

# UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

---

División Académica de Ciencias de la Salud



**“Relación de los polimorfismos de un solo nucleótido con alteraciones en redes de cometilación del ADN de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria.”**

**Tesis que para obtener el Grado de  
Maestro en Ciencias Biomédicas**

**Presenta:**

**Germán Alberto Nolasco Rosales**

**Directores:**

**Dra. Isela Esther Juárez Rojop**

**Dr. José Jaime Martínez Magaña**

**Villahermosa, Tabasco.**

**Febrero 2022**



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División  
Académica  
de Ciencias de  
la Salud



Dirección

Of. No. 00129/DACS/JAEP

10 de febrero de 2022

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

**C. Germán Alberto Nolasco Rosales**

Maestría en Ciencias Biomédicas

Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores, Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zarate, Dra. en C. Thelma Beatriz González Castro, Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego, Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop, Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña, impresión de la tesis titulada: "**Relación de los polimorfismos de un solo nucleótido con alteraciones en redes de cometilación del ADN de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria**", para sustento de su trabajo recepcional de la Maestría en Ciencias Biomédicas, donde funge como Director de Tesis la Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop y el Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña.

Atentamente

**Dra. Mirian Carolina Martínez López**

Directora



- C.c.p.- C. Isela Esther Juárez Rojop.- Director de tesis
- C.c.p.- Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña.- Director de tesis
- C.c.p.- Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zarate.- sinodal
- C.c.p.- Dra. en C. Thelma Beatriz González Castro.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop.- Sinodal
- C.c.p.- Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña.- Sinodal



Miembro CUMEX desde 2008  
**Consorcio de  
Universidades  
Mexicanas**  
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Av. Crnel. Gregorio Méndez Magaña, No. 2838-A,  
Col. Tamulté de las Barrancas,

C.P. 86150, Villahermosa, Centro, Tabasco

Tel.: (993) 3581500 Ext. 6300, e-mail: direccion.dacs@ujat.mx



### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa Tabasco, siendo las 10:00 horas del día 01 del mes de febrero de 2022 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

**"Relación de los polimorfismos de un solo nucleótido con alteraciones en redes de cometilación del ADN de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria"**

Presentada por el alumno (a):

Nolasco	Rosales	Germán Alberto
Apellido Paterno	Materno	Nombre (s)

Con Matricula

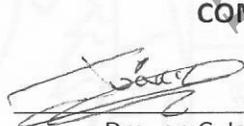
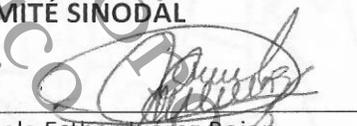
2	0	1	E	5	7	0	0	5
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al Grado de:

#### Maestro en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

#### COMITÉ SINODAL

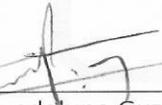
Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop  
Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña  
Directores de Tesis



Dr. Carlos Alfonso Tovilla Zarate



Dra. en C. Thelma Beatriz González Castro



Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego



Dra. en C. Isela Esther Juárez Rojop



Dr. en C. José Jaime Martínez Magaña

## Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 27 del mes de enero del año 2021, el que suscribe, Germán Alberto Nolasco Rosales, alumno del programa de la Maestría en Ciencias Biomédicas, con número de matrícula 201E57005 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **“Relación de los polimorfismos de un solo nucleótido con alteraciones en redes de cometilación del ADN de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria.”**, bajo la Dirección de la Dra. Isela Esther Juárez Rojop y el Dr. José Jaime Martínez Magaña. Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31, el alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: [ganr\\_1277@live.com.mx](mailto:ganr_1277@live.com.mx) Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Germán Alberto  
Nolasco Rosales

Germán Alberto Nolasco Rosales

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE  
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello

## **Reconocimientos institucionales**

A CONACYT, por concederme la beca con el número de apoyo 762698 durante el curso de mis estudios de maestría.

Al INMEGEN, por contribuir con los materiales y el equipo necesario para obtener y procesar los datos de esta investigación.

A la UJAT, por proporcionar el espacio de trabajo y los estudios necesarios para mi formación.

## **Dedicatorias**

A mis asesores. Dra. Isela, Dr. Jaime, Dra. Thelma, Dr. Carlos y Dra Crystell. Por sus enseñanzas y sus acertados comentarios, todos contribuyendo no solo a refinar este trabajo sino también a mi formación académica.

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A mis compañeras Zeniff e Itzel, por hacer más ameno el trabajar en una época de aislamiento social.

## **Agradecimientos**

Al Hospital Psiquiátrico Infantil "Dr. Juan N. Navarro", por aportar los pacientes necesarios para la realización de este estudio.

## Índice

Índice de tablas .....	IV
Índice de figuras .....	V
Abreviaturas y siglas .....	VII
Resumen .....	VIII
Abstract .....	IX
1. Introducción .....	1
1.1. Trastornos de la conducta alimentaria .....	1
1.2. Etiología de los TCA. ....	2
1.3. Genética de los TCA. ....	3
1.4. Metilación del ADN en los TCA. ....	5
1.5. Integración de información genética y epigenética. ....	9
2. Planteamiento del problema. ....	13
2.1. Justificación. ....	14
2.2. Pregunta de investigación .....	15
2.3. Objetivos. ....	15
2.3.1. Objetivo general. ....	15
2.3.2. Objetivos específicos. ....	15
3. Material y Métodos. ....	16
3.1. Diseño del estudio. ....	16
3.2. Población de Estudio. ....	16
3.3. Instrumentos de evaluación. ....	16
3.4. Hibridación con microarreglo Psycharray .....	17
3.5. Hibridación con microarreglo MethylationEPIC .....	17
3.6. Control de calidad de los datos de genotipificación. ....	17
3.7. Control de calidad de los valores de metilación del ADN. ....	18
3.8. Construcción de las redes de cometilación. ....	19
3.9. Análisis de enriquecimiento de los módulos. ....	20
3.10. Correlación de las redes de cometilación con los polimorfismos de un solo nucleótido. ....	20
3.11. Consideraciones éticas. ....	21
4. Resultados .....	23
4.1. Características de la población. ....	23

4.2.	Control de calidad de los datos de genotipificación. ....	24
4.3.	Control de calidad de los datos de metilación. ....	24
4.4.	Agrupación jerárquica y análisis de topología de red. ....	25
4.5.	Características de los módulos de cometilación. ....	28
4.6.	Vías enriquecidas en cada módulo. ....	30
4.7.	Correlaciones de módulos con características clínicas en nuestra población. ....	31
4.8.	Correlaciones de SNP con los módulos. ....	33
4.9.	PheWAS de los SNP correlacionados. ....	34
5.	Discusión. ....	36
5.1.	Correlaciones con el IMC. ....	36
5.2.	Correlaciones con complicaciones cardíacas. ....	39
5.3.	Correlaciones con comorbilidades psiquiátricas. ....	40
5.4.	Correlaciones con enfermedades autoinmunes. ....	41
5.5.	Enriquecimientos de vías significativos. ....	42
5.6.	Limitaciones del estudio. ....	43
6.	Conclusiones. ....	45
7.	Bibliografía. ....	46
Anexo 1.	Actividades realizadas durante la maestría. ....	55
Anexo 2.	Artículos publicados. ....	59
Anexo 3.	Tablas anexas. ....	61

## Índice de tablas

<b>Tablas</b>		<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1</b>	Características clínicas de la población de estudio.	23
<b>Tabla 2</b>	Clasificación de los sitios CpG de los módulos.	29
<b>Tabla 3</b>	Posición de los sitios CpG de los módulos con respecto a las islas CpG.	29
<b>Tabla 4</b>	Mediana y rango intercuartil de los valores beta.	30
<b>Tabla 5</b>	Anotaciones de los SNP correlacionados con los módulos.	34

## Índice de figuras

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b>	Efecto de los SNPs sobre el ARNm y las proteínas.	4
<b>Figura 2</b>	Efecto de la metilación del ADN sobre su transcripción.	6
<b>Figura 3</b>	Esquema del funcionamiento de WGCNA.	11
<b>Figura 4</b>	Esquema general.	22
<b>Figura 5</b>	Histograma de las desviaciones estándar de los valores beta de los sitios CpG.	25
<b>Figura 6</b>	Dendrograma de agrupación de las muestras con los sitios CpG con DE >0.10.	26
<b>Figura 7</b>	Dendrograma de agrupación de las muestras.	26
<b>Figura 8</b>	Análisis de topología de red del punto de corte DE >0.10.	27
<b>Figura 9</b>	Análisis de topología de red del punto de corte DE >0.06.	28
<b>Figura 10</b>	Vías enriquecidas en los módulos azul y turquesa.	31

<b>Figura 11</b>	Mapa de calor de las correlaciones entre módulos y características clínicas.	32
<b>Figura 12</b>	Fenotipos asociados a los SNP correlacionados con los módulos.	35
<b>Figura 13</b>	Efecto de rs10494217 (TBX15, p.His50Asn) sobre la adiposidad corporal.	38
<b>Figura 14</b>	Correlaciones más significativas de los módulos de cometilación.	43

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## Abreviaturas y siglas

<b>AN</b>	Anorexia nervosa
<b>BN</b>	Bulimia nervosa
<b>CpG</b>	Metilación del carbono número 5 en los residuos de citosina que forman dinucleótidos con guanina
<b>DSM 5</b>	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5.</i> Manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales 5.
<b>EAT-26</b>	<i>Eating Attitudes Test</i> Prueba de actitudes hacia la alimentación.
<b>EWAS</b>	<i>Epigenome-Wide Association Studies.</i> Estudios de asociación de epigenoma completo.
<b>GWAS</b>	<i>Genome-Wide Association Studies.</i> Estudios de asociación de genoma completo.
<b>MINI-KID</b>	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview for Children and Adolescent.</i> Mini entrevista neuropsiquiátrica internacional para niños y adolescentes.
<b>QEWP-5</b>	<i>Questionnaire on Eating and Weight Pattern-Revised.</i> Cuestionario de patrones de la alimentación y peso, revisado.
<b>SNP</b>	<i>Single nucleotide polymorphism.</i> Polimorfismos de un solo nucleótido.
<b>SVD</b>	<i>Singular value decomposition.</i> Descomposición de valor singular.
<b>TCA</b>	Trastorno de la conducta alimentaria
<b>TPA</b>	Trastorno por atracones
<b>WGCNA</b>	<i>Weighted Gene Correlation Network Analysis.</i> Análisis de redes de correlación ponderadas de genes.

## Resumen

**Antecedentes.** Los trastornos de la conducta alimentaria (TCA) son enfermedades psiquiátricas caracterizadas por alteraciones en la conducta relacionada con la alimentación. Tienen una etiología compleja donde interactúan los factores genéticos y ambientales. Analizar las interacciones genético-ambientales, mediante datos de metilación del ADN y sus polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), ayuda a identificar posibles mecanismos involucrados en la etiología de los TCA.

**Material y métodos.** Los microarreglos MethylationEPIC y Psycharray se utilizaron para determinar los niveles de metilación del ADN y los genotipos de 63 adolescentes con TCA. Los módulos de cometilación se formaron mediante el paquete WGCNA (Weighted Gene Correlation Network Analysis) para R. Se realizó enriquecimiento funcional de los genes de los módulos con WebGestalt. Posteriormente, se correlacionaron los módulos con SNPs y las características clínicas de nuestros sujetos.

**Resultados.** Se formaron 11 módulos de cometilación a partir de 11 418 sitios CpG, los cuales se correlacionaron con 193 314 SNP. Los módulos se correlacionaron significativamente con SNPs asociados a IMC, altura, anomalías cardíacas, otras enfermedades psiquiátricas y enfermedades autoinmunes. Asimismo, dos módulos mostraron enriquecimientos funcionales relacionados con el sistema inmunológico y el desarrollo.

**Conclusiones.** Dos módulos de cometilación se correlacionaron con características físicas y SNPs asociados a fenotipos relacionados. En particular, el SNP de TBX15 p.His50Asn posiblemente influya en la adiposidad de individuos con TCA. Por otra parte, los enriquecimientos relacionados al sistema inmunológico posiblemente se deban al uso de sangre periférica para el análisis.

**Palabras clave:** trastornos de la conducta alimentaria, metilación del ADN, polimorfismos de un solo nucleótido, adolescentes, módulos de cometilación.

## **Abstract**

**Background.** Eating disorders (ED) are psychiatric diseases characterized by disturbed eating behaviors. They have a complex etiology in which genetic and environmental factors interact. Analyzing gene-environment interactions, through DNA methylation data and single nucleotide polymorphism (SNP), could help us to identify the mechanisms involved in the etiology of ED.

**Methods.** We used MethylationEPIC and Psycharray microarrays to determine DNA methylation levels and genotypes from 63 teenagers with ED. Comethylation modules were constructed utilizing WGCNA (Weighted Gene Correlation Network Analysis) package for R. Functional enrichments were done with WebGestalt. Later, modules were correlated with SNPs and clinical features in our subjects.

**Results.** Eleven comethylation modules were constructed using 11 418 CpG sites, and they were correlated with 193 314 SNPs. Modules correlated significantly with SNP associated with BMI, height, heart anomalies, other psychiatric diseases, and autoimmune diseases. Likewise, two modules had enrichments with immunological system and development.

**Conclusions.** Two comethylation modules were correlated with physical features and SNP associated with related phenotypes. Notably, TBX15 p.His50Asn SNP could influence in adiposity of ED individuals. On the other hand, enrichments related with immunological system could be because utilizing blood for the analysis.

**Keywords:** eating disorders, DNA methylation, single nucleotide polymorphism, teenagers, comethylation modules.

## **1. Introducción.**

### **1.1. Trastornos de la conducta alimentaria.**

Los trastornos de la conducta alimentaria (TCA) son un grupo de trastornos psiquiátricos caracterizados por una perturbación persistente del comportamiento relacionado con la alimentación resultando en un consumo o absorción alterada de los alimentos y dañando significativamente la salud física o el funcionamiento psicosocial (APA, 2013). El grupo anterior de trastornos está asociado con una marcada morbilidad y mortalidad, y alto costo personal y social, además de una disminución en el rendimiento escolar y laboral, disminución de la calidad de vida, y un aumento en el aislamiento social (Steiger y Booi, 2020). Dentro de los TCA, los principales son anorexia nervosa (AN), bulimia nervosa (BN) y trastorno por atracón (TPA).

La AN es un trastorno caracterizado por restricción de la ingesta calórica en relación con las necesidades fisiológicas que conduce a un peso corporal inferior al mínimo normal. Los síntomas de AN incluyen miedo intenso a ganar peso o engordar, y alteración en la forma en que uno mismo percibe su propio peso o constitución. Por otra parte, los individuos con diagnóstico de BN o TPA presentan episodios recurrentes de atracones. Un episodio de atracón se caracteriza por la ingesta, en un determinado periodo de tiempo, de una cantidad de alimentos superior a la que la mayoría de las personas ingerirían en un periodo similar en circunstancias parecidas, acompañado de una sensación de falta de control (APA, 2013). Asimismo, AN y BN se distinguen de TPA por la presencia de conductas compensatorias. Las conductas compensatorias incluyen restricción excesiva en la

ingesta de calorías, vómito autoinducido, y ejercicio excesivo (Steiger y Booij, 2020).

Si bien estos comportamientos no se producen en TPA, en la BN los episodios de atracones se asocian con comportamientos compensatorios inapropiados recurrentes para evitar el aumento de peso (APA, 2013).

## **1.2. Etiología de los TCA.**

Los TCA se encuentran determinados por factores genéticos y ambientales, efectos relacionados con el estado actual, e inductores sociales. En AN, se postulan diversas influencias ambientales que contribuyen a su aparición, como lesiones obstétricas, estrés gestacional, traumas de la niñez, conflictos familiares, experiencias traumáticas en la edad adulta, inducción social hacia la restricción calórica y el estado nutricional actual del individuo (Steiger y Booij, 2020). Existe evidencia de que los TCA ocurren en familias y son hereditarios (Bulik, Blake, y Austin, 2019; Javaras *et al.*, 2008; Strober *et al.*, 2000). Anteriormente la heredabilidad se estudió mediante estudios familiares o en gemelos, y actualmente se utilizan datos de genoma completo (Bulik *et al.*, 2019). Las asociaciones entre los factores genéticos y ambientales en TCA se atribuyen a los mecanismos epigenéticos, los cuales producen cambios en la expresión génica sin alterar la secuencia del ADN (Steiger y Booij, 2020). Actualmente, los estudios genéticos han aportado evidencia que marca a los TCA como enfermedades con origen metabólico y psiquiátrico. Algunas de las vías alteradas están relacionadas con la insulina, ghrelina, péptido YY, las adipocinas, entre otras hormonas (Bulik, Carroll, y Mehler, 2021).

