethanol infusion on the ultrastructure of human myocardium. *Postgraduate Medical Journal*, 51(595), 325-329.
<https://doi.org/10.1136/pgmj.51.595.325>
- Klempner, T. A., Sequeira, A., Canetti, L., Lalovic, A., Ernst, C., Ffrench-Mullen, J., y Turecki, G. (2009). Altered expression of genes involved in ATP biosynthesis and GABAergic neurotransmission in the ventral prefrontal cortex of suicides with and without major depression. *Molecular Psychiatry* 14, 175-189.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002110>

- Labisso, W., Raulin, A.-C., Nwidu, L., Kocon, A., Wayne, D., Erdozain, A., ... Carter, W. (2018). The Loss of α - and β -Tubulin Proteins Are a Pathological Hallmark of Chronic Alcohol Consumption and Natural Brain Ageing. *Brain Sciences*, 8(9), 175. <https://doi.org/10.3390/brainsci8090175>
- Lanznaster, D., Dal-Cim, T., Piermartiri, T. C., y Tasca, C. I. (2016). Guanosine: a Neuromodulator with Therapeutic Potential in Brain Disorders. *Aging and Disease*, 7(5), 657,679 <https://doi.org/10.14336/AD.2016.0208>
- Lewohl, J. M., Van Dyk, D. D., Craft, G. E., Innes, D. J., Mayfield, R. D., Cobon, G., ... Dodd, P. R. (2004). The application of proteomics to the human alcoholic brain. In *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1025(1), 14-26. <https://doi.org/10.1196/annals.1316.002>
- Lindqvist, D., Janelidze, S., Hagell, P., Erhardt, S., Samuelsson, M., Minthon, L., ... Brundin, L. (2009). Interleukin-6 Is Elevated in the Cerebrospinal Fluid of Suicide Attempters and Related to Symptom Severity. *Biological Psychiatry*, 66(3), 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.01.030>
- Lopes-Cardozo, M., Larsson, O. M., y Schousboe, A. (1986). Acetoacetate and Glucose as Lipid Precursors and Energy Substrates in Primary Cultures of Astrocytes and Neurons from Mouse Cerebral Cortex. *Journal of Neurochemistry*, 46(3), 773-778. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1986.tb13039.x>
- Lozano, R., Gómez-Dantés, H., Garrido-Latorre, F., Jiménez-Corona, A., Campuzano-Rincón, J. C., Franco-Marina, F., ... Murray, C. J. L. (2013). Burden of disease, injuries, risk factors and challenges for the health system in Mexico. *Salud Publica de Mexico*, 55(6), 580-594
- Lutz, P. E., Mechawar, N., y Turecki, G. (2017). Neuropathology of suicide: Recent findings and future directions. *Molecular Psychiatry*, 22(10), 1395-1412. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.141>
- Mann, J. J., (2003). Neurobiology of suicidal behaviour. *Nature reviews Neuroscience*, 4 (10), 819-828. <http://doi.org/10.1038/nrn1220>
- Marcinko, D., Martinac, M., Karlovic, D., Filipic, I., Loncar, T., Pivac, N., y Jakovljevic, M. (2005). Are there differences in serum cholesterol and cortisol concentrations between violent and non-violent schizophrenic male suicide attempters? *COLLEGIUM ANTROPOLOGICUM*, 29(1), 153-167.
- Marčinko, D., Marčinko, V., Karlović, D., Marčinko, A., Martinac, M., Begić, D., y Jakovljević, M. (2008). Serum lipid levels and suicidality among male patients with schizoaffective disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(1), 193-196. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.08.009>

- Martins-de-Souza, D., Maccarrone, G., Wobrock, T., Zerr, I., Gormanns, P., Reckow, S., ... Turck, C. W. (2010). Proteome analysis of the thalamus and cerebrospinal fluid reveals glycolysis dysfunction and potential biomarkers candidates for schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, *44*(16), 1176-1789.
- Massey, J. B. (2006). Membrane and protein interactions of oxysterols. *Current Opinion in Lipidology* *17*(3), 296-301. <https://doi.org/10.1097/01.mol.0000226123.17629.ab>
- Matthiesen, R., y Bunkenborg, J. (2013). Introduction to mass spectrometry-based proteomics, 1-45, en: J. Walker (eds.). *Methods in Molecular Biology*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-392-3_1.
- Matsuda-Matsumoto, H., Iwazaki, T., Kashem, M. A., Harper, C., y Matsumoto, I. (2007). Differential protein expression profiles in the hippocampus of human alcoholics. *Neurochemistry International*, *51*(6-7), 370-376. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.04.001>
- Matsumoto, I. (2009). Proteomics approach in the study of the pathophysiology of alcohol-related brain damage. *Alcohol and Alcoholism*, *44*(2), 171-176. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agn104>
- Mensi, R., Messaoud, A., Mhallah, A., Azizi, I., Salah, W. H., Douki, W., ... Gaha, L. (2016). The association between altered lipid profile and suicide attempt among tunisian patients with schizophrenia. *Annals of General Psychiatry*. <https://doi.org/10.1186/s12991-016-0123-1>
- Miguel-Hidalgo, J. J., Wei, J., Andrew, M., Overholser, J. C., Jurjus, G., Stockmeier, C. A., y Rajkowska, G. (2002). Glia pathology in the prefrontal cortex in alcohol dependence with and without depressive symptoms. *Biological Psychiatry*, *15*(36). [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01439-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01439-7)
- Miguel-Hidalgo, J. J., Overholser, J. C., Meltzer, H. Y., Stockmeier, C. A., y Rajkowska, G. (2006). Reduced glial and neuronal packing density in the orbitofrontal cortex in alcohol dependence and its relationship with suicide and duration of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *30*(11), 1845-1855. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00221.x>
- Miguel-Hidalgo, J. J. (2018). Molecular Neuropathology of Astrocytes and Oligodendrocytes in Alcohol Use Disorders. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *11*(78). <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00078>
- Mink, R. B., & Johnston, J. A. (2000). Changes in brain neurofilament and beta-tubulin proteins after cerebral hypoxia-ischemia in rabbits. *Pathobiology*, *68*, 43-52. <https://doi.org/10.1159/000028114>

- Mitchell, G. A., Kassovska-Bratinova, S., Boukaftane, Y., Robert, M. F., Wang, S. P., Ashmarina, L., ... Potier, E. (1995). Medical aspects of ketone body metabolism. *Clinical and Investigative Medicine*, 18(3), 193-216.
- Murphy, E. J., Owada, Y., Kitanaka, N., Kondo, H., y Glatz, J. F. C. (2005). Brain arachidonic acid incorporation is decreased in heart fatty acid binding protein gene-ablated mice. *Biochemistry*, 44(16), 6360-6360 <https://doi.org/10.1021/bi047292r>
- Nelson, D. L., Cuchillo Foix, C. M., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2005). Lehninger: Principios de Bioquímica (4a. ed.). Barcelona: Omega. 75-89.
- Nock, M. K., Borges, G., Bromet, E. J., Cha, C. B., Kessler, R. C., y Lee, S. (2008). Suicide and suicidal behavior. *Epidemiologic Reviews* 30(1), 133-154. <https://doi.org/10.1093/epirev/mxn002>
- Oquendo, M. A., Currier, D., Liu, S.-M., Hasin, D. S., Grant, B. F., y Blanco, C. (2010). Increased Risk for Suicidal Behavior in Comorbid Bipolar Disorder and Alcohol Use Disorders. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 71(7), 902-909. <https://doi.org/10.4088/JCP.09m05198gry>
- Organización Mundial de la Salud OMS (2014). *Preventing suicide: A Global Imperative*. Disponible en: <https://www.who.int/mental_health/suicide-prevention/world_report_2014/en/>. Consultado el 13 de mayo del 2018.
- Organización Mundial de la Salud OMS (2018). Suicidio. Disponible en: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs398/es/>>. Consultado el 13 de Mayo del 2018
- Oveland, E., Muth, T., Rapp, E., Martens, L., Berven, F. S., y Barsnes, H. (2015). Viewing the proteome: How to visualize proteomics data? *Proteomics*, 15(8), 1341-1355. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400412>
- Pandey, G. N. (2013). Biological basis of suicide and suicidal behavior. *Bipolar Disorders*, 15(5), 524-541. <https://doi.org/10.1111/bdi.12089>
- Pandey, G. N., Rizavi, H. S., Ren, X., y Dwivedi, Y. (2011). Proinflammatory cytokines in teenage suicide brain. *Neuropsychopharmacology*, 46(1), 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2011.08.006>
- Pandey, G. N., Rizavi, H. S., Ren, X., Dwivedi, Y., y Palkovits, M. (2013). Region-specific alterations in glucocorticoid receptor expression in the postmortem brain of teenage suicide victims. *Psychoneuroendocrinology*, 38(11), 2628-2639. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.06.020>