### 1.3. Genética de los TCA.

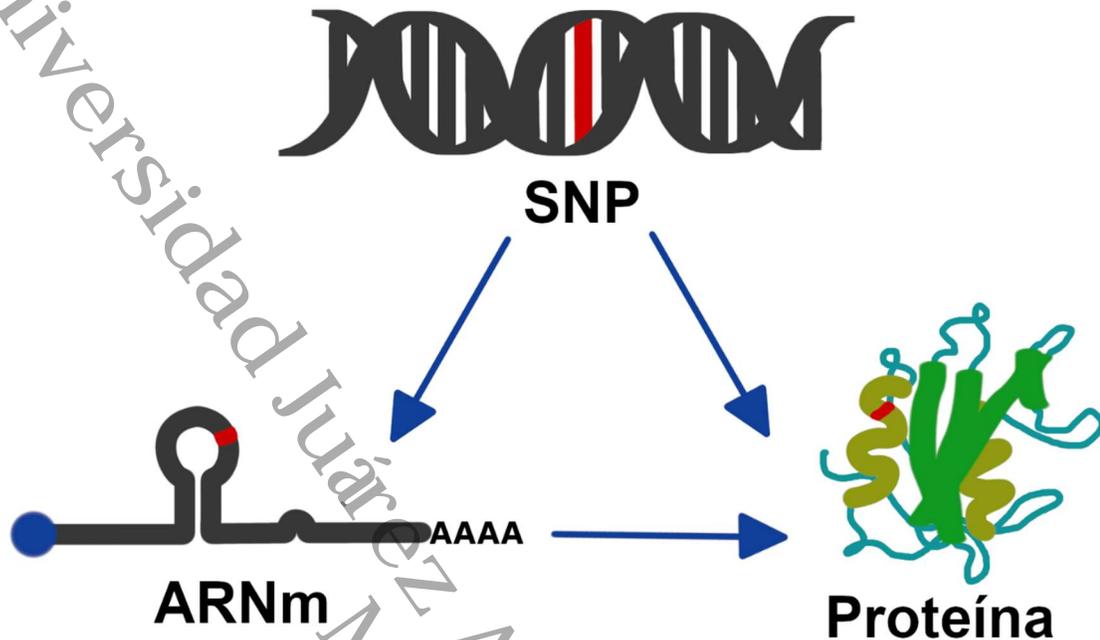
La evaluación de la influencia genética en los TCA se basa en estudios epidemiológicos (Bulik *et al.*, 2019; Yilmaz, Hardaway, y Bulik, 2015). Lo anterior evidenció que el riesgo relativo para AN en mujeres con familiares con dicho trastorno se eleva 11 veces comparado con individuos sin antecedentes familiares de AN (Strober *et al.*, 2000). Además, los individuos con familiares diagnosticados con BN presentan una heredabilidad de BN estimada en 60 % (Kortegaard *et al.*, 2001; Trace *et al.*, 2013). Respecto a TPA, la heredabilidad en gemelos se estima entre 39 % y 45 % (Bulik *et al.*, 2019; Mitchell *et al.*, 2010).

También el factor genético contribuye a los comportamientos alimenticios alterados y actitudes de alimentación disfuncionales asociadas con los TCA (Yilmaz *et al.*, 2015). Munn y cols. (2010) demostraron que el 43 % de la varianza en las diferencias individuales respecto a las preocupaciones relacionadas al peso corporal, y el 49 % de la varianza en los atracones, puede ser explicado por factores genéticos aditivos en gemelos. Lo anterior expone la importancia de los factores genéticos en el comportamiento de los TCA.

El estudio de las variantes genéticas que influyen en estos trastornos se centra en los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) (Bulik *et al.*, 2019). Los SNPs son cambios de una sola base en la secuencia de nucleótidos. El cambio nucleotídico puede producir cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada y alteraciones en los niveles de ARN mensajeros (ARNm) (Figura 1) (Uitterlinden, 2016).

**Figura 1.**

*Efecto de los SNPs sobre el ARNm y las proteínas.*



*Nota.* SNP: Single Nucleotide Polymorphism. La alteración en la secuencia se mantiene en todos los productos derivados del gen. Si bien no todos los SNP alteran directamente la secuencia de aminoácidos de una proteína, los cambios en el ARNm alterarían su expresión. Modificado de Y. Wang *et al.* (2019).

Los estudios sobre variantes genéticas en los genes candidatos relacionan a los TCA con genes asociados a la vía serotoninérgica, vía dopaminérgica, leptina, receptores a estrógenos, y factor de neurotrófico derivado de neuronas (Yilmaz *et al.*, 2015). Combinando análisis de segregación familiar y secuenciación genética de variables genéticas, se identificaron variables potencialmente involucradas con la aparición de AN (*CACNA1C*, *DRD4*, *GRIN2A*, *PTGS2*, *SGRP2*, *SLC25A13* y *NNAT*) (Ceccarini *et al.*, 2021).

Por otra parte, los estudios de genoma completo de AN muestran correlaciones genéticas positivas con esquizofrenia, neuroticismo, rendimiento escolar, y aumento del colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad; así como correlaciones

negativas entre AN e índice de masa corporal, insulina, glucosa y perfil de lípidos (Duncan *et al.*, 2017; Watson *et al.*, 2019).

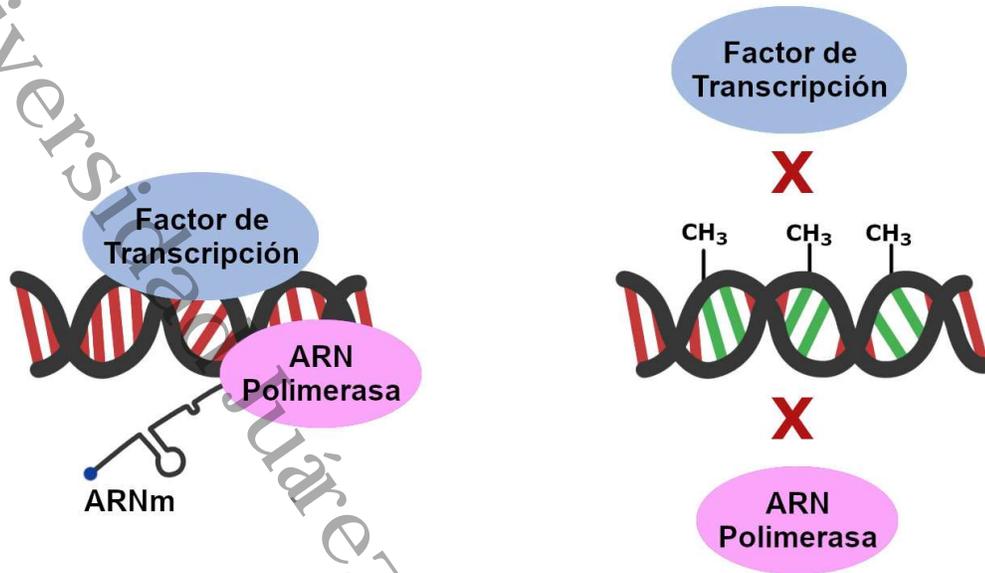
#### **1.4. Metilación del ADN en los TCA.**

La evidencia derivada de distintos estudios establece que el ambiente que promueve la delgadez puede conducir a la sobreexpresión de genes que suprimen el apetito y la ganancia de peso en individuos con riesgo genético (Yilmaz *et al.*, 2015). Igualmente, los hallazgos en estudios epigenéticos sugieren que los mecanismos epigenéticos pueden ser el vínculo entre los estímulos ambientales experimentados a lo largo de la vida y sus efectos sobre la salud mental, incluyendo los TCA (Booij y Steiger, 2020; Hübel *et al.*, 2019).

Los mecanismos de regulación epigenética son: metilación/desmetilación del ADN, acetilación/desacetilación de histonas, fosforilación/desfosforilación de histonas y ARNs no codificantes. De los anteriores, la metilación del ADN es el mecanismo epigenético más estudiado y la primera modificación covalente en ser descrita. La metilación del ADN consiste en la metilación del carbono número 5 en los residuos de citosina que forman dinucleótidos con guanina (CpG) (Figura 2) (Steiger y Booij, 2020).

**Figura 2.**

*Efecto de la metilación del ADN sobre su transcripción.*



*Nota.* La metilación del ADN impide la unión de este a factores de transcripción que a su vez permiten la unión de la ARN polimerasa para su transcripción. Este es uno de los mecanismos epigenéticos para regular la expresión de los genes. Modificado de Szyf y Bick (2013).

Las regiones del ADN con alta densidad de dinucleótidos CpG forman islas CpG. Las islas CpG son secuencias cortas de ADN (~1000 pares de bases) ricas en CpG y su ADN está predominantemente no metilado. Asimismo, la mayoría de las regiones promotoras de genes se localizan dentro de islas CpG (Brazel y Vernimmen, 2016; Moore, Le, y Fan, 2013). La metilación del ADN regula la expresión de los genes donde se localizan los sitios CpG metilados. Se considera que la metilación del ADN evita la activación transcripcional de las regiones génicas al impedir el reclutamiento de la maquinaria de transcripción. La ausencia de metilación en las islas CpG localizadas en regiones promotoras del gen permite que el ADN adopte una conformación que desestabiliza los nucleosomas, facilitando la unión de los factores requeridos para la iniciación de la transcripción (Dhar *et al.*, 2021; Moore *et al.*, 2013).

La determinación del estado de metilación de los sitios CpG se realiza mediante varios métodos, entre ellos la secuenciación genómica bisulfito con conversión bisulfito de múltiples clones y los microarreglos. Sin embargo, obtener los estados de metilación del genoma completo una gran inversión de tiempo y presupuesto. Los microarreglos permiten detectar el estado de metilación de sitios CpG representativos de todo el genoma, siendo una alternativa eficiente a la secuenciación (Moran, Arribas, y Esteller, 2015). En esencia, los microarreglos evalúan de forma cuantitativa la cantidad media de metilación de cada sitio CpG en un tejido específico. El ADN por analizar debe someterse a conversión bisulfito, para convertir las citosinas no metiladas en uracilo. El ADN convertido es complementario a un oligonucleótido sonda que previamente se fijó a una placa de vidrio. La placa de vidrio contiene sondas representativas del genoma, las cuales se hibridan a un fluoróforo y posteriormente son escaneadas para obtener los niveles de metilación (Masotti *et al.*, 2010).

Los microarreglos permitieron realizar estudios de metilación de epigenoma completo de diversas patologías (Moran *et al.*, 2015). Sin embargo, la metilación del ADN es específica entre tejidos. Es decir que al extraer el ADN de un tejido se obtiene el perfil de metilación de ese tejido en específico. Generalmente, los perfiles de metilación se obtienen de forma no invasiva mediante el acceso a tejidos periféricos, principalmente la sangre. A pesar de las posibles diferencias entre los perfiles de metilación entre la sangre periférica y otros tejidos de interés, se considera que la sangre refleja los cambios epigenéticos relevantes en los TCA (Hübel *et al.*, 2019).

En los estudios realizados en individuos con TCA, principalmente en AN se encontraron CpGs metilados diferencialmente que corresponden a genes asociados con acetilación de histonas, modificación del ARN, almacenamiento de colesterol, transporte de lípidos, y vías dopaminérgica y glutamérgica comparados con individuos de peso normal (Booij *et al.*, 2015). En otro estudio, donde se compararon gemelos disparejos respecto a la presencia de AN encontró genes relacionados con rasgos metabólicos de diabetes tipo 2 (*PPP2R2C* y *CHST1*), así como el trastorno bipolar (*UBAPL2*) y el consumo de *Cannabis* (*SYNJ2*) (Iranzo-Tatay *et al.*, 2022). Por otra parte, Steiger y cols. (Steiger *et al.*, 2019) reportaron que los niveles de metilación de individuos con AN en remisión fueron similares a los de individuos sin TCA y diferentes a aquellos con AN activa, observando diferencias en los sitios asociados con genes para la actividad de la serotonina, metabolismo de la glucosa, y la inmunidad. En contraste, los estudios de BN comparan la metilación de genes en regiones específicas del ADN (*DRD2*, *BDNF*, *NR3C1*) y encontraron relaciones entre altos niveles de metilación cuando existen otras comorbilidades psiquiátricas o abuso infantil (Groleau *et al.*, 2014; Steiger *et al.*, 2013; Thaler *et al.*, 2014). La determinación de la metilación del ADN está sugerida como una herramienta para distinguir pacientes con diferentes diagnósticos (Steiger y Booij, 2020). A pesar de que BN y TPA muestran similitudes clínicas, se reportan diferencias en la metilación de algunos sitios CpG. Los sitios metilados de forma diferente entre individuos con BN y TPA se localizan en genes relacionados con procesos metabólicos (*ST3GAL4*, *PRKAG2* y *FRK*), encontrándose hipometilados en TPA (Rodríguez-López *et al.*, 2021).

## 1.5. Integración de información genética y epigenética.

Los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) y de epigenoma completo (EWAS) establecieron asociaciones entre los TCA, los factores genéticos y los factores ambientales (Steiger y Booi, 2020). Los GWAS evalúan el factor genético, mientras que los EWAS evalúan el efecto del factor ambiental sobre la metilación del ADN (Lin, Barton, y Holbrook, 2016). En ese sentido, los SNP son capaces de producir cambios en la metilación del ADN al generar o eliminar sitios CpG. Los SNP asociados a sitios CpG contribuyen a la regulación de la expresión de los genes en conjunto con los mecanismos epigenéticos (Bell *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2015). Asimismo, se sugiere que existe relación entre el efecto de los factores genéticos y los factores ambientales que conduce a la aparición de los TCA (Booi y Steiger, 2020; Bulik *et al.*, 2019). Para evaluar cómo la genética influye sobre la epigenética en los TCA, se necesita integrar estos niveles de información biológica (Subramanian *et al.*, 2020).

La integración de datos provenientes de varios niveles de información biológica, como genoma y epigenoma, se conoce como multiómica. Los datos de multiómica identifican patrones moleculares y vías biológicas asociados a una enfermedad (Hasin, Seldin, y Lusi, 2017). Además, el enfoque de la multiómica requiere de grandes cantidades de datos y de métodos computacionales especiales (Nguyen y Wang, 2020). En particular, la formación de redes matemáticas es uno de estos métodos (Hasin *et al.*, 2017; Subramanian *et al.*, 2020).

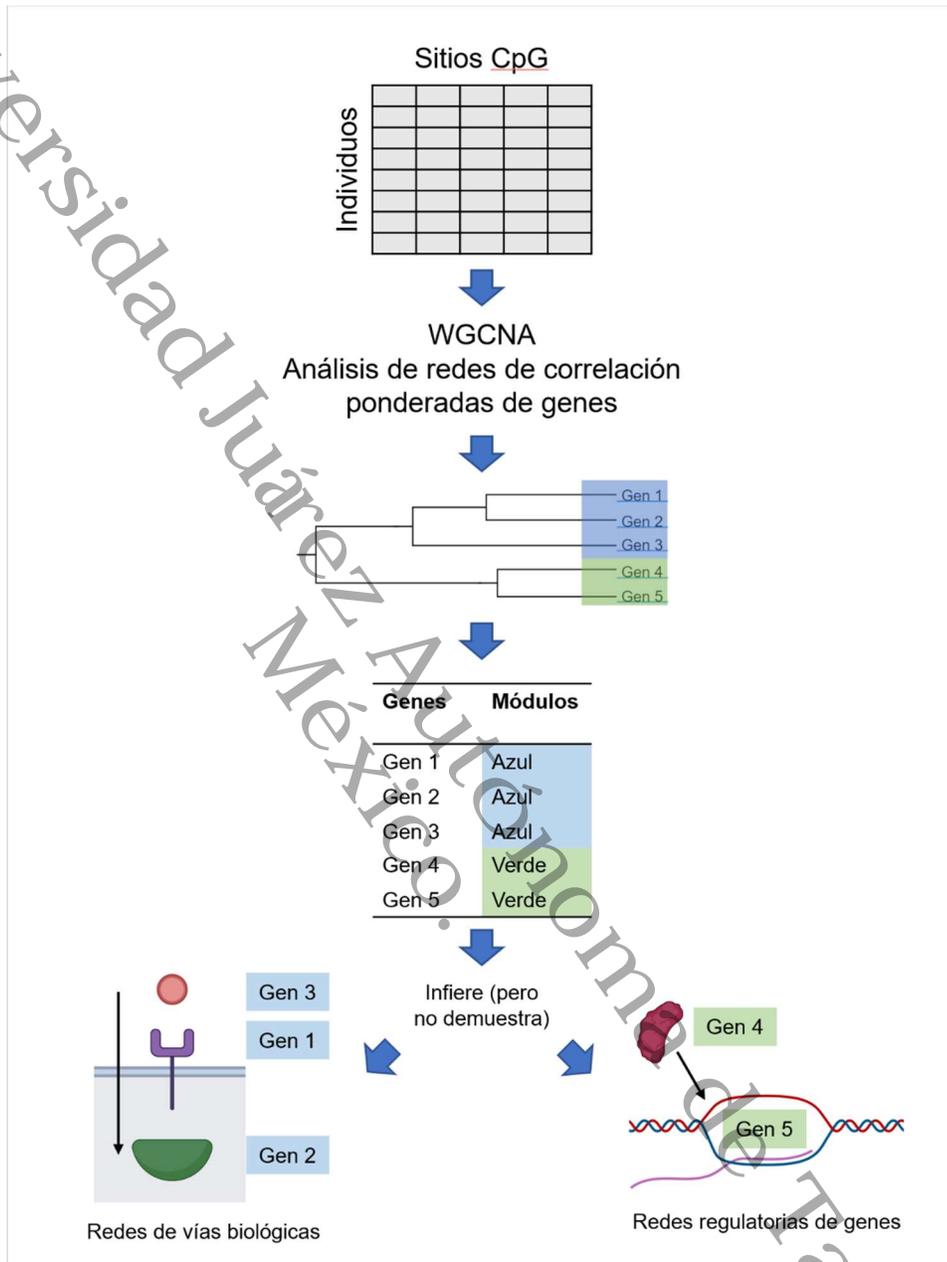
Uno de los métodos para formar redes matemáticas es el análisis de redes de correlación ponderadas de genes mediante WGCNA (Langfelder y Horvath, 2008).