- Pandey, G. N., Rizavi, H. S., Zhang, H., Bhaumik, R., y Ren, X. (2016). The expression of the suicide-associated gene SKA2 is decreased in the prefrontal cortex of suicide victims but not of nonsuicidal patients. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(8), 1-10. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw015>
- Patel, S. (2012). Role of proteomics in biomarker discovery and psychiatric disorders: Current status, potentials, limitations and future challenges. *Expert Review of Proteomics*, 9(3), 249-265 <https://doi.org/10.1586/epr.12.25>
- Pawlosky, R. J., Kashiwaya, Y., Srivastava, S., King, M. T., Crutchfield, C., Volkow, N., ... Veech, R. L. (2010). Alterations in brain glucose utilization accompanying elevations in blood ethanol and acetate concentrations in the rat. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 34(2), 375,381. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01099.x>
- Pelsers, M. M. A. L., Hanhoff, T., Van Der Voort, D., Arts, B., Peters, M., Ponds, R., ... Glatz, J. F. C. (2004). Brain- and heart-type fatty acid-binding proteins in the brain: Tissue distribution and clinical utility. *Clinical Chemistry*, 50(9), 1568-1575. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.030361>
- Perroud, N., Uher, R., Ng, M. Y. M., Guipponi, M., Hauser, J., Henigsberg, N., ... McGuffin, P. (2012). Genome-wide association study of increasing suicidal ideation during antidepressant treatment in the GENDEP project. *Pharmacogenomics Journal*, 12, 68-77. <https://doi.org/10.1038/tpj.2010.70>
- Peterson, G. L. (1977). A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry*. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4)
- Pham, X., Song, G., Lao, S., Goff, L., Zhu, H., Valle, D., y Avramopoulos, D. (2016). The DPYSL2 gene connects mTOR and schizophrenia. *Translational Psychiatry*, 6, e933. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.204>
- Posner, K., Oquendo, M. A., Gould, M., Stanley, B., y Davies, M. (2007). Columbia Classification Algorithm of Suicide Assessment (C-CASA): Classification of suicidal events in the FDA's pediatric suicidal risk analysis of antidepressants. *American Journal of Psychiatry*, 164(7), 1035–1043. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.164.7.1035>
- Qin, L., y Crews, F. T. (2012). NADPH oxidase and reactive oxygen species contribute to alcohol-induced microglial activation and neurodegeneration. *Journal of Neuroinflammation*, 9(5), 1-19. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-5>
- Ray, R. D., y Zald, D. H. (2012). Anatomical insights into the interaction of emotion and cognition in the prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(1) 479-501. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.08.005>

- Reddy, V. D., Padmavathi, P., Bulle, S., Hebbani, A. V., Marthadu, S. B., Venugopalacharyulu, N. C., ... Varadacharyulu, N. C. (2017). Association between alcohol-induced oxidative stress and membrane properties in synaptosomes: A protective role of vitamin E. *Neurotoxicology and Teratology*, *63*, 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2017.07.004>
- Ren, X., Rizavi, H. S., Khan, M. A., Dwivedi, Y., y Pandey, G. N. (2013). Altered Wnt signalling in the teenage suicide brain: Focus on glycogen synthase kinase-3 β and β -catenin. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *16*(5), 945-955. <https://doi.org/10.1017/S1461145712001010>
- Rendón-Ramírez, A., Cortés-Couto, M., Martínez-Rizo, A. B., Muñoz-Hernández, S., y Velázquez-Fernández, J. B. (2013). Oxidative damage in young alcohol drinkers: A preliminary study. *Alcohol*, *47*(7), 501-504. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.08.002>
- Robbins, T. W., & Arnsten, A. F. T. (2009). The Neuropsychopharmacology of Fronto-Executive Function: Monoaminergic Modulation. *Annual Review of Neuroscience*, *32*, 267-287. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135535>
- Robinson, A. A., Westbrook, J. A., English, J. A., Borén, M., y Dunn, M. J. (2009). Assessing the use of thermal treatment to preserve the intact proteomes of post-mortem heart and brain tissue. *Proteomics*, *9*(19), 4433-4444. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900287>
- Ruiz-perez, D., y Narasimhan, G. (2017). So you think you can PLS-DA ? *BioRxiv*. <http://doi.org/10.1101/207225>
- Saba, L. M., Bennett, B., Hoffman, P. L., Barcomb, K., Ishii, T., Kechris, K., y Tabakoff, B. (2011). A systems genetic analysis of alcohol drinking by mice, rats and men: Influence of brain GABAergic transmission. *Neuropharmacology* *60*(7-8), 1269-1280. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.12.019>
- Salloum, N. C. (2017). Suicidal Behavior: a distinct psychobiology? *American Journal of Psychiatry Residents Journal*. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp-rj.2017.120101>
- Sarchiapone, M., Roy, A., Camardese, G., y De Risio, S. (2000). Further evidence for low serum cholesterol and suicidal behaviour. *Journal of Affective Disorders*, *61*(1-2), 69-71. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(99\)00198-6](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(99)00198-6)
- Sarchiapone, M., D'Aulerio, M., y Iosue, M. (2015). Suicidal Ideation, Suicide Attempts and Completed Suicide in Adolescents: Neurobiological Aspects. *Advances in Biological Psychiatry*, *30*, 11-20. <https://doi.org/10.1159/000435767>

- Schlicht, K., Büttner, A., Siedler, F., Scheffer, B., Zill, P., Eisenmenger, W., ... Bondy, B. (2007). Comparative proteomic analysis with postmortem prefrontal cortex tissues of suicide victims versus controls. *Journal of Psychiatric Research*, 41(6), 493-501. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.04.006>
- Schmidt, A. P., Lara, D. R., y Souza, D. O. (2007). Proposal of a guanine-based purinergic system in the mammalian central nervous system. *Pharmacology and Therapeutics*, 116(3), 401-416. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.07.004>
- Schult, D., Hölsken, A., Buchfelder, M., Schlaffer, S. M., Siegel, S., Kreitschmann-Andermahr, I., ... Buslei, R. (2015). Expression pattern of neuronal intermediate filament α -internexin in anterior pituitary gland and related tumors. *Pituitary*, 18(4), 465-473. <https://doi.org/10.1007/s11102-014-0597-2>
- Seamans, J. K., & Yang, C. R. (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in Neurobiology*, 74(1), 1-58. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.05.006>
- Semancikova, E., Tkacikova, S., Talian, I., Bober, P., Tomeckova, V., y Hertelyova, Z. (2018). Proteomic Analysis of Cerebrospinal Fluid in Suicidal Patients - A Pilot Study. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 11(5), 117-119. <https://doi.org/10.4172/jpb.1000476>
- Sethi, S., Chourasia, D., y Parhar, I. S. (2015). Approaches for targeted proteomics and its potential applications in neuroscience. *Journal of Biosciences*, 40 (3), 607-627. <https://doi.org/10.1007/s12038-015-9537-1>
- Shaffer, D., Gould, M. S., Fisher, P., Trautman, P., Moreau, D., Kleinman, M., y Flory, M. (1996). Psychiatric diagnosis in child and adolescent suicide. *Archives of General Psychiatry*, 53, 339-348. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1996.01830040075012>
- Shelton, R. C., Hal Manier, D., y Lewis, D. A. (2009). Protein kinases A and C in post-mortem prefrontal cortex from persons with major depression and normal controls. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(9), 1223-1232. <https://doi.org/10.1017/S1461145709000285>
- Soreff SM, Attia FN. Suicide Risk. [actualizado el 2017 Jun 13]. Disponible: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441982/>>. Consultado el 13 de mayo del 2018
- Spitzka, E. C. (2012). SUICIDE, an Essay on Comparative Moral Statistics. *Science*, os-3(81), 20-21. <https://doi.org/10.1126/science.os-3.81.20-a>
- Sullivan, S. M. (2014). GFAP variants in health and disease: Stars of the brain... and gut. *Journal of Neurochemistry*, 130(6), 729-732. <https://doi.org/10.1111/jnc.12754>

- Tambor, V., Fučíková, A., Lenčo, J., Kacerovský, M., Řeháček, V., Stulík, J., y Pudil, R. (2010). Application of proteomics in biomarker discovery: A primer for the clinician. *Physiological Research*, 59(4), 471-497.
- Tomás, M., Marín, P., Megías, L., Egea, G., y Renau-Piqueras, J. (2005). Ethanol perturbs the secretory pathway in astrocytes. *Neurobiology of Disease*, 20(3), 773-784. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.05.012>
- Torres-Platas, S. G., Nagy, C., Wakid, M., Turecki, G., y Mechawar, N. (2016). Glial fibrillary acidic protein is differentially expressed across cortical and subcortical regions in healthy brains and downregulated in the thalamus and caudate nucleus of depressed suicides. *Molecular Psychiatry* 21, 509-515. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.65>
- Turecki, G.¹ (2014). Epigenetics and suicidal behavior research pathways. *American Journal of Preventive Medicine*, 47(3 SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2014.06.011>
- Turecki, G.¹ (2014). The molecular bases of the suicidal brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(12), 802–816. <https://doi.org/10.1038/nrn3839>
- Turecki, G.², y Brent, D. A. (2016). Suicide and suicidal behavior. *The Lancet*, 387(10024), 1227–1239. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00234-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00234-2)
- Tykhomyrov, A., Pavlova, A. S., y Nedzvetsky, V. S. (2016). Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP): on the 45th Anniversary of Its Discovery. *Neurophysiology*, 48(1), 54–71. <https://doi.org/10.1007/s11062-016-9568-8>
- Underwood, M. D., Mann, J. J., y Arango, V. (2004). Serotonergic and Noradrenergic Neurobiology of Alcoholic Suicide. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(s1), 57s-69s. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000127415.15000.CA>
- Vargas, H. O., Nunes, S. O. V., De Castro, M. P., Bortolasci, C. C., Barbosa, D. S., Morimoto, H. K., ... Berk, M. (2013). Oxidative stress and lowered total antioxidant status are associated with a history of suicide attempts. *Journal of Affective Disorders*, 150(3), 923-930. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.05.016>
- Verrills, N. M. (2006). Clinical proteomics: present and future prospects. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 27(2), 99-116
- Vijayakumar, L., Kumar, M. S., y Vijayakumar, V. (2011). Substance use and suicide. *Current Opinion in Psychiatry*, 24(3), 197-202. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3283459242>

- Vincent, P., Collette, Y., Marignier, R., Vuailat, C., Rogemond, V., Davoust, N., ... Giraudon, P. (2005). A Role for the Neuronal Protein Collapsin Response Mediator Protein 2 in T Lymphocyte Polarization and Migration. *The Journal of Immunology*, 175(11), 7650-7660 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.11.7650>
- Vinod, K. Y., Arango, V., Xie, S., Kassir, S. A., Mann, J. J., Cooper, T. B., y Hungund, B. L. (2005). Elevated levels of endocannabinoids and CB1 receptor-mediated G-protein signaling in the prefrontal cortex of alcoholic suicide victims. *Biological Psychiatry*, 57(5), 480-486. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.033>
- Volkow, N. D., Kim, S. W., Wang, G. J., Alexoff, D., Logan, J., Muench, L., ... Tomasi, D. (2013). Acute alcohol intoxication decreases glucose metabolism but increases acetate uptake in the human brain. *NeuroImage* 64, 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.08.057>
- Wang, G. J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Franceschi, D., Wong, C. T., Pappas, N. R., ... Ma, Y. (2003). Alcohol intoxication induces greater reductions in brain metabolism in male than in female subjects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27(6), 909-917 <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000071740.56375.BA>
- Wang, J. F., Shao, L., Sun, X., y Young, L. T. (2009). Increased oxidative stress in the anterior cingulate cortex of subjects with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disorders*, 11(5), 523-229. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00717.x>
- Wang, J., Du, H., Jiang, L., Ma, X., de Graaf, R. A., Behar, K. L., y Mason, G. F. (2013). Oxidation of ethanol in the rat brain and effects associated with chronic ethanol exposure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(35), 14444-14449. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306011110>
- Wanpen, S., Govitrapong, P., Shavali, S., Sangchot, P., y Ebadi, M. (2004). Salsolinol, a dopamine-derived tetrahydroisoquinoline, induces cell death by causing oxidative stress in dopaminergic SH-SY5Y cells, and the said effect is attenuated by metallothionein. *Brain Research*, 1005(1-2), 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.01.054>
- Wilcox, H. C. (2004). Epidemiological Evidence on the Link Between Drug Use and Suicidal Behaviors Among Adolescents. *The Canadian Child and Adolescent Psychiatry Review*, 13(2), 27-30.
- World health Organization WHO. (2004). Suicide huge but preventable public health problem, says WHO. World suicide prevention day--10 September. Disponible en: < <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr61/en/>>. Consultado el 13 de mayo del 2018
- Wu, Y., Fu, Y., Rao, C., Li, W., Liang, Z., Zhou, C., ... Xie, P. (2016). Metabolomic analysis reveals metabolic disturbances in the prefrontal cortex of the

- lipopolysaccharide-induced mouse model of depression. *Behavioural Brain Research*, 308, 115-117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.04.032>
- Yang, Y., Chen, J., Liu, C., Fang, L., Liu, Z., Guo, J., ... Xie, P. (2016). The Extrinsic Coagulation Pathway: A Biomarker for Suicidal Behavior in Major Depressive Disorder. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep32882>
- Yang, Z., y Wang, K. K. W. (2015). Glial fibrillary acidic protein: From intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends in Neurosciences*, 38(6), 364-374. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.04.003>
- Yuodelis-Flores, C., y Ries, R. K. (2015). Addiction and suicide: A review. *American Journal on Addictions*, 24(2), 98–104. <https://doi.org/10.1111/ajad.12185>
- Zahr, N. M., Kaufman, K. L., y Harper, C. G. (2011). Clinical and pathological features of alcohol-related brain damage. *Nature Reviews Neurology*, 7, 284-294. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.42>
- Zelazo, P. D., Blair, C. B., Willoughby, M. T., Larson, M., Officer, P., Higgins, E., y Sussman, A. (2016). Executive Function: Implications for Education. *U.S. Department of Education*, 1–148. Disponible en: <https://files.eric.ed.gov/fulltext/ED570880.pdf> <http://ies.ed.gov/ncer/pubs/20172000/> Consultado el 19 de abril del 2019
- Zhong, Y., Dong, G., Luo, H., Cao, J., Wang, C., Wu, J., ... Yue, J. (2012). Induction of brain CYP2E1 by chronic ethanol treatment and related oxidative stress in hippocampus, cerebellum, and brainstem. *Toxicology*, 302(2-3), 275-284. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.08.009>

XIV. APÉNDICE

A continuación, se muestran las imágenes obtenidas a partir de la electroforesis en segunda dimensión y que posteriormente fueron analizadas en el software PD-Quest.

13.1 Imágenes de controles

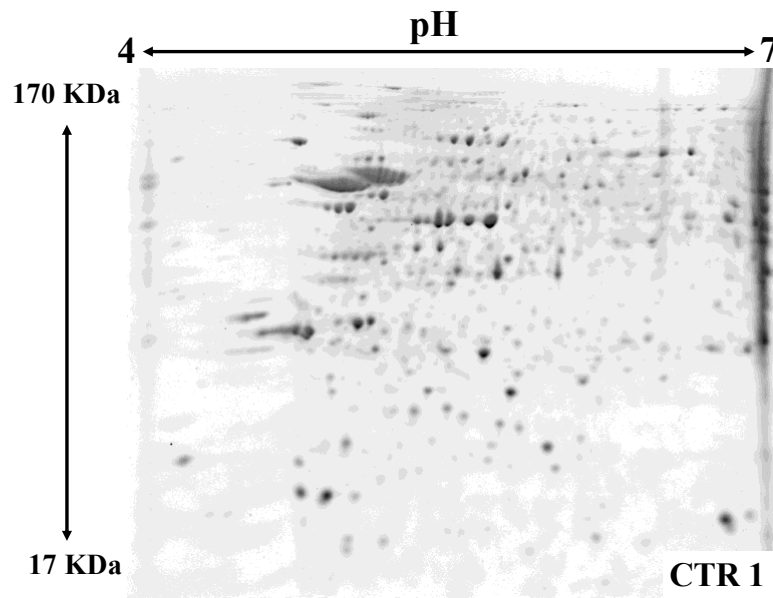


Figura A 1. Gel de poliacrilamida del control 1 (CTR 1).