Los análisis con WGCNA son biológicamente significativos debido a que los genes no funcionan individualmente, sino que ejercen sus efectos sobre los rasgos de una enfermedad a través de su interacción con otros genes y la metilación del ADN (Lin *et al.*, 2016). Es decir, WGCNA establece el funcionamiento del metiloma de un sistema al detectar conexiones entre genes individuales y el desarrollo de una enfermedad. (Nomiri *et al.*, 2022).

Los valores de metilación del ADN de los sujetos de estudio, obtenidos a través de microarreglos, son necesarios para realizar un análisis con WGCNA. Los datos de metilación de cada sitio CpG representan un gen (Lin *et al.*, 2016). En la Figura 3 se ilustra el proceso de análisis en WGCNA descrito a continuación. Los datos son organizados en una matriz y se agrupan mediante correlaciones de Pearson para formar una red de cometilación. Al representar la red de cometilación como un dendograma, los genes con correlaciones más fuertes entre sí se agrupan más cerca. A su vez, la red de cometilación se divide en módulos de cometilación (Langfelder y Horvath, 2008). Los módulos son definidos como un conjunto de genes altamente correlacionados dentro de la red, y son un objetivo importante de WGCNA (Zhao *et al.*, 2010). Para determinar si un módulo es biológicamente significativo y qué vías forman parte de este, son necesarios los análisis de enriquecimiento y los datos de anotación de los genes. El resultado final es una lista de genes, ordenados por módulo, que posiblemente formen parte de una vía biológica o de una vía de regulación de genes (Langfelder y Horvath, 2008; Zhao *et al.*, 2010).

**Figura 3.**

*Esquema del funcionamiento de WGCNA.*



*Nota.* WGCNA (*Weighted Gene Correlation Network Analysis*) necesita datos de metilación de ADN (en valores  $\beta$ ) de los sitios CpG de cada individuo. El análisis realiza agrupación jerárquica de los sitios CpG (y los genes donde se localizan), según su similitud, para formar una red de cometilación. Una vez formada la red, esta se divide en módulos a los cuales se les asigna un color distintivo. Cada módulo representa un grupo de genes relacionados que forman parte de una vía biológica o una red de regulación de genes.

WGCNA se ha utilizado para encontrar biomarcadores en diversos cánceres (Tian *et al.*, 2020; Wan *et al.*, 2018), vías relevantes en la enfermedad de Parkinson (Chuang *et al.*, 2017), accidente cerebrovascular (M. Wang *et al.*, 2020), diabetes gestacional (Chen *et al.*, 2020), entre otras patologías. El uso de WGCNA con un enfoque de multiómica aportaría evidencia sobre vías y genes relacionados con el desarrollo de los TCA. A pesar de la evidencia genética y epigenética, su relación con la etiología de los TCA continúa sin comprenderse en su totalidad (Hübel *et al.*, 2019; Steiger y Booij, 2020).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 2. Planteamiento del problema.

Actualmente existe poca evidencia con respecto a la genética y epigenética en los TCA. En ese sentido, los estudios genéticos asocian variantes genéticas en genes involucrados con el metabolismo, el sistema endocrino, sistema nervioso y enfermedades psiquiátricas. Sin embargo, los hallazgos en dichos genes son inconsistentes entre los estudios. A pesar de los proyectos por realizar estudios de genoma completo, como el Consorcio de Psiquiatría Genómica, solamente existen dos GWAS de AN (Duncan *et al.*, 2017; Watson *et al.*, 2019). Los estudios de epigenética en los TCA se enfocan en la metilación del ADN de genes candidato. Aunque los resultados de los estudios de epigenética muestran cambios en algunos genes previamente asociados en estudios genéticos, la relación entre la genética y la epigenética en los TCA es poco conocida (Hübel *et al.*, 2019). Debido a estos factores, existe la necesidad de realizar estudios que exploren la genética, la epigenética, y la relación genética – epigenética en los TCA. Las redes de cometilación ayudan a encontrar sitios CpG relevantes en el epigenoma, facilitando la creación de correlaciones entre la metilación del ADN y los SNPs. Asimismo, estas redes permiten explorar correlaciones con características fenotípicas de los individuos. La finalidad de este estudio es determinar si los SNPs se correlacionan con alteraciones en las redes de cometilación del ADN de pacientes con TCA.

## 2.1. Justificación.

Los TCA son un problema de salud mental complejo y hereditario que afecta la calidad de vida, generando costos personales, familiares y sociales. Los pacientes que padecen un TCA generalmente inician en la adolescencia y presentan recaídas a lo largo de su vida. Se estima que la prevalencia de toda la vida para AN, BN y TPA en mujeres de 1.4%, 1.9% y 2.8%, respectivamente; la prevalencia en hombres corresponde a 0.2%, 0.6% y 1.0% (Galmiche *et al.*, 2019). Asimismo, la prevalencia en mexicanos para AN, BN y TPA es de 0.5%, 1.0% y 1.4% respectivamente (Benjet *et al.*, 2012). Además, los TCA se asocian a complicaciones en el sistema cardiovascular, endocrino, hematológico, el metabolismo y comorbilidades psiquiátricas. A pesar de se conocen estas complicaciones, existe poca evidencia sobre los factores biológicos involucrados en la etiología de los TCA. Los estudios de genes candidato y los estudios de metilación del ADN muestran resultados inconsistentes. Igualmente, solo existen dos estudios de genoma completo publicados sobre AN a nivel mundial. Se requiere de investigaciones que aporten evidencia sobre posibles genes, cambios en metilación del ADN, la interacción genética – epigenética, y posibles vías involucrados en los TCA. Conocer cómo las variantes genéticas afectan la metilación del ADN ayuda a comprender los mecanismos de interacción genética – epigenética y, por lo tanto, mejora la comprensión de cómo se desarrollan estos trastornos.

## **2.2. Pregunta de investigación.**

¿Los polimorfismos de un solo nucleótido se asocian con alteraciones en las redes de metilación del ADN de los pacientes con TCA?

## **2.3. Objetivos.**

### **2.3.1. Objetivo general.**

Determinar si los polimorfismos de un solo nucleótido promueven alteraciones en las redes de metilación del ADN de pacientes con trastornos de la conducta alimentaria de una población mexicana.

### **2.3.2. Objetivos específicos.**

- Determinar los niveles de metilación del ADN de individuos con trastornos de la conducta alimentaria.
- Determinar los polimorfismos de un solo nucleótido presentes en los individuos con trastornos de la conducta alimentaria.
- Construir redes de metilación del ADN utilizando un análisis de redes de correlación de los niveles de metilación del ADN.
- Correlacionar las redes de metilación del ADN con los polimorfismos de un solo nucleótido.

### **3. Material y Métodos.**

#### **3.1. Diseño del estudio.**

Este fue un estudio de tipo descriptivo, observacional, y transversal.

#### **3.2. Población de Estudio.**

Se incluyeron 63 pacientes previamente diagnosticados con AN, BN o TPA según los criterios del DSM 5 (APA, 2013). Los individuos se reclutaron del área de consulta externa del Hospital Psiquiátrico Infantil “Dr. Juan N. Navarro” durante el período de mayo 2014 – agosto 2016. Como criterios de inclusión, los sujetos debían contar con al menos tres generaciones de ascendencia mexicana, edad entre 12 y 18 años, y no utilizar fármacos psiquiátricos ni drogas psicoactivas. Las muestras fueron extraídas de sangre periférica y se encuentran almacenadas a – 80° C en resguardo de la Unidad de Alta Tecnología del INMEGEN.

#### **3.3. Instrumentos de evaluación.**

El TA se tamizó con el QEWP-R (Questionnaire on Eating and Weight Pattern-Revised) (Yanovski et al., 2015), mientras que AN se tamizó con el EAT-26 (Eating Attitudes Test) (Garner et al., 1982). La presencia de comorbilidades psiquiátricas se evaluó con la versión en español del MINI Kid (Mini International Neuropsychiatric Interview for Children and Adolescent) (Sheehan et al., 2010). Un psiquiatra realizó todos los diagnósticos de TCA.

### **3.4. Hibridación con microarreglo Psycharray.**

Para identificar los SNPs presentes en las muestras, se hibridó ADN con el microarreglo Illumina Psycharray Beadchip (Illumina, EUA) siguiendo el protocolo automatizado del fabricante. Los microarreglos ya hibridados se escanearon en el sistema iScan Microarray Scanner (Illumina, EUA). Este microarreglo se procesó en la Unidad de Microarreglos y Expresión del INMEGEN.

### **3.5. Hibridación con microarreglo MethylationEPIC**

Asimismo, una parte del ADN de las muestras se sometió a conversión bisulfito con el kit EZ DNA Methylation (Zymo Research, EUA) según las instrucciones del fabricante. El ADN tratado se hibridó a un Infinium Human MethylationEPIC BeadChip (Illumina, EUA) para detección de niveles de metilación del ADN, siguiendo el protocolo automatizado del fabricante. Las intensidades de fluorescencia se escanearon con el sistema iScan Microarray Scanner (Illumina, EUA). Finalmente, los datos del escaneo fueron convertidos a archivos IDAT utilizando el software GenomeStudio (Illumina, EUA). El procesamiento de este microarreglo se realizó en la Unidad de Microarreglos y Expresión del INMEGEN.

### **3.6. Control de calidad de los datos de genotipificación.**

Las intensidades de fluorescencia del microarreglo Psycharray fueron transformadas a genotipos por el software GenomeStudio (v. 2.0). Los genotipos se sometieron a control de calidad con el software PLINK (v. 1.9) (C. C. Chang *et al.*, 2015), donde se eliminó: 1) polimorfismos con llamado de variantes menor al 95%,

2) individuos con llamado de variantes menor al 95%, 3) individuos con discrepancia entre el sexo predicho y el observado, 4) las variantes localizadas en cromosomas X y Y, 5) alelos con frecuencia menor del 5%, 6) polimorfismos con valores de  $p < 1e-6$  en prueba de chi-cuadrada para el equilibrio de Hardy-Weinberger, y 7) variantes con alelos quiméricos (A/T y C/G). Después, los datos filtrados se exportaron al lenguaje de computación estadística R (v. 4.0) (R Core Team, 2020), donde se eliminaron los polimorfismos con datos faltantes y polimorfismos sin individuos homocigotos al alelo alterno.

### **3.7. Control de calidad de los valores de metilación del ADN.**

Las intensidades de fluorescencia del microarreglo MethylationEPIC fueron transformadas a archivos *idat* utilizando el software GenomeStudio (Illumina, EUA). Los archivos se filtraron mediante el pipeline *ChAMP* (v. 2.18.2) (Morris *et al.*, 2014) para R (v. 4.0). El control de calidad removió: 1) las sondas con valor de  $p > 0.01$ , 2) sondas con menos de 3 cuentas en al menos 5% de las muestras, 3) sondas que no contienen sitios CpG, 4) sondas *multi-hit*, 5) sondas localizadas en los cromosomas X o Y, y 6) individuos que presentaron discrepancia del sexo predicho en sus datos de genotipificación. Los datos de metilación filtrados se convirtieron en valores  $\beta$ , los cuales fueron normalizados utilizando el método BMIQ (*Beta-Mixture Quantile Normalization*) (Teschendorff *et al.*, 2013). Posteriormente, se evaluó la presencia de efecto *batch* mediante el método de descomposición de valor singular (SVD). Se evaluó la desviación estándar (DE) de los valores de metilación de la muestra para cada uno de los sitios CpG y se conservaron aquellos con  $DE > 0.05$ .

Asimismo, se realizaron ocho puntos de corte (0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.15, 0.20) los cuales se analizaron individualmente detección del punto óptimo para construcción de redes de cometilación.

### **3.8. Construcción de las redes de cometilación.**

Los valores de metilación de los ocho puntos de corte se ingresaron al paquete WGCNA (Langfelder y Horvath, 2008) del lenguaje R para construir de módulos de cometilación. Se realizó agrupación jerárquica de cada punto de corte mediante el método de medias. La agrupación jerárquica consiste en buscar cuáles muestras son las dos más parecidas entre sí, agruparlas, y repetir el proceso hasta agrupar a todo el grupo. El resultado se mostró como un dendrograma, donde se visualizaron a los individuos con muestras atípicas. Las muestras atípicas se eliminaron antes de realizar el siguiente análisis. Después se realizó análisis de topología de red para cada agrupación jerárquica. En este análisis se busca un umbral de red adecuado, el cual es la potencia a la cual se elevan las correlaciones de la red. Los resultados de este análisis muestran los valores de conectividad media e independencia para cada umbral del 1 al 20. La conectividad media indica cuántos sitios, en promedio, tendrían los módulos de cometilación de una red a un umbral dado. La independencia es una medida de qué tan distintos serán los módulos entre sí a un umbral dado. Los valores adecuados son independencia  $>0.8$  y conectividad  $<1000$  con umbrales  $<20$ . Luego de analizar la morfología de cada análisis de topología de red, se seleccionó el punto de corte  $>0.06$ . A continuación, se construyeron los módulos de sitios CpG con la función *blockwiseModules* de WGCNA con los parámetros de tamaño mínimo de módulo de 175 y umbral de 20. En un siguiente

análisis, los sitios CpG dentro del módulo *grey* se descartaron y los restantes se utilizaron para reconstruir un nuevo conjunto de módulos utilizando la función *blockwiseModules* con los parámetros previamente mencionados.

### **3.9. Análisis de enriquecimiento de los módulos.**

Los sitios CpG dentro de los módulos fueron anotados utilizando el paquete *IlluminaHumanMethylationEPICanno.ilm10b4.hg19* (Hansen, 2017). Los genes de los sitios CpG se enriquecieron con la herramienta en línea WebGestalt (Liao *et al.*, 2019). Los enriquecimientos se realizaron con Over-Representation Analysis de la base de datos KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (Kanehisa y Goto, 2000), y se consideró como significativo un valor de *p* ajustado por FDR  $\leq 0.05$ .