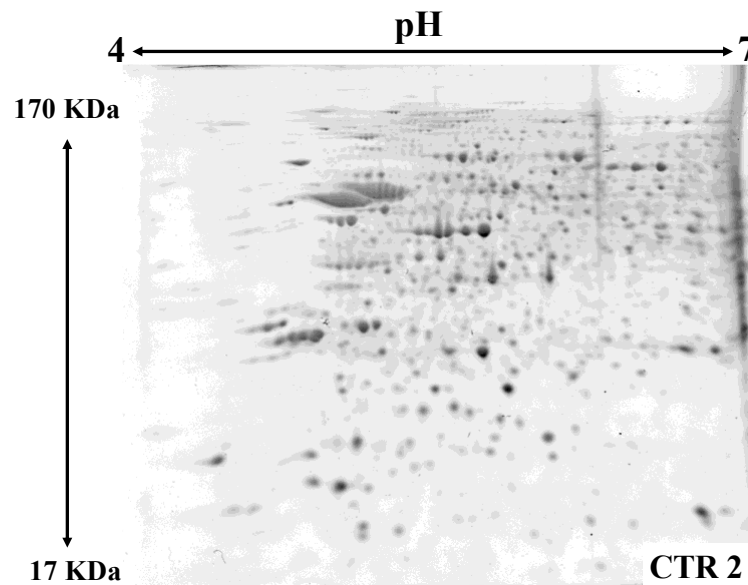


Figura A 2. Gel de poliacrilamida del control 2 (CTR 2).

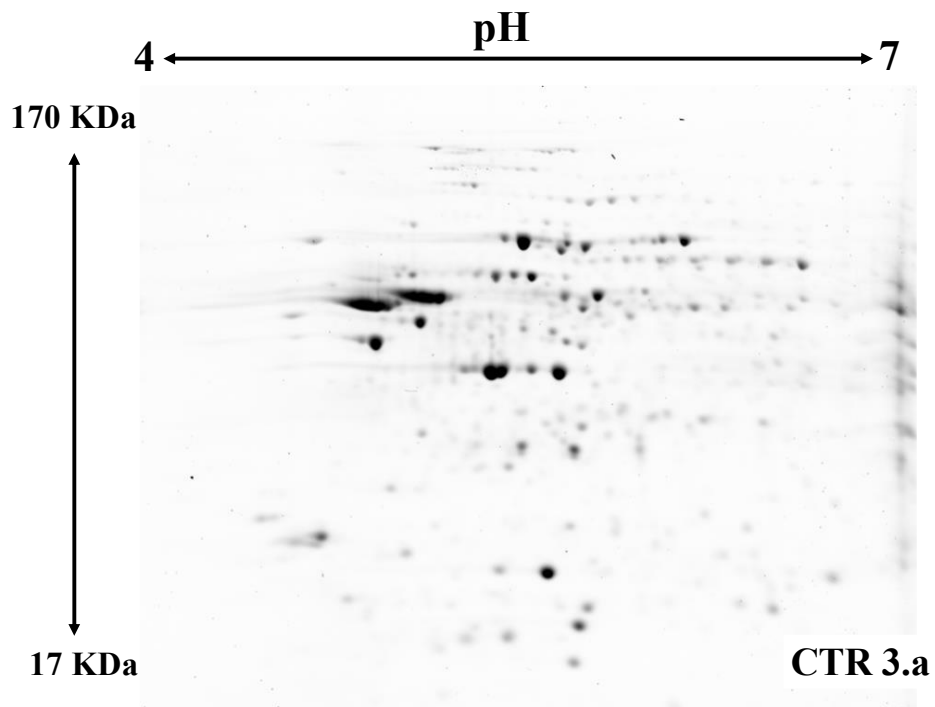


Figura A 3. Gel de poliacrilamida del control 3 (CTR 3.a)

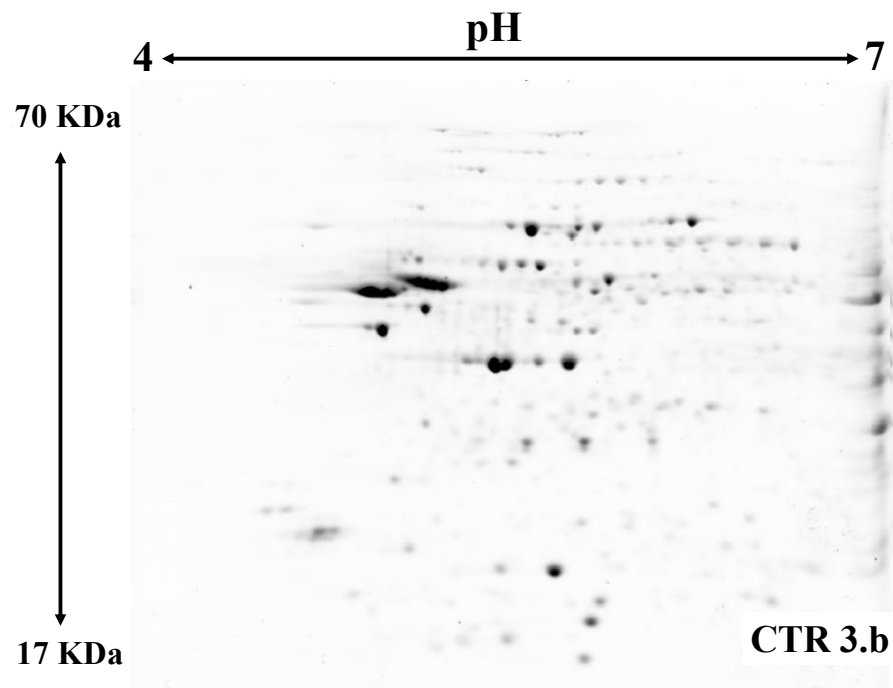


Figura A 4. Gel de poliacrilamida del control 3, réplica (CTR 3.b)

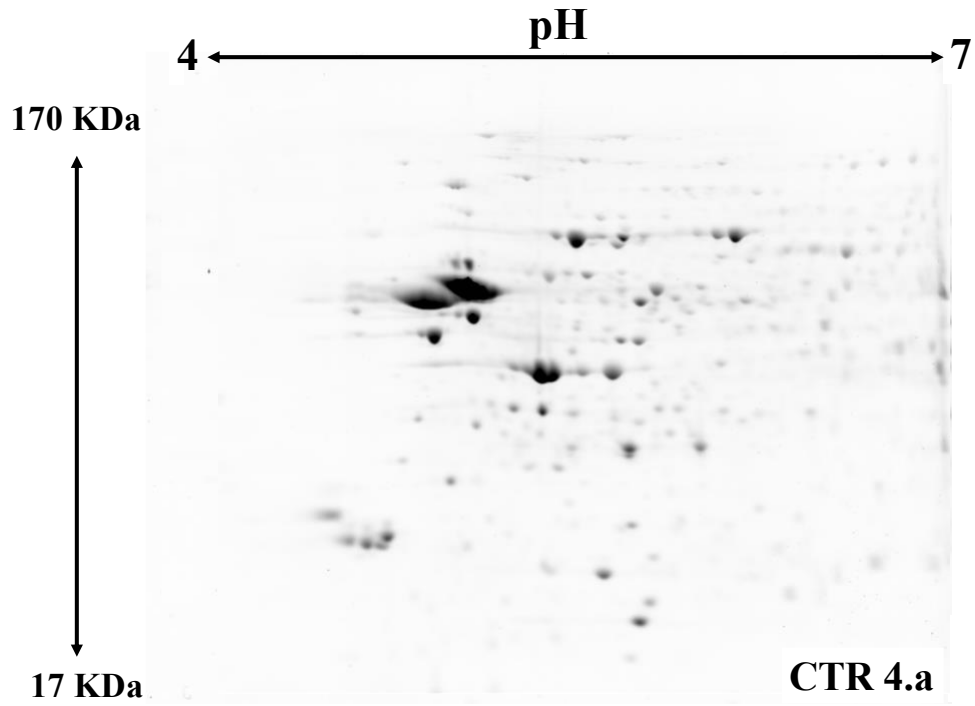


Figura A 5. Gel de poliacrilamida del control 4 (CTR 4.a)