### **3.10. Correlación de las redes de metilación con los polimorfismos de un solo nucleótido.**

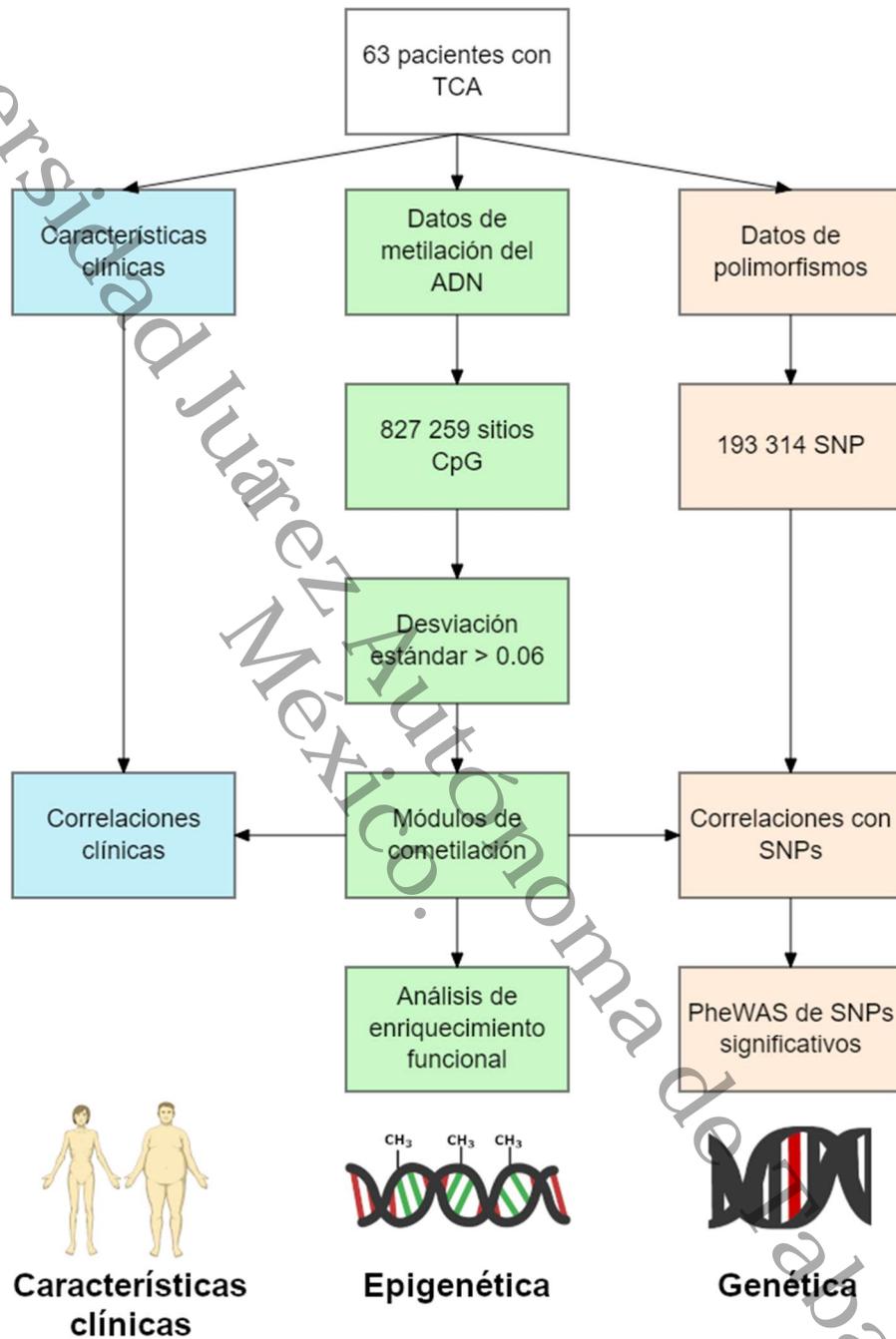
Los eigengene de cada módulo de metilación se correlacionaron con los datos clínicos y los SNP mediante correlaciones de Pearson con las funciones *cor* y *corPvalueStudent*. El valor de significancia se estableció como  $p < 5e-3$  para los datos clínicos y  $p < 5e-8$  para los SNP. Para asociar SNP y fenotipos, se utilizó la herramienta PheWAS del sitio web GWAS Atlas. Las asociaciones se consideraron significativas con una  $p < 1e-10$ . La Figura 4 resume la metodología seguida en este estudio.

### **3.11. Consideraciones éticas.**

La toma y procesamiento de las muestras fue aprobada por el Comité de Ética del Hospital Psiquiátrico Infantil “Dr. Juan N. Navarro” con el No. II3/01/0913 (11-oct-2017), y por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), con el No. 06/2018/I. El reclutamiento se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Los pacientes donaron sus muestras de manera voluntaria sin recibir remuneración económica y firmaron una carta de consentimiento informado; en caso de ser menores de edad, el consentimiento informado fue dado por al menos uno de los padres o tutores. Previamente recibieron información de forma verbal y escrita, aceptando que sus datos y ADN extraído fueran almacenados y utilizados en estudios subsecuentes durante un período de 10 años. La colaboración de los pacientes fue independiente de la atención médica que el hospital les ofreció. Las muestras y los datos de los pacientes utilizados se anonimizaron previo a la realización de este estudio.

**Figura 4**

*Esquema general.*



*Nota.* Los cuadros azules representan los datos clínicos, los cuadros verdes representan los datos de metilación y los cuadros rojos representan los datos de SNPs.

## 4. Resultados.

### 4.1. Características de la población.

Las características de los 50 individuos cuyo ADN fue analizado y utilizado para construir módulos de cometilación se encuentran en la Tabla 1.

**Tabla 1.**

*Características clínicas de la población de estudio.*

<b>Características</b>	<b>Muestra (n = 50)</b>
Edad (años)	13.98 ± 1.74
Género	
Masculino	13 (26.00)
Femenino	37 (74.00)
IMC zscore	1.03 ± 0.97
Clasificación basada en IMC	
Peso bajo	1 (2.00)
Peso normal	20 (40.00)
Sobrepeso	11 (22.00)
Obesidad	18 (36.00)
Diagnóstico	
Trastorno por atracón	17 (34.00)
Bulimia nervosa	22 (44.00)
Anorexia nervosa	11 (22.00)
Comorbilidades	
Cualquiera	46 (92.00)
Depresión mayor	21 (42.00)
Riesgo de suicidio	16 (32.00)
Trastorno distímico	18 (36.00)
Trastorno por déficit de atención e hiperactividad	15 (30.00)
Trastorno de ansiedad generalizada	10 (20.00)
Trastorno negativista desafiante	6 (12.00)
Trastorno de la conducta	5 (10.00)
Trastornos psicóticos	5 (10.00)
Conductas alimenticias	
Miedo a ganar peso	35 (70.00)
Atracón	34 (68.00)
Restricción	24 (48.00)
Vómito	21 (42.00)
Otras conductas	10 (20.00)

*Nota.* Características de los individuos que superaron controles de calidad. Las variables continuas están expresadas como media ± desviación estándar, y las variables categóricas están expresadas como n (%).

## **4.2. Control de calidad de los datos de genotipificación.**

Se obtuvieron los datos de genotipificación de un total de 600 184 SNPs. Se eliminaron 27 267 SNPs por tener un llamado de variantes menor al 95%. Aunque ningún individuo fue eliminado por presentar llamado de variantes menor al 95%, se detectaron y eliminaron 10 individuos con discrepancia entre el sexo predicho y el observado. Se continuó analizando el ADN de los 53 individuos restantes. El siguiente filtro eliminó 17 351 SNPs localizados en cromosomas X o Y. Asimismo, se excluyeron 302 133 variantes con frecuencias alélicas <5%. No se detectaron SNPs en desequilibrio de Hardy-Weinberg, y se eliminaron 2787 alelos quiméricos. Un total de 250 646 SNPs superaron el control de calidad de PLINK. Después de eliminar SNP con datos perdidos y SNP sin individuos homocigotos al alelo alterno, se exportaron 193 314 SNPs al software R.

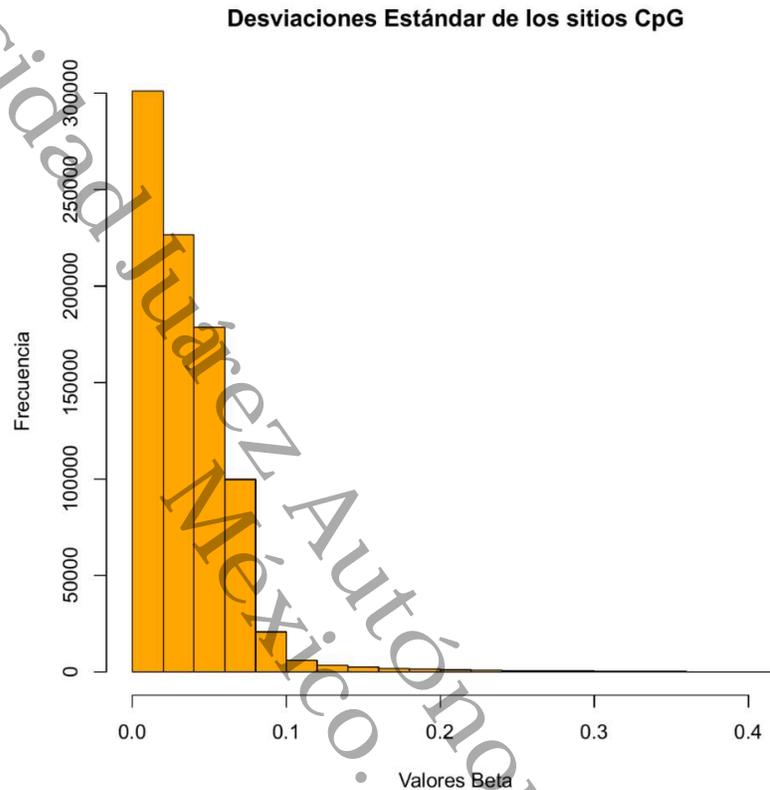
## **4.3. Control de calidad de los datos de metilación.**

En el análisis de metilación solamente se incluyeron a los 53 individuos sin discrepancia de sexo, un total de 53 individuos. Se obtuvieron valores de metilación de 850 000 sitios CpG, de los cuales 827 259 sitios superaron los controles de calidad en ChAMP. No se observó efecto *batch* en las muestras. Se calcularon las DE de los valores beta de los 827 259 sitios CpG, y se graficaron en el histograma que se observa en la Figura 5. Se observó que la mayor parte de los sitios presentaron DE menores a 0.05, y una cantidad mínima presentó DE mayor a 0.10. Los sitios CpG incluidos en los puntos fueron 105 393 (DE >0.05), 63 934 (DE

>0.06), 41 062 (DE >0.07), 27 921 (DE >0.08), 21 520 (DE >0.09), 17 499 (DE >0.10), 7 819 (DE >0.15) y 3 850 (DE >0.20).

### Figura 5

*Histograma de las desviaciones estándar de los valores beta de los sitios CpG.*



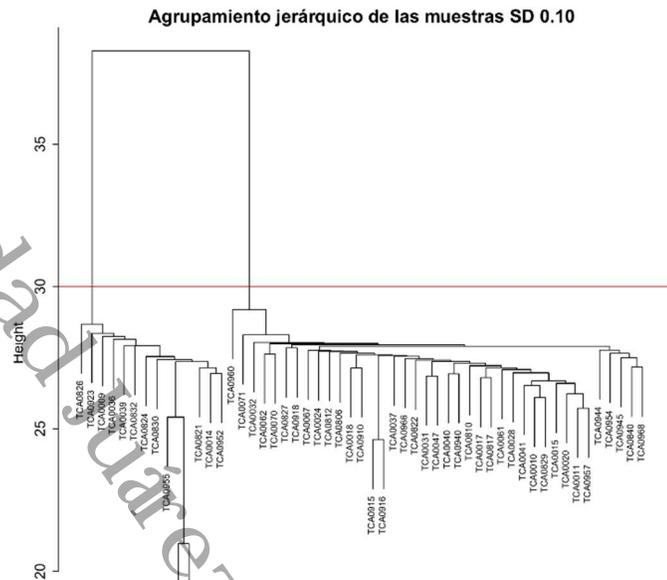
*Nota.* El sesgo hacia la izquierda del histograma muestra que la desviación estándar de la mayoría de los sitios CpG fue pequeña. Es decir, en la mayoría de los sitios CpG, la variación entre individuos en los niveles de metilación es pequeña.

#### 4.4. Agrupación jerárquica y análisis de topología de red.

Todos los puntos de corte de DE de los datos de metilación se sometieron a agrupación jerárquica. En la Figura 6, por ejemplo, se observan los resultados de la agrupación jerárquica del punto de corte DE >0.10, donde no se encontraron muestras aparentemente atípicas. Por otra parte, los resultados de la agrupación jerárquica utilizando DE >0.06 como punto de corte se observan en la Figura 7, encontrando tres muestras atípicas.

**Figura 6.**

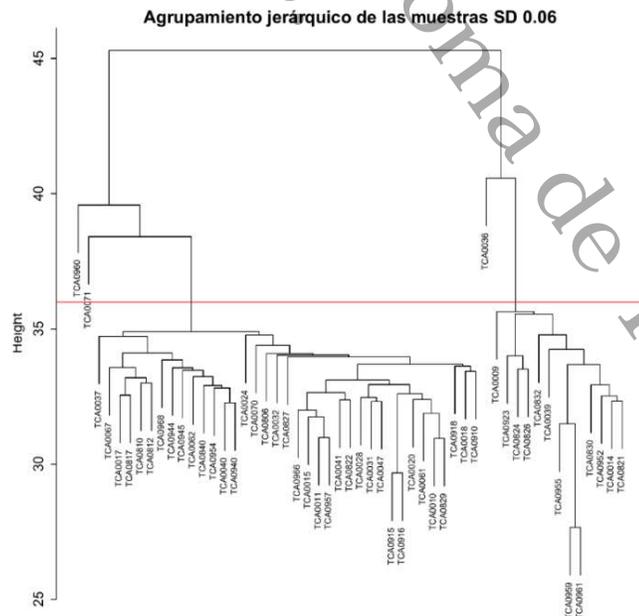
*Dendrograma de agrupación de las muestras con los sitios CpG con DE >0.10.*



*Nota.* La línea roja indica el punto de corte entre las muestras consideradas atípicas y el resto.

**Figura 7.**

*Dendrograma de agrupación de las muestras.*

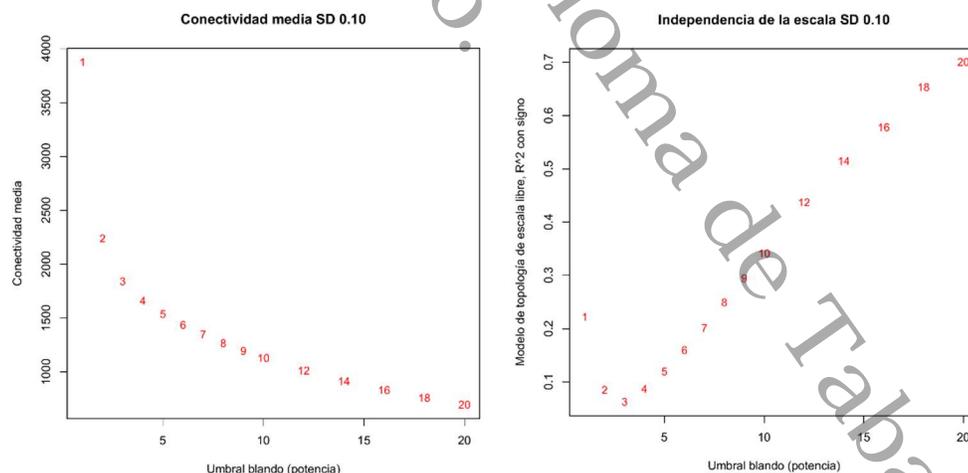


*Nota.* La línea roja indica el punto de corte entre las muestras consideradas atípicas y el resto.

El análisis de topología de red se realizó a todas las agrupaciones jerárquicas después de eliminar las muestras atípicas. En la agrupación jerárquica del punto de corte DE >0.10, se observó un valor de independencia pequeño y una conectividad relativamente alta. La Figura 8 ilustra los resultados para este punto de corte. Asimismo, los resultados para otros puntos de corte mostraron valores de independencia y conectividad inadecuados con excepción del punto de corte DE >0.06. Los resultados del análisis de topología de red para el punto de corte DE >0.06 se observan en la Figura 9. Se seleccionó el umbral de 20 debido a sus adecuados valores de conectividad media e independencia. Debido a que se seleccionó el punto de corte DE >0.06, los valores de metilación de los 50 individuos seleccionados fueron los utilizados para construir los módulos de cometilación.

**Figura 8**

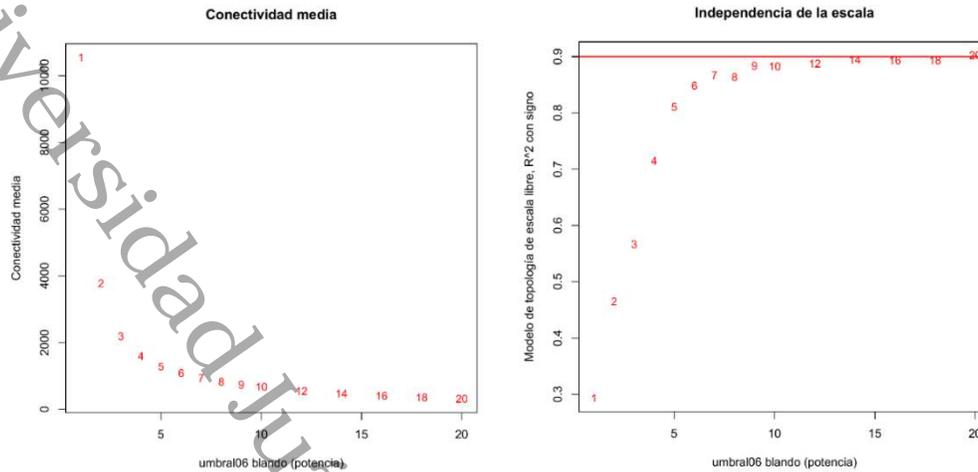
*Análisis de topología de red del punto de corte DE >0.10*



*Nota.* El panel izquierdo muestra la conectividad media por sitio a un determinado umbral. El panel derecho muestra el índice de escala libre a un determinado umbral. Los números en rojo indican el umbral que produce los niveles de conectividad media o independencia graficados.

**Figura 9**

*Análisis de topología de red del punto de corte DE >0.06*



*Nota.* El panel superior muestra la conectividad media por sitio a un determinado umbral. El panel inferior muestra el índice de escala libre a un determinado umbral. Los números en rojo indican el umbral que produce los niveles de conectividad media o independencia graficados.

#### **4.5. Características de los módulos de cometilación.**

Se formaron 11 módulos de cometilación a partir de 11 418 sitios CpG. Los módulos creados fueron turquise (5 073 sitios), azul (2 928 sitios), marrón (193 sitios), amarillo (166 sitios), verde (151 sitios), rojo (150 sitios), negro (148 sitios), rosa (145 sitios), magenta (135 sitios), púrpura (111 sitios) y gris (2 218 sitios). Los sitios CpG de estos módulos se localizan en 4 005 genes. De acuerdo con su posición relativa al gen, el cuerpo (Body) del gen fue la anotación más común. La Tabla 2 muestra los detalles de la anotación funcional de los sitios CpG con respecto su localización en el gen. La anotación de los sitios según su posición respecto a las islas CpG mostró predominio de los sitios en *Open Sea* (Tabla 3). La mediana y rango intercuantil de los valores beta de los módulos de metilación mostró 3 módulos parcialmente metilados (turquesa, azul y púrpura), mientras que en el resto de los módulos se encontraron sitios hipermetilados (Tabla 4).

**Tabla 2***Clasificación de los sitios CpG de los módulos.*

Módulo	TSS1500	TSS200	5'UTR	Body	1stExon	ExonBnd	3'UTR
Turquesa	359 (10.23)	97 (2.77)	436 (12.43)	2430 (69.27)	33 (0.94)	37 (1.05)	116 (3.31)
Azul	158 (7.85)	75 (3.72)	309 (15.34)	1366 (67.83)	23 (1.14)	16 (0.79)	67 (3.33)
Marrón	14 (10.77)	4 (3.08)	23 (17.69)	78 (60.00)	2 (1.54)	3 (2.31)	6 (4.62)
Amarillo	13 (12.15)	6 (5.61)	13 (12.15)	69 (64.49)	2 (1.87)	0 (0)	4 (3.74)
Verde	11 (11.22)	3 (3.06)	13 (13.27)	68 (69.39)	1 (1.02)	1 (1.02)	1 (1.02)
Rojo	20 (18.52)	1 (0.93)	15 (13.89)	66 (61.11)	2 (1.85)	1 (0.93)	3 (2.78)
Negro	11 (11.22)	2 (2.04)	9 (9.18)	66 (67.35)	2 (2.04)	2 (2.04)	6 (6.12)
Rosa	13 (13.00)	2 (2.00)	9 (9.00)	71 (71.00)	2 (2.00)	1 (1.00)	2 (2.00)
Magenta	10 (11.36)	4 (4.55)	12 (13.64)	56 (63.64)	1 (1.14)	0 (0)	5 (5.68)
Púrpura	8 (11.27)	5 (7.04)	8 (11.27)	40 (56.34)	1 (1.41)	2 (2.82)	7 (9.86)

*Nota.* Los sitios fueron anotados utilizando el paquete IlluminaHumanMethylationEPICanno.ilm10b4.hg19 (Hansen, 2017). Datos expresados en n de sitios, (%) por filas. TSS: Transcription Start Site (Sitio de Inicio de la Transcripción). UTR: Untranslated Region (Región No Traducida). ExonBnd: Exon Boundaries (Límites del Exon).

**Tabla 3.***Posición de los sitios CpG de los módulos con respecto a las islas CpG.*

Módulo	OpenSea	Island	N Shore	S Shore	N Shelf	S Shelf
Turquesa	4207 (82.93)	13 (0.26)	247 (4.87)	212 (4.18)	202 (3.98)	192 (3.78)
Azul	2476 (84.56)	15 (0.51)	128 (4.37)	83 (2.83)	104 (3.55)	122 (4.17)
Marrón	153 (79.27)	6 (3.11)	9 (4.66)	17 (8.81)	4 (2.07)	4 (2.07)
Amarillo	125 (75.30)	1 (0.60)	14 (8.43)	10 (6.02)	12 (7.23)	4 (2.41)
Verde	114 (75.50)	5 (3.31)	10 (6.62)	8 (5.30)	9 (5.96)	5 (3.31)
Rojo	121 (80.67)	1 (0.67)	6 (4.00)	2 (1.33)	8 (5.33)	12 (8.00)
Negro	115 (77.70)	1 (0.68)	7 (4.73)	6 (4.05)	11 (7.43)	8 (5.41)
Rosa	114 (78.62)	6 (4.14)	7 (4.83)	7 (4.83)	8 (5.52)	3 (2.07)
Magenta	96 (71.11)	6 (4.44)	9 (6.67)	9 (6.67)	8 (5.93)	7 (5.19)
Púrpura	85 (76.58)	17 (15.32)	4 (3.60)	3 (2.70)	1 (0.90)	1 (0.90)
Total	7606 (82.67)	71 (0.77)	441 (4.79)	357 (3.88)	367 (3.99)	358 (3.89)

*Nota.* Los sitios fueron anotados utilizando el paquete IlluminaHumanMethylationEPICanno.ilm10b4.hg19 (Hansen, 2017). Datos expresados en n de sitios, (%) por columnas. Open Sea: sitios a más de 4 mil pares de bases de una isla CpG. Island: isla CpG, regiones con más de 500 pares de bases con más de 55% de contenido GC. Shore: región entre 0 y 2000 pares de bases de una isla CpG. Shelf: región entre 2000 y 4000 pares de base de una isla CpG. N: cuesta arriba de una isla CpG. S: cuesta debajo de una isla CpG.

**Tabla 4.***Mediana y rango intercuartil de los valores beta*

Módulo	Mediana	Rango intercuartil
Turquesa	0.3529	0.1245
Azul	0.6492	0.1592
Marrón	0.9151	0.1115
Amarillo	0.9180	0.0867
Verde	0.9118	0.0992
Rojo	0.9151	0.1089
Negro	0.9155	0.1067
Rosa	0.9110	0.1127
Magenta	0.9111	0.1120
Púrpura	0.6507	0.3208

*Nota.* Datos expresados en valores beta de metilación de los sitios CpG de cada módulo.

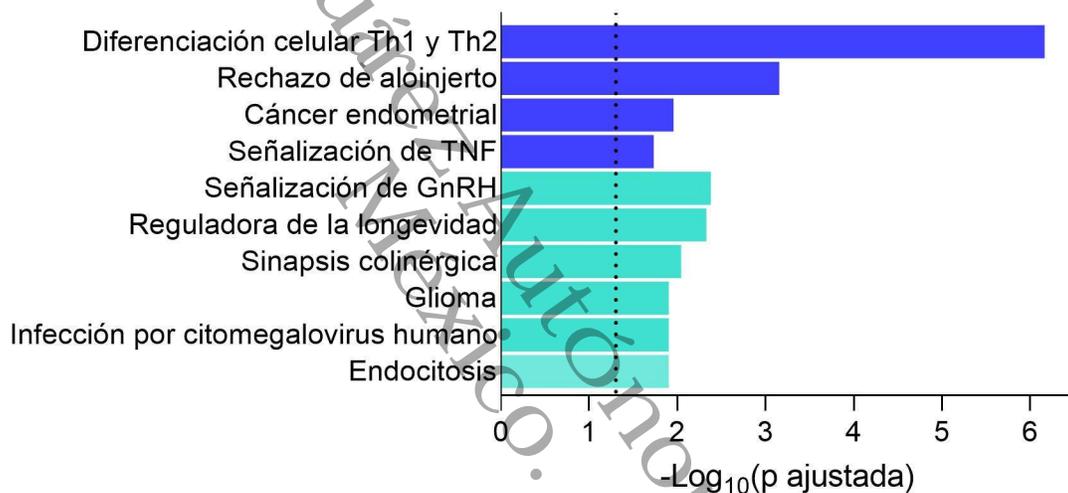
#### 4.6. Vías enriquecidas en cada módulo.

Se encontraron vías enriquecidas de los genes anotados en los sitios CpG de los módulos turquesa y azul (Figura 10). Los genes en el módulo turquesa se enriquecieron para la vía reguladora de la longevidad (valor de p ajustado = 0.0047), vía de señalización de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) (valor de p ajustado = 0.0042), glioma (valor de p ajustado = 0.0126), sinapsis colinérgica (valor de p ajustado = 0.0091), infección por citomegalovirus humano (valor de p ajustado = 0.0126), y endocitosis (valor de p ajustado = 0.0126). Por otra parte, los genes del módulo de cometilación azul se enriquecieron en vías para la diferenciación celular Th1 y Th2 (valor de p ajustado = 6.8672e-7), rechazo de aloinjerto (valor de p ajustado = 0.0185), cáncer endometrial (valor de p ajustado = 0.0111), y vía de señalización de TNF (valor de p ajustado = 0.0007). Otras vías enriquecidas dentro del mismo módulo incluyen la vía de señalización AGE-RAGE en complicaciones diabéticas (valor de p ajustado = 0.0033), sistema de señalización fosfatidilinositol

(valor de p ajustado = 0.0074), glioma (valor de p ajustado = 0.0365), vía reguladora de la longevidad (valor de p ajustado = 0.0325), infección por citomegalovirus humano (valor de p ajustado = 0.0008), y adhesión focal (valor de p ajustado = 0.0039). Los enriquecimientos de los demás módulos no fueron significativos (Anexo 3: Tablas 1-10).

**Figura 10.**

*Vías enriquecidas en los módulos azul y turquesa.*



*Nota.* Datos expresados como logaritmo negativo del valor de p ajustada por FDR para cada vía. La línea puntuada indica el nivel de significancia.

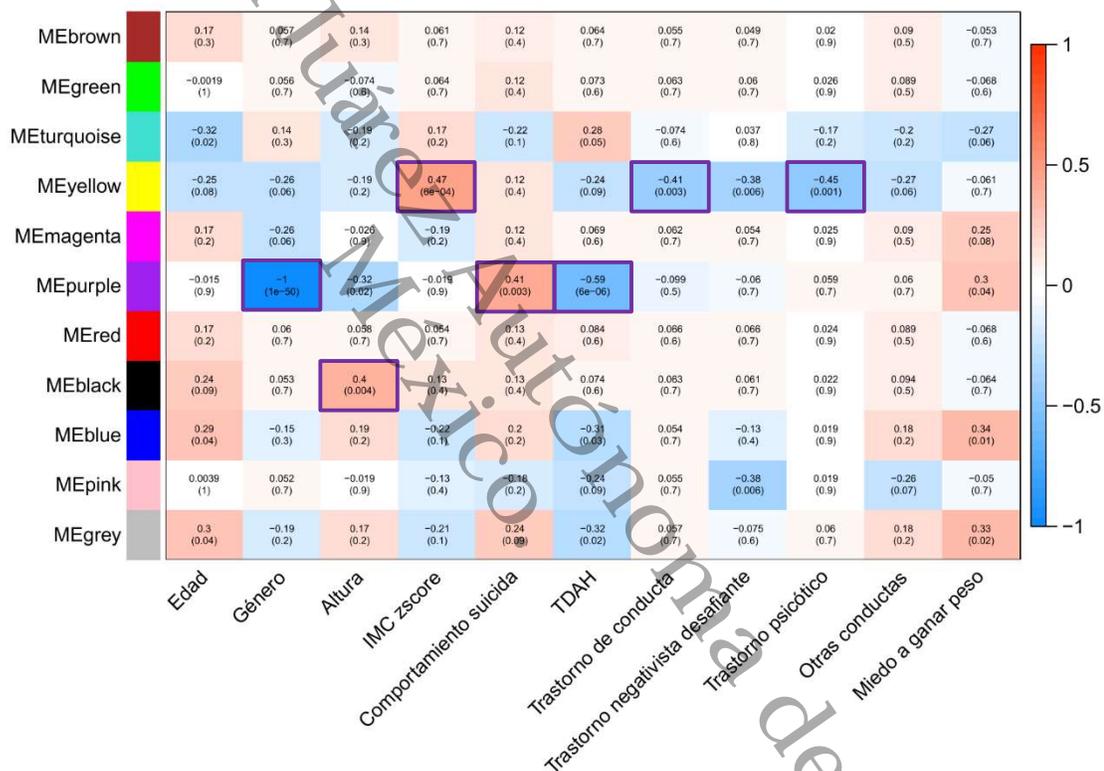
#### **4.7. Correlaciones de módulos con características clínicas en nuestra población.**

Siete características clínicas y comorbilidades se correlacionaron con diferentes módulos de metilación (Figura 11). El módulo amarillo correlacionó con el IMC zscore ( $R^2 = 0.47$ ,  $p = 0.0006$ ), trastorno de conducta ( $R^2 = -0.41$ ,  $p = 0.0030$ ), y trastorno psicótico ( $R^2 = -0.45$ ,  $p = 0.0010$ ). Mientras, el módulo de metilación púrpura se correlacionó con el género ( $R^2 = -1$ ,  $p < 1e-50$ ), comportamiento suicida

( $R^2 = 0.41$ ,  $p = 0.0030$ ), y trastorno por déficit de atención e hiperactividad ( $R^2 = 0.59$ ,  $p = 6e-06$ ). Finalmente, el módulo negro se correlacionó con altura ( $R^2 = 0.4$ ,  $p = 0.0040$ ). Notablemente, las características clínicas no se correlacionaron con más de un módulo a la vez.

**Figura 11.**

*Mapa de calor de las correlaciones entre módulos y características clínicas.*



*Nota.* Cada celda contiene el valor de  $R^2$  ( $p$ ) de la correlación entre el módulo de metilación y la característica clínica. El color rojo indica una correlación positiva, el color azul indica una correlación negativa y blanco indica sin correlación. Los recuadros púrpuras indican correlaciones significativas ( $p < 5 \times 10^{-3}$ )

#### 4.8. Correlaciones de SNP con los módulos.

Siete módulos de cometilación tuvieron correlaciones con algún SNP (marrón, verde, amarillo, magenta, rojo, negro, y rosa). Las características completas de todos los SNPs correlacionados se encuentran en las Tablas anexas 11-17. Los SNP estuvieron localizados mayormente en regiones intrónicas, con un rango desde 33.96% en el módulo rojo (18 SNP) hasta 55.56% en el módulo amarillo (15 SNP). Otra localización frecuente fue en regiones intergénicas, con un rango desde 14.81% en el módulo amarillo (4 SNP) hasta 31.71% en el módulo negro (13 SNP). Sin embargo, la localización más frecuente en el módulo verde fue en regiones intergénicas (28.13%, 9 SNP) seguidas por regiones intrónicas (21.88%, 7 SNP). La mayoría de los SNP correlacionados (89.95%, 206 SNP) estuvieron en regiones transcritas no codificantes de proteínas, mientras que el 10.05% (23 SNP) estuvieron en regiones que codifican proteínas (missense y sinónimas). Diecisiete SNP (7.42%) fueron anotados como variantes missense, los módulos rojo y negro tuvieron 4 SNP missense cada uno. Mientras tanto, seis SNP correlacionados (2.62%) se anotaron como variantes sinónimas, con dos SNP por módulo (marrón, amarillo, y rojo). Se observaron 10 SNP correlacionados (4.37%) en regiones regulatorias, aunque ninguno de estos estuvo en el módulo de cometilación amarillo. El módulo de cometilación magenta no presentó SNP anotados en las regiones upstream o downstream. Finalmente, los SNP correlacionados que se anotaron en las regiones no traducidas 3' (UTR, *Untranslated regions* [Regiones no traducidas]) fueron las menos frecuentes (2 SNPs, 0.87%), localizados dentro de los módulos magenta y rojo (Tabla 5).