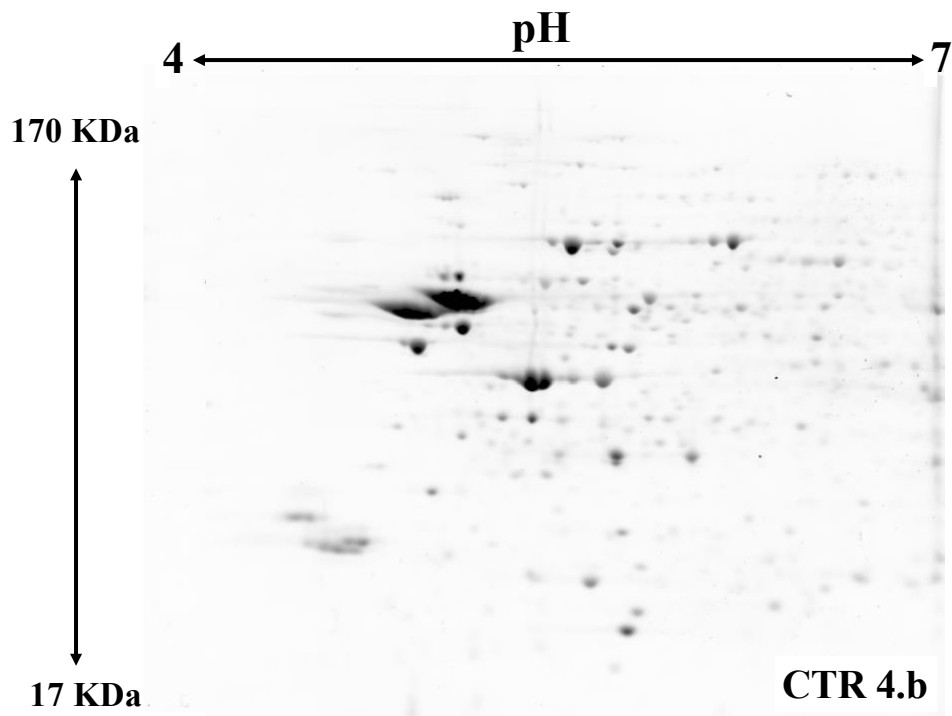


Figura A 6. Gel de poliacrilamida del control 4, réplica (CTR 4.b)

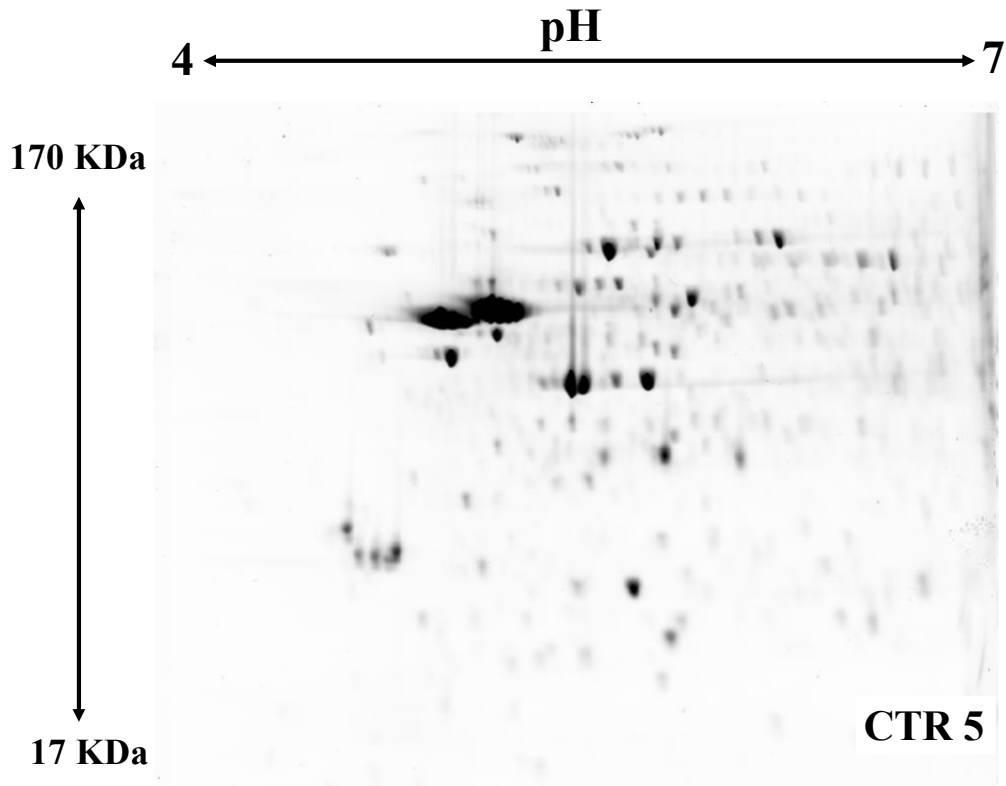


Figura A 7. Gel de poliacrilamida del control 5 (CTR 5)

13.2 Imágenes de casos de suicidio

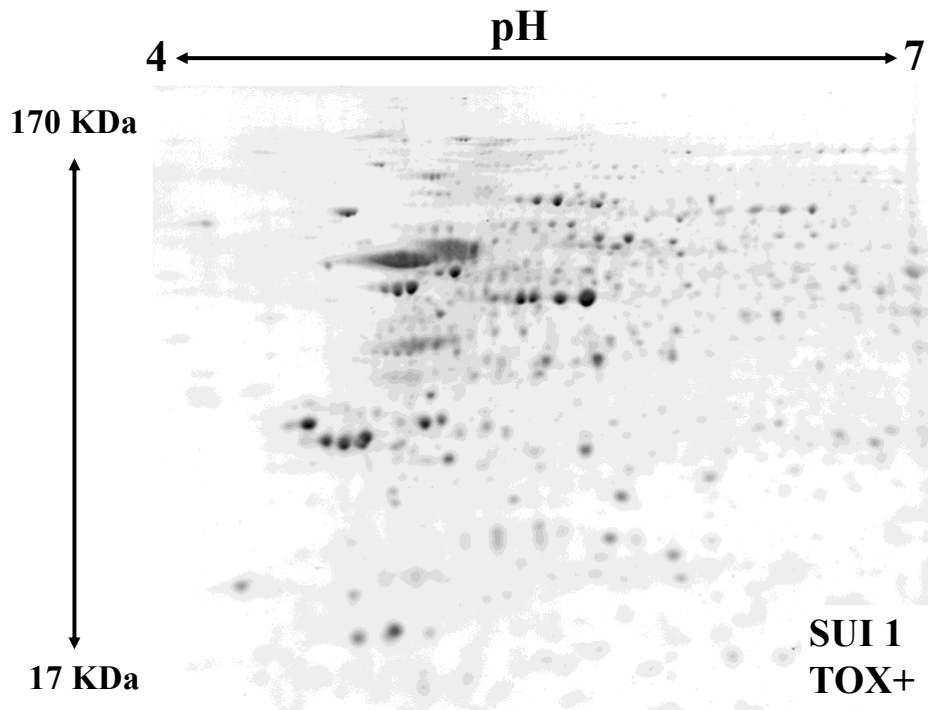


Figura A 8. Gel de poliacrilamida de caso 1 de suicidio con toxicología negativa (SUI 1 TOX-)