**Tabla 5.***Anotaciones de los SNP correlacionados con los módulos.*

	Marrón	Verde	Amarillo	Magenta	Rojo	Negro	Rosa	Total
3'UTR	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (5.88)	1 (1.89)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (0.89)
Downstream	0 (0.00)	2 (6.25)	1 (3.70)	0 (0.00)	4 (7.55)	1 (2.44)	1 (5.00)	9 (4)
Intergénica	7 (17.95)	9 (28.13)	4 (14.81)	5 (29.41)	13 (24.53)	13 (31.71)	4 (20.00)	55 (24.4)
Intron	19 (48.72)	7 (21.88)	15 (55.56)	7 (41.18)	18 (33.96)	14 (34.15)	7 (35.00)	87 (38.67)
Missense	3 (7.69)	1 (3.13)	2 (7.41)	1 (5.88)	4 (7.55)	4 (9.76)	2 (10.00)	17 (7.56)
No codificante	3 (7.69)	8 (28.13)	2 (7.41)	1 (5.88)	6 (13.21)	5 (14.64)	3 (20.00)	28 (12.44)
Regulatoria	1 (2.56)	3 (9.38)	0 (0.00)	2 (11.76)	2 (3.77)	1 (2.44)	1 (5.00)	10 (4.44)
Sinónima	2 (5.13)	0 (0.00)	2 (7.41)	0 (0.00)	2 (3.77)	0 (0.00)	0 (0.00)	6 (2.67)
Upstream	4 (10.26)	1 (3.13)	1 (3.70)	0 (0.00)	2 (3.77)	2 (4.88)	1 (5.00)	11 (4.89)

Nota. Los códigos de dbSNP fueron anotados utilizando el archivo InfiniumPsychArray-24v1-3\_A1\_b150\_rsids. Los SNP fueron anotados a las regiones codificantes utilizando Ensembl Variant Effect Predictor. Datos expresados en n de SNP, (%) en columnas.

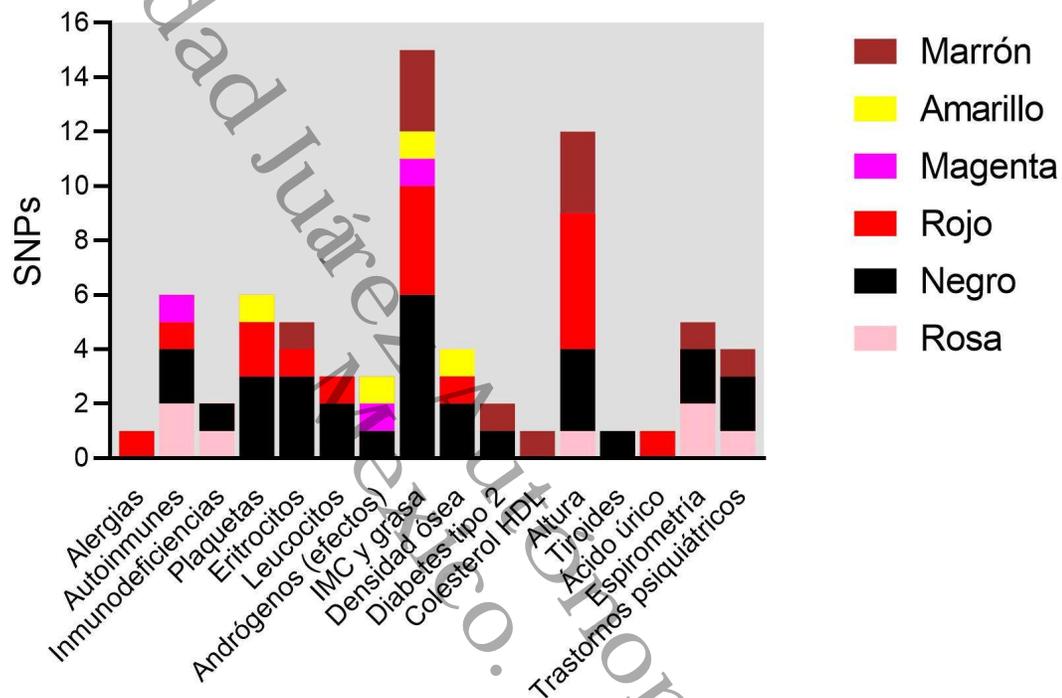
#### 4.9. PheWAS de los SNP correlacionados.

Con respecto a las características clínicas, el IMC, la grasa corporal y a altura fueron los fenotipos más frecuentemente asociados con los SNP (Figura 12). En cuanto a los trastornos psiquiátricos, se encontraron múltiples SNP asociados con tres módulos de metilación. El módulo marrón tuvo un SNP asociado con síntomas depresivos y neuroticismo (rs4598994). Asimismo, el módulo rosa se asoció con afecto depresivo (rs4800995), y dos SNP se asociaron con esquizofrenia (rs3129012 y rs356971) en el módulo de metilación negro. Además, siete SNP correlacionados con cuatro módulos de metilación se asociaron con enfermedades autoinmunes. Un SNP del módulo magenta se asoció con artritis reumatoide y enfermedad de Crohn (rs1893217). Igualmente, los SNP en los módulos rojo (rs3095345) y rosa (rs9267546 y rs9267547) se asociaron con artritis reumatoide y diabetes tipo 1. Además, el módulo de metilación negro se asoció

con colangitis esclerosante primaria (rs3129012 y rs356971), vitíligo autoinmune y lupus eritematoso sistémico (rs356971).

**Figura 12.**

*Fenotipos asociados a los SNP correlacionados con los módulos.*



Nota. Los colores representan el m6dulo al que pertenece cada SNP. Las categorías agrupan los rasgos a los cuales los SNPs se encuentran asociados en GWAS previos.

Por 6ltimo, los m6dulos de metilaci6n amarillo y negro estuvieron correlacionados con características clínicas en nuestra poblaci6n (IMC zscore, trastorno de conducta, trastorno psic6tico y altura), y estos m6dulos fueron correlacionados con SNP asociados a nivel de genoma completo con fenotipos similares. Mientras que el m6dulo amarillo se correlacion6 con un SNP (rs10494217) asociado con el índice cintura-cadera en PheWAS, el m6dulo negro se correlacion6 con tres SNP asociados con la altura (rs9349206, rs11761528 y rs17726787).

## 5. Discusión

Diversos estudios evalúan las características clínicas, variantes genéticas y sitios de metilación del ADN involucrados en los TCA. No obstante, ninguno de estos estudios valoró todos estos factores de manera conjunta (Bulik et al., 2019; Hübel et al., 2019; Watson et al., 2019). A la fecha, la información disponible acerca de la integración de estos niveles de información biológica en los TCA es escasa.

### 5.1. Correlaciones con el IMC

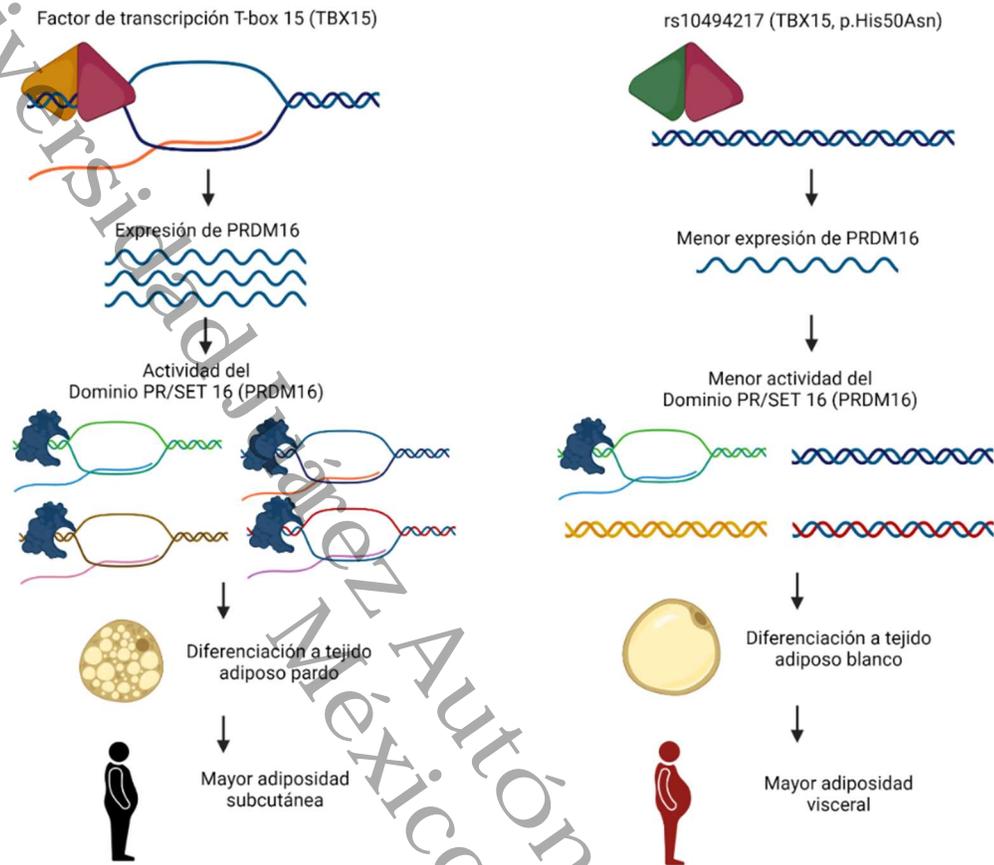
El IMC es una característica clínica importante en los individuos diagnosticados con un TCA, debido su alto impacto en el metabolismo (Genis-Mendoza *et al.*, 2020). La APA (2013) sugiere un IMC bajo como criterio diagnóstico para la anorexia nervosa, mientras que bulimia nervosa y trastorno por atracón están relacionados con riesgo de sobrepeso y obesidad (Hay, 2020). También, el IMC se asocia con los TCA mediante escalas de riesgo poligénico. La BN y el TPA se asocian a variantes genéticas de sobrepeso y obesidad, mientras que AN presentó asociaciones negativas con el IMC (Abdulkadir *et al.*, 2020; Hübel *et al.*, 2021).

En esta investigación se encontraron correlaciones entre las características clínicas, metilación del ADN y los SNPs. Al construir los módulos de cometilación, estos módulos llenaron los vacíos que existen en la conexión entre los genes individuales y el desarrollo de la enfermedad (Nomiri *et al.*, 2022). Una de las correlaciones más importantes entre el IMC, la metilación del ADN (representada por los módulos de cometilación) y los SNPs en los pacientes con TCA se obtuvo en el módulo amarillo. Este módulo se correlacionó con rs10494217, un SNP con cambio de sentido que

sustituye una histidina por una asparagina en la posición 50 del *TBX15* (p.His50Asn). Asimismo, rs10494217 se asocia a nivel del genoma completo con el índice cintura-cadera (ICC). Igualmente, el ICC es una variable relacionada con el IMC (Pulit *et al.*, 2019). Con respecto a *TBX15*, este es un miembro de la familia T-box, los cuales son reguladores transcripcionales que juegan un papel importante en el desarrollo del esqueleto en extremidades, columna vertebral, cabeza, así como otros órganos (Papaioannou, 2001; Singh *et al.*, 2005). Más aún, este gen está reportado como un regulador del metabolismo en el tejido adiposo y fibras musculares, y se demostró que regula indirectamente la grasa corporal y el IMC (Lee *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2019). *TBX15* se expresa ampliamente en el tejido adiposo y su proteína se une al promotor de *PRDM16*, el cual es esencial para el paso de tejido graso blanco a pardo. La expresión reducida de la proteína codificada por *PRDM16* (Dominio PR/SET 16) promueve la obesidad e incrementa la grasa visceral cuando se consume una dieta alta en grasas (Cohen *et al.*, 2014). Dicho de otro modo, rs10494217 es una variante de cambio de sentido que reduciría la unión del Factor de Transcripción T-box 15 (la proteína codificada por *TBX15*) al promotor de *PRDM16* y, en consecuencia, alteraría la función del tejido adiposo y el IMC en sujetos con diagnóstico de TCA. Por lo tanto, una posible alteración de la expresión de *PRDM16* induciría a la reprogramación epigenética que se observó en el módulo de metilación amarillo (Figura 13). En el caso de los sitios CpG del módulo amarillo, estos se enriquecieron en las vías del metabolismo del ácido alfa-linolenico (*PLA2G4E* y *PLB1*) y señalización de VEGF (*AKT3*, *NFATC2*, *PLA2G4E* y *SHC2*); ambas son vías involucradas en la función del tejido adiposo y el IMC (Arensdorf *et al.*, 2017; Iyer *et al.*, 2012; Kuefner *et al.*, 2019; Sato *et al.*, 2014).

**Figura 13.**

*Efecto de rs10494217 (TBX15, p.His50Asn) sobre la adiposidad corporal.*



*Nota.* El gráfico propone la función del Factor de transcripción T-box 15, y cómo el SNP rs10494217 alteraría esta función, produciendo una diferente distribución de la adiposidad corporal.

Igualmente, el IMC mostró correlaciones importantes con el módulo negro en los pacientes con TCA. Este módulo se correlacionó con rs11761528, un polimorfismo intrónico de *ZKSCAN5* (dedo de zinc con dominios KRAB y SCAN 5). Este SNP está asociado con IMC y metabolismo del sulfato de androsterona (Pulit *et al.*, 2019; Shin *et al.*, 2014). Respecto a *ZKSCAN5*, existen pocos reportes sobre su función. Sin embargo, modelos en animales sugieren que este gen está correlacionado con el volumen de los adipocitos, presión sanguínea y masa cardíaca (Coan *et al.*, 2017). Las correlaciones entre IMC con la metilación del ADN y los SNPs en nuestros

pacientes con TCA recalca la importancia del IMC en estas enfermedades. Estas interacciones con la epigenética sugieren que los cambios en IMC, además de ser consecuencia de los TCA, también están involucrados en su desarrollo (Hübel *et al.*, 2021; Steiger y Booij, 2020).

## 5.2. Correlaciones con complicaciones cardíacas

Las complicaciones cardíacas son frecuentes en los pacientes con AN, alcanzando hasta 80% en algunos estudios. La AN severa produce cambios en la estructura cardíaca, aunque la mayoría de estas anomalías estructurales son reversibles (Fayssoil, Melchior, y Hanachi, 2021; Westmoreland, Krantz, y Mehler, 2016). En este estudio, el módulo negro se correlacionó con SNPs y vías celulares relacionadas con el desarrollo cardíaco. Un SNP correlacionado con el módulo negro es rs17726787, una variante intrónica de *CELF1*. Estudios de genoma completo asocian este SNP con la altura y la masa magra (Watanabe *et al.*, 2019; Yengo *et al.*, 2018). Además, las alteraciones en la expresión de *CELF1* están relacionadas con cardiopatías (Belanger *et al.*, 2018; K.-T. Chang *et al.*, 2017; Y. Fang *et al.*, 2020). Por otra parte, el módulo negro se enriqueció en las vías de señalización de mTOR (*IGF1R*, *LPIN1* y *RPS6KA2*), una vía que es esencial para el desarrollo cardíaco (Sciarretta *et al.*, 2018; Sciarretta, Volpe, y Sadoshima, 2014). Los datos sugieren que las variaciones genéticas como rs17726787 pueden alterar la epigenética de la vía de señalización de mTOR. No obstante, esta correlación entre rs17726787, la vía de mTOR y el módulo negro no se vio reflejada en las características clínicas de los pacientes con TCA de este estudio. Por lo tanto, se

requiere de investigaciones que exploren las relaciones entre CELF1, la epigenética de la vía de mTOR y las cardiopatías en los individuos con diagnóstico de TCA.

### **5.3. Correlaciones con comorbilidades psiquiátricas**

En nuestra muestra se correlacionaron genes y SNPs asociados a la esquizofrenia, a pesar de que los módulos de metilación no se correlacionaron con la presencia de trastornos psicóticos en nuestros pacientes. Existe evidencia de una prevalencia alta de esquizofrenia entre los individuos con TCA (Kouidrat *et al.*, 2014). En estudios genéticos previos, AN se asoció con esquizofrenia y otros trastornos psiquiátricos (Duncan *et al.*, 2017; Watson *et al.*, 2019). Además, con escalas de riesgo poligénico, AN y TPA se asociaron a esquizofrenia así como a otras enfermedades psiquiátricas (Hübel *et al.*, 2021).

Dos de los SNPs asociados a esquizofrenia en nuestros datos fueron rs760179 y rs11778654. Los SNPs se correlacionaron con el módulo rojo, y se encuentran en *DLGAP2*. Este gen está asociado con hipermetilación en pacientes con AN (Booij *et al.*, 2015). Asimismo, las variantes de *DLGAP2* están relacionadas con esquizofrenia y trastornos del espectro autista (Rasmussen, Rasmussen, y Silahtaroglu, 2017). Otros SNP asociados a esquizofrenia fueron rs356971 y rs3129012, los cuales se correlacionaron con el módulo negro (Pardiñas *et al.*, 2018; Pulit *et al.*, 2019). Además, una vía enriquecida para los sitios CpG del módulo negro fue adicción a la morfina, con los genes *GABBR2*, *GABRP* y *PDE4B*. A su vez, Los polimorfismos del gen *PDE4B* se asociaron con susceptibilidad a la esquizofrenia (Feng *et al.*, 2016). Las correlaciones de los módulos de metilación con SNPs

previamente asociados a esquizofrenia sugiere que existe carga genética para esta enfermedad en los individuos de nuestra muestra, a pesar de que pocos de ellos (n=5) mostraron síntomas clínicos. Por otra parte, el módulo púrpura se correlacionó con riesgo de suicidio y TDAH. Sin embargo, el módulo púrpura no se correlacionó con módulos ni se vio enriquecido en vías funcionales.

#### **5.4. Correlaciones con enfermedades autoinmunes**

Aunque los módulos de cometilación no se correlacionaron directamente con las enfermedades autoinmunes, encontramos SNPs asociados a estas enfermedades. Los mecanismos inmunológicamente mediados están sugeridos como parte del desarrollo de los TCA, además existen estudios sobre un incremento del riesgo de enfermedades autoinmunes en los TCA (Raevuori *et al.*, 2014; Zerwas *et al.*, 2017). El incremento del riesgo es mutuo, está reportado que los pacientes con diabetes tipo 1 presentan un riesgo elevado para desarrollar algún TCA (Marucci *et al.*, 2021). Igualmente, un GWAS asoció AN con un locus en el cromosoma 12 previamente asociado con diabetes tipo 1 y otras enfermedades autoinmunes (Duncan *et al.*, 2017).

En nuestros sujetos, encontramos los SNPs rs356971 y rs3129012. Estos SNP, además de estar asociados a la esquizofrenia, se asocian con la concentración de hemoglobina, conteo de leucocitos, conteo de plaquetas, colangitis esclerosante primaria, vitíligo autoinmune, deficiencia de IgA y lupus eritematoso sistémico (Astle *et al.*, 2016; Bronson *et al.*, 2016; Ji *et al.*, 2017; Julià *et al.*, 2018). Otros de los SNPs detectados (rs3095345 del módulo rojo; rs9267546 y rs9267547 del módulo

rosa) se asocian a diabetes tipo 1 (Barrett *et al.*, 2009; Bradfield *et al.*, 2011) y artritis reumatoide (Okada *et al.*, 2014). Estudios recientes sugieren que existe influencia psiquiátrica, metabólica e inmunológica involucrada en el desarrollo de los TCA. La autoinmunidad tendría un papel bidireccional, aumentando el riesgo de TCA en las enfermedades autoinmunes y viceversa (Butler, Perrini, y Eckel, 2021; Sirufo, Ginaldi, y De Martinis, 2021).

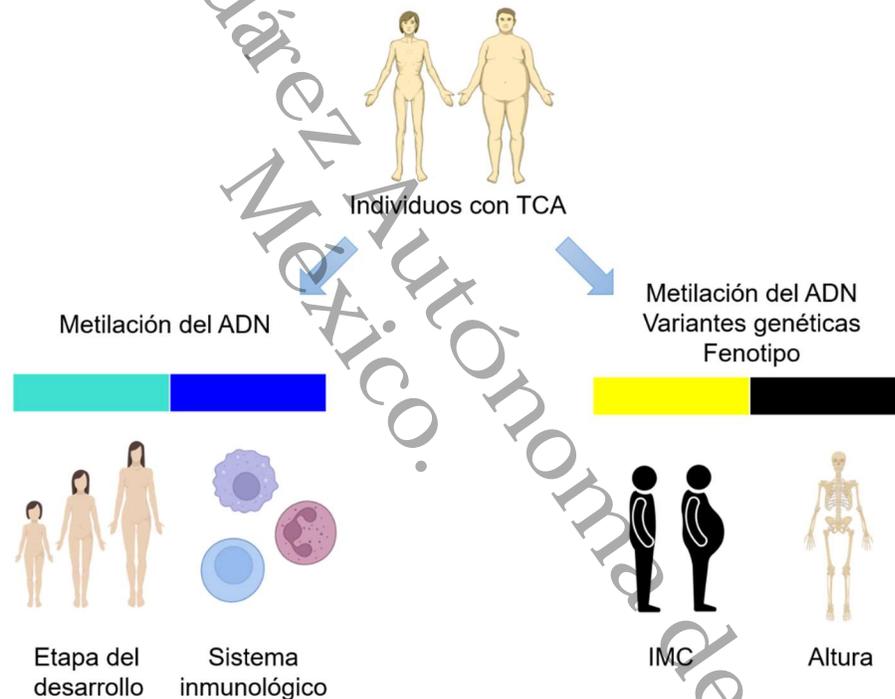
### **5.5. Enriquecimientos de vías significativos**

Por otra parte, los módulos turquesa y azul no sufrieron alteraciones debidas al efecto genético de los SNP de los pacientes con un TCA. Estos módulos se enriquecieron en vías asociadas con el sistema inmunológico: diferenciación de las células Th1 y Th2, vías de señalización de TNF, y adhesión focal. Asimismo, el módulo turquesa se enriqueció en vías relacionadas con el estado del desarrollo. La construcción de este módulo se vio influida por la etapa del desarrollo en la cual se encontraban los individuos de nuestra muestra, es decir, adolescentes en su mayoría (Almstrup *et al.*, 2016). Una de estas vías fue la vía de señalización de la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas), la cual se activa al comienzo del desarrollo puberal y depende de señalización neuroendocrina (Abreu y Kaiser, 2016; Herbison, 2016; Livadas y Chrousos, 2016). Otra de las vías enriquecidas está asociada con adiponectina (adiponectina/CaMKK/AMPK) (H. Fang y Judd, 2018; Z. V. Wang y Scherer, 2016). Algunos autores sugieren que los niveles de adiponectina cambian durante el desarrollo puberal (Sitticharoon *et al.*, 2017; Woo *et al.*, 2005). Asimismo, la metilación parcial de estos módulos sugiere activación de

la transcripción en estas vías. La detección de estos módulos probablemente se debe al efecto de las alteraciones epigenéticas de fondo y la etapa del desarrollo celular del tejido utilizado para el análisis (leucocitos en sangre periférica). Los enriquecimientos y las correlaciones más significativos encontrados en el presente estudio se resumen en la Figura 14.

**Figura 14.**

*Correlaciones más significativas de los módulos de metilación.*



## 5.6. Limitaciones del estudio

El presente estudio tiene algunas limitaciones que deben tomarse en consideración. En primer lugar, no contamos con datos de un grupo control para hacer comparaciones. Sin embargo, nuestros hallazgos son valiosos debido a que se

correlacionaron SNPs asociados a rasgos relevantes a los TCA. Otra limitación es el limitado tamaño de la muestra en comparación con número de variables evaluadas. A pesar de que esta condición afecta el poder estadístico de nuestro análisis, las redes de metilación están diseñadas para agrupar sitios CpG y así reducir el número de variables. Según los autores de la herramienta de análisis, WGCNA requiere un mínimo de 20 muestras para construir redes de metilación biológicamente relevantes (Langfelder y Horvath, 2017). Finalmente, este estudio utilizó ADN de pacientes de origen mexicano. Es decir, algunos de nuestros resultados podrían no aplicarse a todas las poblaciones con TCA. En estudios futuros se podría incluir un grupo control en un análisis similar, además de estudiar como gen candidato de TCA a *TBX15* ya sea en humanos o en un modelo animal.

## 6. Conclusiones

De los resultados obtenidos en este estudio, se establecieron las siguientes conclusiones:

- Las características físicas y la presencia de algunas comorbilidades se correlacionaron con los módulos de metilación.
- Los módulos turquesa y azul se enriquecieron en vías posiblemente influidas por el estado de desarrollo de los individuos y el sistema inmunológico.
- Los SNP en regiones no codificantes de proteínas se correlacionaron más frecuentemente con los módulos de metilación.
- Los módulos amarillo y negro se correlacionaron con características físicas y con SNP previamente asociados con fenotipos similares.
- El SNP rs10494217 del gen *TBX15* podría afectar la adipogénesis y manifestarse como variaciones en el IMC de los individuos con TCA
- Estos datos sugieren que la variación genética puede afectar diferentes genes en la misma vía, y estas perturbaciones pueden reflejarse como variaciones en las características clínicas.

## 7. Bibliografía

- Abdulkadir, M., Herle, M., De Stavola, B. L., Hübel, C., Santos Ferreira, D. L., Loos, R. J. F., ... Micali, N. (2020). Polygenic Score for Body Mass Index Is Associated with Disordered Eating in a General Population Cohort. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4). doi:10.3390/jcm9041187
- Abreu, A. P., y Kaiser, U. B. (2016). Pubertal development and regulation. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4(3), 254-264. doi:10.1016/S2213-8587(15)00418-0
- Almstrup, K., Lindhardt Johansen, M., Busch, A. S., Hagen, C. P., Nielsen, J. E., Petersen, J. H., y Juul, A. (2016). Pubertal development in healthy children is mirrored by DNA methylation patterns in peripheral blood. *Scientific Reports*, 6(1), 28657. doi:10.1038/srep28657
- APA. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (5th ed.). Arlington, VA.: American Psychiatric Association,.
- Arensdorf, A. M., Dillard, M. E., Menke, J. M., Frank, M. W., Rock, C. O., y Ogden, S. K. (2017). Sonic Hedgehog Activates Phospholipase A2 to Enhance Smoothed Ciliary Translocation. *Cell Reports*, 19(10), 2074-2087. doi:10.1016/j.celrep.2017.05.033
- Astle, W. J., Elding, H., Jiang, T., Allen, D., Ruklisa, D., Mann, A. L., ... Soranzo, N. (2016). The Allelic Landscape of Human Blood Cell Trait Variation and Links to Common Complex Disease. *Cell*, 167(5), 1415-1429.e1419. doi:10.1016/j.cell.2016.10.042
- Barrett, J. C., Clayton, D. G., Concannon, P., Akolkar, B., Cooper, J. D., Erlich, H. A., ... The Type 1 Diabetes Genetics, C. (2009). Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nature Genetics*, 41(6), 703-707. doi:10.1038/ng.381
- Belanger, K., Nutter, C. A., Li, J., Tasnim, S., Liu, P., Yu, P., y Kuyumcu-Martinez, M. N. (2018). CELF1 contributes to aberrant alternative splicing patterns in the type 1 diabetic heart. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 503(4), 3205-3211. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.08.126>
- Bell, J. T., Pai, A. A., Pickrell, J. K., Gaffney, D. J., Pique-Regi, R., Degner, J. F., ... Pritchard, J. K. (2011). DNA methylation patterns associate with genetic and gene expression variation in HapMap cell lines. *Genome Biology*, 12(1), R10. doi:10.1186/gb-2011-12-1-r10
- Benjet, C., Méndez, E., Borges, G., y Medina-Mora, M. E. (2012). Epidemiología de los trastornos de la conducta alimentaria en una muestra representativa de adolescentes. *Salud mental*, 35, 483-490.
- Booij, L., Casey, K. F., Antunes, J. M., Szyf, M., Joober, R., Israël, M., y Steiger, H. (2015). DNA methylation in individuals with anorexia nervosa and in matched normal-eater controls: A genome-wide study. *International Journal of Eating Disorders*, 48(7), 874-882. doi:10.1002/eat.22374
- Booij, L., y Steiger, H. (2020). Applying epigenetic science to the understanding of eating disorders: a promising paradigm for research and practice. *Current Opinion in Psychiatry, Publish Ahead of Print*.

- Bradfield, J. P., Qu, H.-Q., Wang, K., Zhang, H., Sleiman, P. M., Kim, C. E., ... Hakonarson, H. (2011). A Genome-Wide Meta-Analysis of Six Type 1 Diabetes Cohorts Identifies Multiple Associated Loci. *PLOS Genetics*, 7(9), e1002293. doi:10.1371/journal.pgen.1002293
- Brazel, A. J., y Vernimmen, D. (2016). The complexity of epigenetic diseases. *The Journal of Pathology*, 238(2), 333-344. doi:10.1002/path.4647
- Bronson, P. G., Chang, D., Bhangale, T., Seldin, M. F., Ortmann, W., Ferreira, R. C., ... Behrens, T. W. (2016). Common variants at PVT1, ATG13-AMBRA1, AHI1 and CLEC16A are associated with selective IgA deficiency. *Nature Genetics*, 48(11), 1425-1429. doi:10.1038/ng.3675
- Bulik, C. M., Blake, L., y Austin, J. (2019). Genetics of Eating Disorders: What the Clinician Needs to Know. *Psychiatric Clinics of North America*, 42(1), 59-73. doi:<https://doi.org/10.1016/j.psc.2018.10.007>
- Bulik, C. M., Carroll, I. M., y Mehler, P. (2021). Reframing anorexia nervosa as a metabo-psychiatric disorder. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 32(10), 752-761. doi:10.1016/j.tem.2021.07.010
- Butler, M. J., Perrini, A. A., y Eckel, L. A. (2021). The Role of the Gut Microbiome, Immunity, and Neuroinflammation in the Pathophysiology of Eating Disorders. *Nutrients*, 13(2). doi:10.3390/nu13020500
- Ceccarini, M. R., Precone, V., Manara, E., Paolacci, S., Maltese, P. E., Benfatti, V., ... Bertelli, M. (2021). A next generation sequencing gene panel for use in the diagnosis of anorexia nervosa. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*. doi:10.1007/s40519-021-01331-0
- Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C. A. M., Vattikuti, S., Purcell, S. M., y Lee, J. J. (2015). Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4(1). doi:10.1186/s13742-015-0047-8
- Chang, K.-T., Cheng, C.-F., King, P.-C., Liu, S.-Y., y Wang, G.-S. (2017). CELF1 Mediates Connexin 43 mRNA Degradation in Dilated Cardiomyopathy. *Circulation Research*, 121(10), 1140-1152. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.311281
- Chen, M., Yan, J., Han, Q., Luo, J., y Zhang, Q. (2020). Identification of hub-methylated differentially expressed genes in patients with gestational diabetes mellitus by multi-omic WGCNA basing epigenome-wide and transcriptome-wide profiling. *J Cell Biochem*, 121(5-6), 3173-3184. doi:10.1002/jcb.29584
- Chuang, Y.-H., Paul, K. C., Bronstein, J. M., Bordelon, Y., Horvath, S., y Ritz, B. (2017). Parkinson's disease is associated with DNA methylation levels in human blood and saliva. *Genome Medicine*, 9(1), 76. doi:10.1186/s13073-017-0466-5
- Coan, P. M., Hummel, O., Garcia Diaz, A., Barrier, M., Alfazema, N., Norsworthy, P. J., ... Aitman, T. J. (2017). Genetic, physiological and comparative genomic studies of hypertension and insulin resistance in the spontaneously hypertensive rat. *Disease Models & Mechanisms*, 10(3), 297-306. doi:10.1242/dmm.026716
- Cohen, P., Levy, Julia D., Zhang, Y., Frontini, A., Kolodin, Dmitriy P., Svensson, Katrin J., ... Spiegelman, Bruce M. (2014). Ablation of PRDM16 and Beige