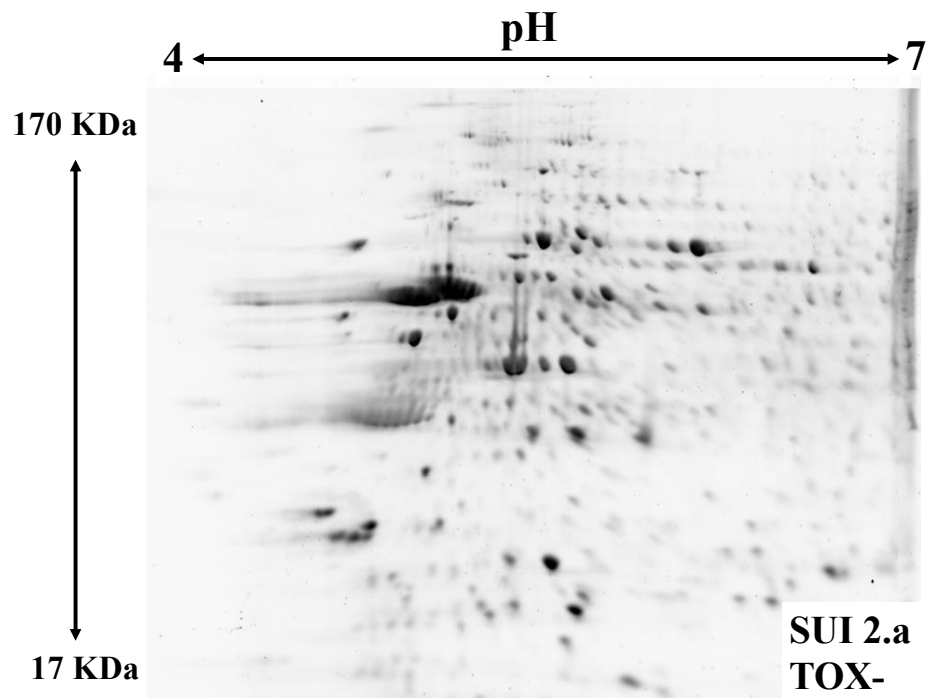


Figura A 9. Gel de poliacrilamida de caso 2 de suicidio con toxicología negativa (SUI 2.a TOX-)

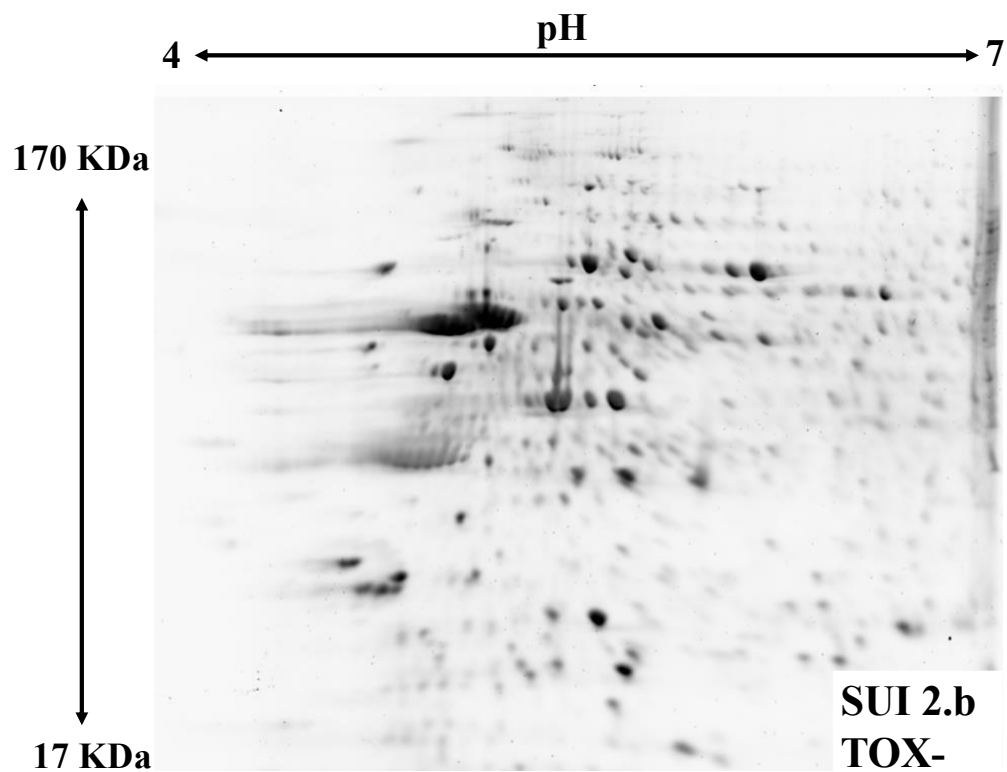


Figura A 10. Gel de poliacrilamida de caso 2 de suicidio con toxicología negativa, réplica (SUI 2.b TOX-)

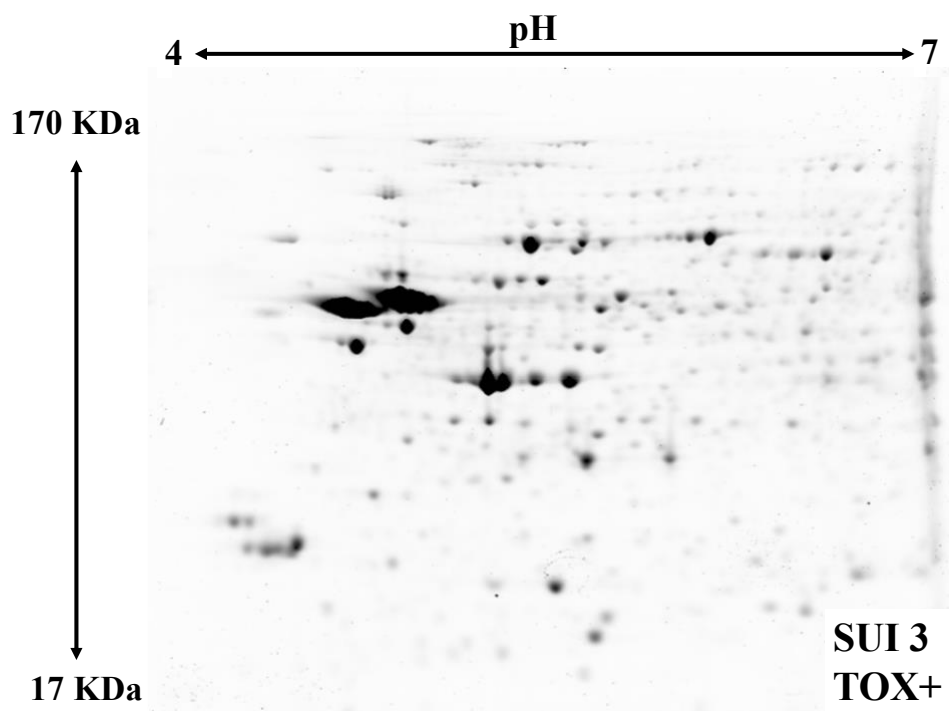


Figura A 11. Gel de poliacrilamida de caso 3 de suicidio con toxicología positiva (SUI 3 TOX+)

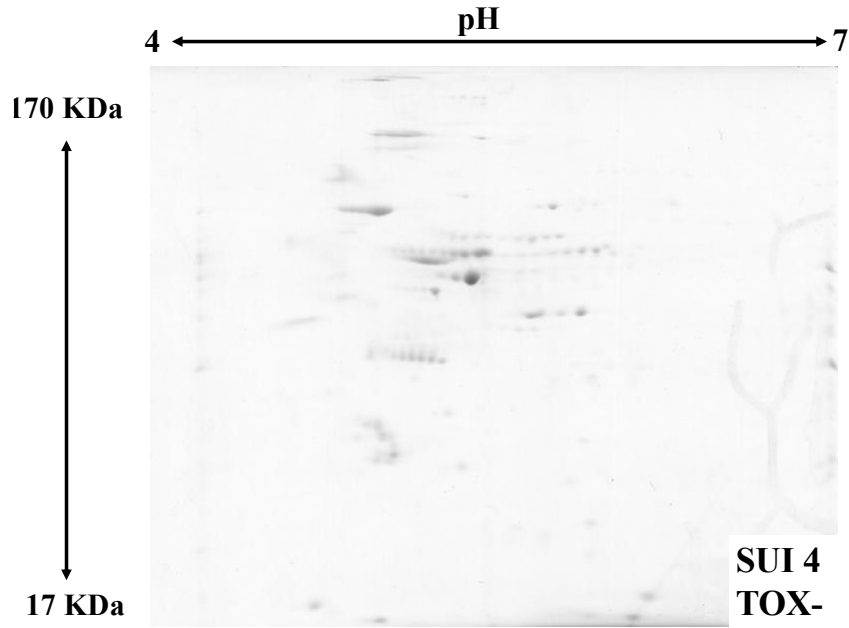


Figura A 12. Gel de poliacrilamida de caso 4 de suicidio con toxicología negativa (SUI 4 TOX-)

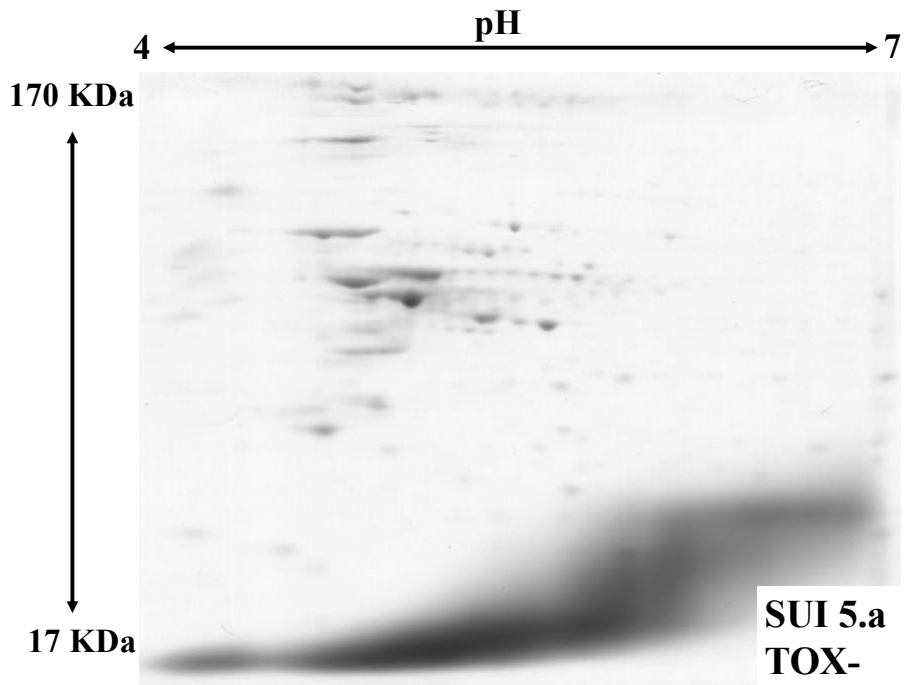


Figura A 13. Gel de poliacrilamida de caso 5 de suicidio con toxicología negativa (SUI 5.a TOX-)

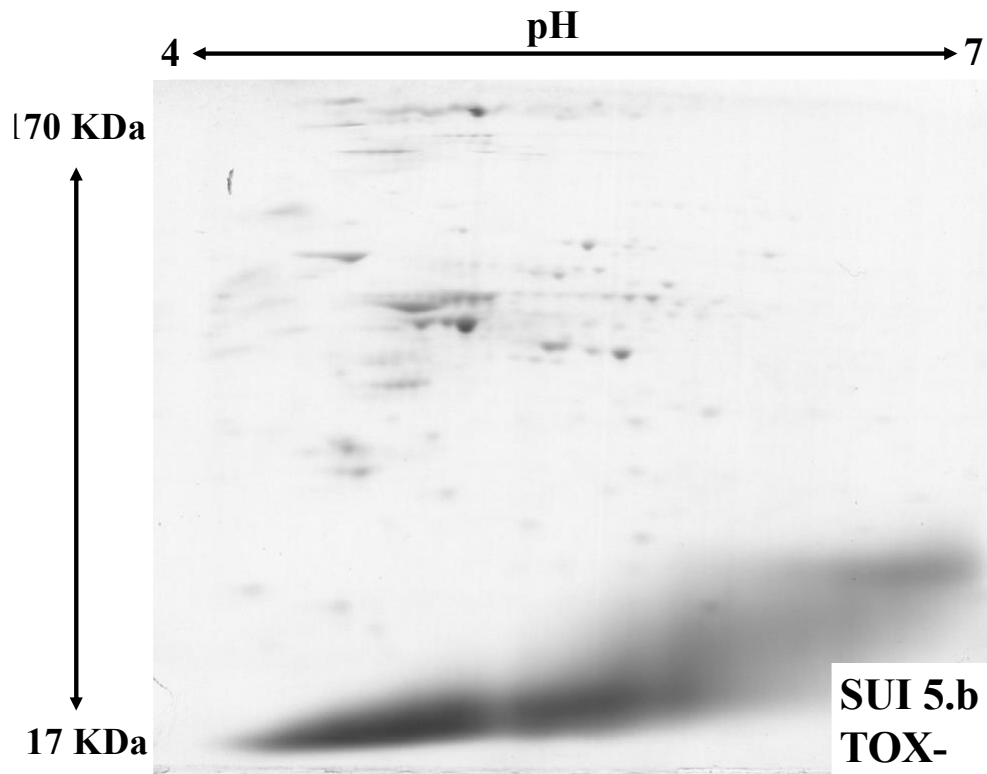


Figura A 14. Gel de poliacrilamida de caso 5 de suicidio con toxicología negativa, réplica (SUI 5.b TOX-)

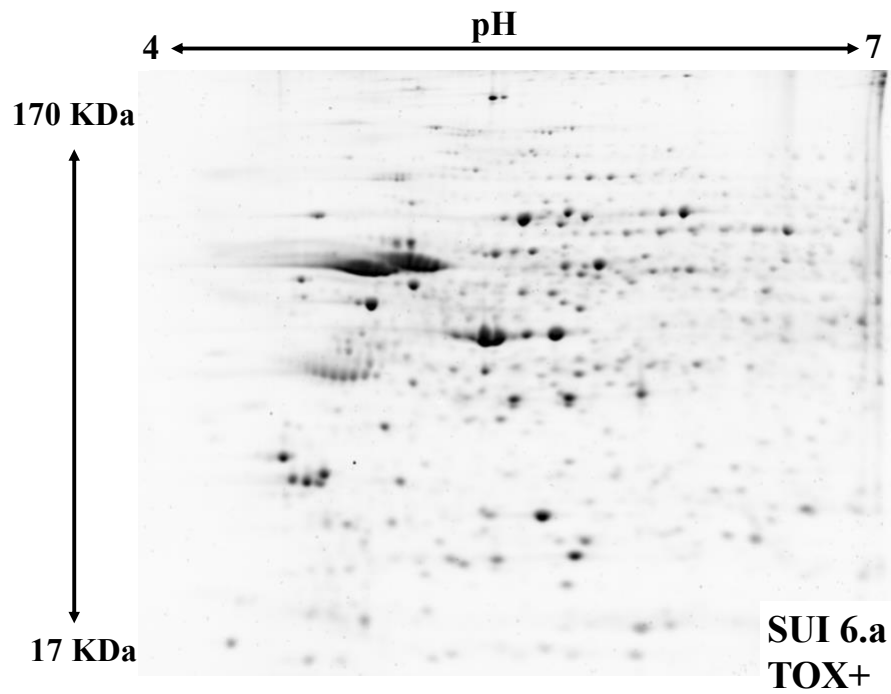


Figura A 15. Gel de poliacrilamida de caso 6 de suicidio con toxicología positiva (SUI 6.a TOX+)

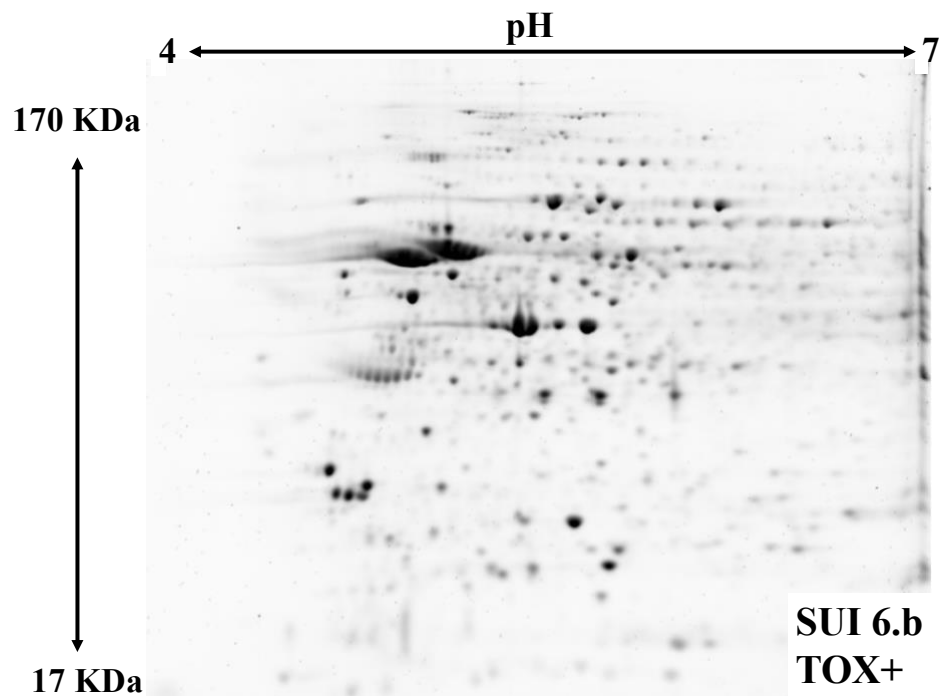


Figura A 16. Gel de poliacrilamida de caso 6 de suicidio con toxicología positiva, réplica (SUI 6.b TOX+)

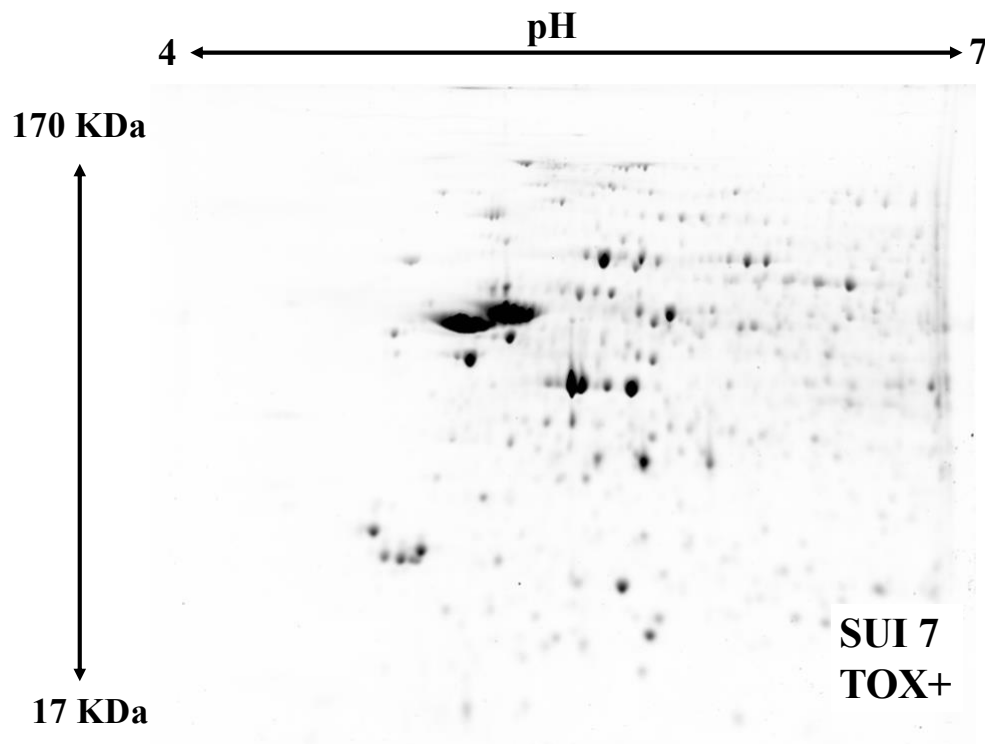


Figura A 17. Gel de poliacrilamida de caso 7 de suicidio con toxicología positiva (SUI 7 TOX+)

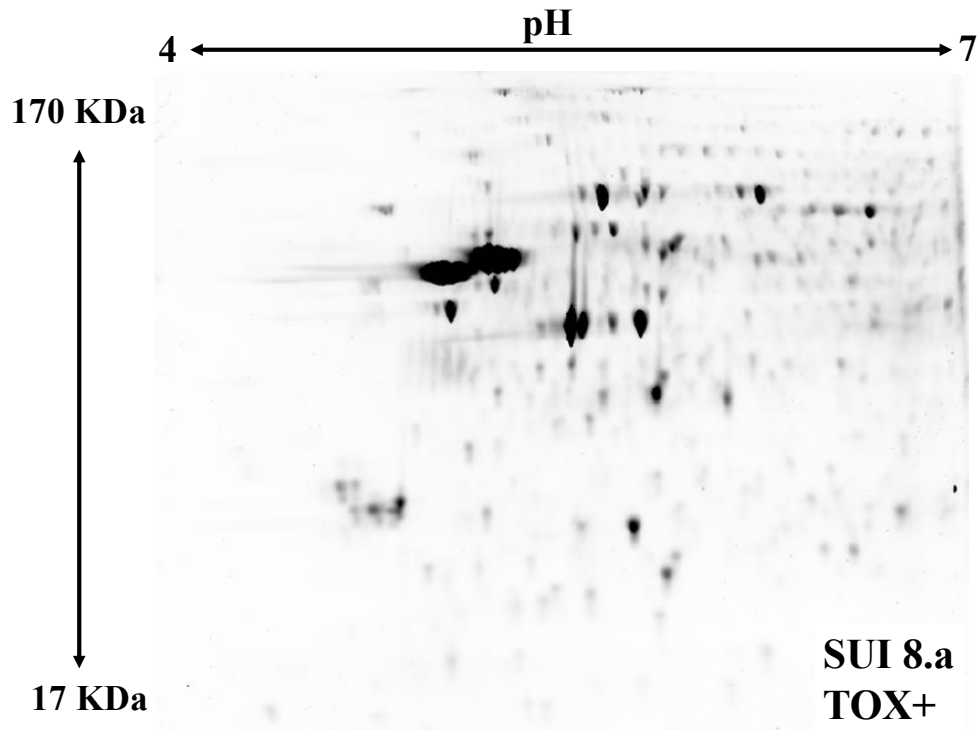


Figura A 18. Gel de poliacrilamida de caso 8 de suicidio con toxicología positiva (SUI 8.a TOX+)

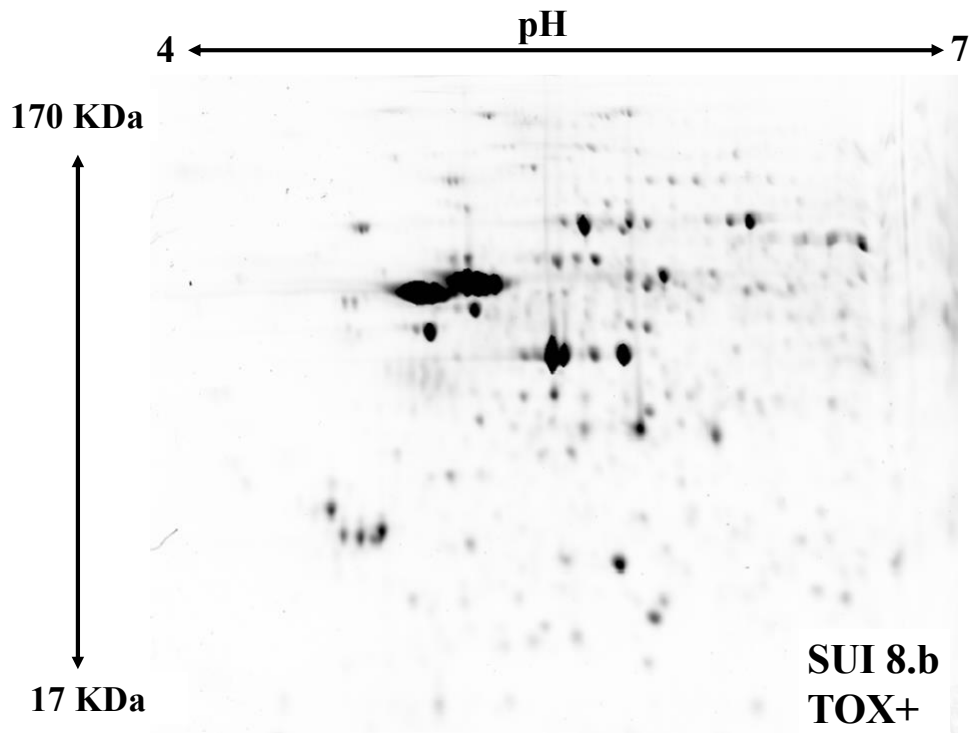


Figura A 19. Gel de poliacrilamida de caso 8 de suicidio con toxicología positiva, réplica (SUI 8.b TOX+)