- Adipose Causes Metabolic Dysfunction and a Subcutaneous to Visceral Fat Switch. *Cell*, 156(1), 304-316. doi:10.1016/j.cell.2013.12.021
- Dhar, G. A., Saha, S., Mitra, P., y Nag Chaudhuri, R. (2021). DNA methylation and regulation of gene expression: Guardian of our health. *The Nucleus : an international journal of cytology and allied topics*, 1-12. doi:10.1007/s13237-021-00367-y
- Duncan, L., Yilmaz, Z., Gaspar, H., Walters, R., Goldstein, J., Anttila, V., ... Bulik, C. M. (2017). Significant Locus and Metabolic Genetic Correlations Revealed in Genome-Wide Association Study of Anorexia Nervosa. *American Journal of Psychiatry*, 174(9), 850-858. doi:10.1176/appi.ajp.2017.16121402
- Fang, H., y Judd, R. L. (2018). Adiponectin Regulation and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(3), 1031-1063. doi:<https://doi.org/10.1002/cphy.c170046>
- Fang, Y., Tao, Y., Zhou, H., y Lai, H. (2020). Promoting role of circ-Jarid2/miR-129-5p/Celf1 axis in cardiac hypertrophy. *Gene Therapy*. doi:10.1038/s41434-020-0165-5
- Fayssoil, A., Melchior, J. C., y Hanachi, M. (2021). Heart and anorexia nervosa. *Heart Failure Reviews*, 26(1), 65-70. doi:10.1007/s10741-019-09911-0
- Feng, Y., Cheng, D., Zhang, C., Li, Y., Zhang, Z., Wang, J., y Shi, Y. (2016). Association of PDE4B Polymorphisms with Susceptibility to Schizophrenia: A Meta-Analysis of Case-Control Studies. *PLOS ONE*, 11(1), e0147092. doi:10.1371/journal.pone.0147092
- Galmiche, M., Déchelotte, P., Lambert, G., y Tavalacci, M. P. (2019). Prevalence of eating disorders over the 2000–2018 period: a systematic literature review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 109(5), 1402-1413. doi:10.1093/ajcn/nqy342
- Garner, D. M., Olmsted, M. P., Bohr, Y., y Garfinkel, P. E. (1982). The Eating Attitudes Test: psychometric features and clinical correlates. *Psychological Medicine*, 12(4), 871-878. doi:10.1017/S0033291700049163
- Genis-Mendoza, A. D., Martínez-Magaña, J. J., Ruiz-Ramos, D., Gonzalez-Covarrubias, V., Tovilla-Zarate, C. A., Narvaez, M. L. L., ... Nicolini, H. (2020). Interaction of FTO rs9939609 and the native American-origin ABCA1 p.Arg230Cys with circulating leptin levels in Mexican adolescents diagnosed with eating disorders: Preliminary results. *Psychiatry Research*, 291, 113270. doi:<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113270>
- Groleau, P., Joober, R., Israel, M., Zeramardini, N., DeGuzman, R., y Steiger, H. (2014). Methylation of the dopamine D2 receptor (DRD2) gene promoter in women with a bulimia-spectrum disorder: Associations with borderline personality disorder and exposure to childhood abuse. *Journal of Psychiatric Research*, 48(1), 121-127. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.10.003>
- Hansen, K. D. (2017). IlluminaHumanMethylationEPICanno.ilm10b4.hg19: Annotation for Illumina's EPIC methylation arrays. Retrieved from [https://bitbucket.com/kasperdanielhansen/Illumina\\_EPIC](https://bitbucket.com/kasperdanielhansen/Illumina_EPIC)
- Hasin, Y., Seldin, M., y Luskis, A. (2017). Multi-omics approaches to disease. *Genome Biology*, 18(1), 83. doi:10.1186/s13059-017-1215-1

- Hay, P. (2020). Current approach to eating disorders: a clinical update. *Internal Medicine Journal*, 50(1), 24-29. doi:10.1111/imj.14691
- Herbison, A. E. (2016). Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(8), 452-466. doi:10.1038/nrendo.2016.70
- Hübel, C., Abdulkadir, M., Herle, M., Loos, R. J. F., Breen, G., Bulik, C. M., y Micali, N. (2021). One size does not fit all. Genomics differentiates among anorexia nervosa, bulimia nervosa, and binge-eating disorder. *International Journal of Eating Disorders*, 54(5), 785-793. doi:<https://doi.org/10.1002/eat.23481>
- Hübel, C., Marzi, S. J., Breen, G., y Bulik, C. M. (2019). Epigenetics in eating disorders: a systematic review. *Molecular Psychiatry*, 24(6), 901-915. doi:10.1038/s41380-018-0254-7
- Iranzo-Tatay, C., Hervás-Marin, D., Rojo-Bofill, L. M., Garcia, D., Vaz-Leal, F. J., Calabria, I., ... Rojo-Moreno, L. (2022). Genome-wide DNA methylation profiling in anorexia nervosa discordant identical twins. *Translational Psychiatry*, 12(1), 15. doi:10.1038/s41398-021-01776-y
- Iyer, A., Lim, J., Poudyal, H., Reid, R. C., Suen, J. Y., Webster, J., ... Brown, L. (2012). An Inhibitor of Phospholipase A<sup>2</sup>; Group IIA Modulates Adipocyte Signaling and Protects Against Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Diabetes*, 61(9), 2320. doi:10.2337/db11-1179
- Javaras, K. N., Laird, N. M., Reichborn-Kjennerud, T., Bulik, C. M., Pope Jr, H. G., y Hudson, J. I. (2008). Familiality and heritability of binge eating disorder: Results of a case-control family study and a twin study. *International Journal of Eating Disorders*, 41(2), 174-179. doi:<https://doi.org/10.1002/eat.20484>
- Ji, S.-G., Juran, B. D., Mucha, S., Folseraas, T., Jostins, L., Melum, E., ... The International, P. S. C. S. G. (2017). Genome-wide association study of primary sclerosing cholangitis identifies new risk loci and quantifies the genetic relationship with inflammatory bowel disease. *Nature Genetics*, 49(2), 269-273. doi:10.1038/ng.3745
- Julià, A., López-Longo, F. J., Pérez Venegas, J. J., Bonàs-Guarch, S., Olivé, À., Andreu, J. L., ... Fernández-Nebro, A. (2018). Genome-wide association study meta-analysis identifies five new loci for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy*, 20(1), 100. doi:10.1186/s13075-018-1604-1
- Kanehisa, M., y Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 27-30. doi:10.1093/nar/28.1.27
- Kortegaard, L. S., Hoerder, K., Joergensen, J., Gillberg, C., y Kyvik, K. O. (2001). A preliminary population-based twin study of self-reported eating disorder. *Psychological Medicine*, 31(2), 361-365. doi:10.1017/S0033291701003087
- Kouidrat, Y., Amad, A., Lalau, J.-D., y Loas, G. (2014). Eating Disorders in Schizophrenia: Implications for Research and Management. *Schizophrenia Research and Treatment*, 2014, 791573. doi:10.1155/2014/791573
- Kuefner, M. S., Deng, X., Stephenson, E. J., Pham, K., y Park, E. A. (2019). Secretory phospholipase A2 group IIA enhances the metabolic rate and increases glucose utilization in response to thyroid hormone. *The FASEB Journal*, 33(1), 738-749. doi:<https://doi.org/10.1096/fj.201800711R>

- Langfelder, P., y Horvath, S. (2008). WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 559. doi:10.1186/1471-2105-9-559
- Langfelder, P., y Horvath, S. (2017). WGCNA package FAQ. Tomado de <https://horvath.genetics.ucla.edu/html/CoexpressionNetwork/Rpackages/WGCNA/faq.html>
- Lee, K. Y., Sharma, R., Gase, G., Ussar, S., Li, Y., Welch, L., ... Kahn, C. R. (2017). Tbx15 Defines a Glycolytic Subpopulation and White Adipocyte Heterogeneity. *Diabetes*, 66(11), 2822. doi:10.2337/db17-0218
- Lee, K. Y., Singh, M. K., Ussar, S., Wetzel, P., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., ... Kahn, C. R. (2015). Tbx15 controls skeletal muscle fibre-type determination and muscle metabolism. *Nature Communications*, 6(1), 8054. doi:10.1038/ncomms9054
- Liao, Y., Wang, J., Jaehnig, E. J., Shi, Z., y Zhang, B. (2019). WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W199-W205. doi:10.1093/nar/gkz401
- Lin, X., Barton, S., y Holbrook, J. D. (2016). How to make DNA methylome wide association studies more powerful. *Epigenomics*, 8(8), 1117-1129. doi:10.2217/epi-2016-0017
- Livadas, S., y Chrousos, G. P. (2016). Control of the onset of puberty. *Current Opinion in Pediatrics*, 28(4), 551-558. doi:10.1097/MOP.0000000000000386
- Marucci, S., De Iaco, G., Lisco, G., Mariano, F., Giagulli, A. V., Guastamacchia, E., ... Triggiani, V. (2021). Eating Disorders and Type 1 Diabetes: a perspective. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 21, 1-1. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/1871530321666211109152353>
- Masotti, A., Da Sacco, L., Bottazzo, G. F., y Alisi, A. (2010). Microarray Technology: A Promising Tool in Nutrigenomics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 693-698. doi:10.1080/10408390903044156
- Mitchell, K. S., Neale, M. C., Bulik, C. M., Aggen, S. H., Kendler, K. S., y Mazzeo, S. E. (2010). Binge eating disorder: a symptom-level investigation of genetic and environmental influences on liability. *Psychological Medicine*, 40(11), 1899-1906. doi:10.1017/S0033291710000139
- Moore, L. D., Le, T., y Fan, G. (2013). DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23-38. doi:10.1038/npp.2012.112
- Moran, S., Arribas, C., y Esteller, M. (2015). Validation of a DNA methylation microarray for 850,000 CpG sites of the human genome enriched in enhancer sequences. *Epigenomics*, 8(3), 389-399. doi:10.2217/epi.15.114
- Morris, T. J., Butcher, L. M., Feber, A., Teschendorff, A. E., Chakravarthy, A. R., Wojdacz, T. K., y Beck, S. (2014). ChAMP: 450k Chip Analysis Methylation Pipeline. *Bioinformatics*, 30(3), 428-430. doi:10.1093/bioinformatics/btt684
- Munn, M. A., Stallings, M. C., Hyun Rhee, S., Sobik, L. E., Corley, R. P., Rhea, S. A., y Hewitt, J. K. (2010). Bivariate analysis of disordered eating characteristics in adolescence and young adulthood. *International Journal of Eating Disorders*, 43(8), 751-761. doi:<https://doi.org/10.1002/eat.20854>

- Nguyen, N. D., y Wang, D. (2020). Multiview learning for understanding functional multiomics. *PLOS Computational Biology*, 16(4), e1007677. doi:10.1371/journal.pcbi.1007677
- Nomiri, S., Karami, H., Baradaran, B., Javadrashid, D., Derakhshani, A., Nourbakhsh, N. S., ... Silvestris, N. (2022). Exploiting systems biology to investigate the gene modules and drugs in ovarian cancer: A hypothesis based on the weighted gene co-expression network analysis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112537. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112537>
- Okada, Y., Wu, D., Trynka, G., Raj, T., Terao, C., Ikari, K., ... the, G. c. (2014). Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*, 506(7488), 376-381. doi:10.1038/nature12873
- Papaioannou, V. E. (2001). T-box genes in development: From hydra to humans. In *International Review of Cytology* (Vol. 207, pp. 1-70). Cambridge, MA, USA: Academic Press.
- Pardiñas, A. F., Holmans, P., Pocklington, A. J., Escott-Price, V., Ripke, S., Carrera, N., ... Consortium, C. (2018). Common schizophrenia alleles are enriched in mutation-intolerant genes and in regions under strong background selection. *Nature Genetics*, 50(3), 381-389. doi:10.1038/s41588-018-0059-2
- Pulit, S. L., Stoneman, C., Morris, A. P., Wood, A. R., Glastonbury, C. A., Tyrrell, J., ... Lindgren, C. M. (2019). Meta-analysis of genome-wide association studies for body fat distribution in 694 649 individuals of European ancestry. *Human Molecular Genetics*, 28(1), 166-174. doi:10.1093/hmg/ddy327
- R Core Team. (2020). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <https://www.R-project.org/>
- Raeuori, A., Haukka, J., Vaarala, O., Suvisaari, J. M., Gissler, M., Grainger, M., ... Suokas, J. T. (2014). The Increased Risk for Autoimmune Diseases in Patients with Eating Disorders. *PLOS ONE*, 9(8), e104845. doi:10.1371/journal.pone.0104845
- Rasmussen, A. H., Rasmussen, H. B., y Silaharoglu, A. (2017). The DLGAP family: neuronal expression, function and role in brain disorders. *Molecular Brain*, 10(1), 43. doi:10.1186/s13041-017-0324-9
- Rodríguez-López, M. L., Martínez-Magaña, J. J., Ruiz-Ramos, D., García, A. R., Gonzalez, L., Tovilla-Zarate, C. A., ... Genis-Mendoza, A. D. (2021). Individuals Diagnosed with Binge-Eating Disorder Have DNA Hypomethylated Sites in Genes of the Metabolic System: A Pilot Study. *Nutrients*, 13(5). doi:10.3390/nu13051413
- Sato, H., Taketomi, Y., Ushida, A., Isogai, Y., Kojima, T., Hirabayashi, T., ... Murakami, M. (2014). The Adipocyte-Inducible Secreted Phospholipases PLA2G5 and PLA2G2E Play Distinct Roles in Obesity. *Cell Metabolism*, 20(1), 119-132. doi:10.1016/j.cmet.2014.05.002
- Sciarretta, S., Forte, M., Frati, G., y Sadoshima, J. (2018). New Insights Into the Role of mTOR Signaling in the Cardiovascular System. *Circulation Research*, 122(3), 489-505. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.311147

- Sciarretta, S., Volpe, M., y Sadoshima, J. (2014). Mammalian Target of Rapamycin Signaling in Cardiac Physiology and Disease. *Circulation Research*, 114(3), 549-564. doi:10.1161/CIRCRESAHA.114.302022
- Sheehan, D. V., Sheehan, K. H., Shytle, R. D., Janavs, J., Bannon, Y., Rogers, J. E., ... Wilkinson, B. (2010). Reliability and validity of the Mini International Neuropsychiatric Interview for Children and Adolescents (MINI-KID). *J Clin Psychiatry*, 71(3), 313-326. doi:10.4088/JCP.09m05305whi
- Shin, S.-Y., Fauman, E. B., Petersen, A.-K., Krumsiek, J., Santos, R., Huang, J., ... The Multiple Tissue Human Expression Resource, C. (2014). An atlas of genetic influences on human blood metabolites. *Nature Genetics*, 46(6), 543-550. doi:10.1038/ng.2982
- Singh, M. K., Petry, M., Haenig, B., Lescher, B., Leitges, M., y Kispert, A. (2005). The T-box transcription factor Tbx15 is required for skeletal development. *Mechanisms of Development*, 122(2), 131-144. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mod.2004.10.011>
- Sirufo, M. M., Ginaldi, L., y De Martinis, M. (2021). Peripheral Vascular Abnormalities in Anorexia Nervosa: A Psycho-Neuro-Immune-Metabolic Connection. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9). doi:10.3390/ijms22095043
- Sitticharoon, C., Sukharomana, M., Likitmaskul, S., Churintaraphan, M., y Maikaew, P. (2017). Increased high molecular weight adiponectin, but decreased total adiponectin and kisspeptin, in central precocious puberty compared with aged-matched prepubertal girls. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(12), 2466-2478.
- Steiger, H., y Booij, L. (2020). Eating Disorders, Heredity and Environmental Activation: Getting Epigenetic Concepts into Practice. *Journal of Clinical Medicine*, 9(5). doi:10.3390/jcm9051332
- Steiger, H., Booij, L., Kahan, McGregor, K., Thaler, L., Fletcher, E., ... Rossi, E. (2019). A longitudinal, epigenome-wide study of DNA methylation in anorexia nervosa: results in actively ill, partially weight-restored, long-term remitted and non-eating-disordered women. *J Psychiatry Neurosci*, 44(3), 205-213. doi:10.1503/jpn.170242
- Steiger, H., Labonté, B., Groleau, P., Turecki, G., y Israel, M. (2013). Methylation of the glucocorticoid receptor gene promoter in bulimic women: associations with borderline personality disorder, suicidality, and exposure to childhood abuse. *Int J Eat Disord*, 46(3), 246-255. doi:10.1002/eat.22113
- Strober, M., Freeman, R., Lampert, C., Diamond, J., y Kaye, W. (2000). Controlled Family Study of Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa: Evidence of Shared Liability and Transmission of Partial Syndromes. *American Journal of Psychiatry*, 157(3), 393-401. doi:10.1176/appi.ajp.157.3.393
- Subramanian, I., Verma, S., Kumar, S., Jere, A., y Anamika, K. (2020). Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. *Bioinformatics and Biology Insights*, 14, 1177932219899051. doi:10.1177/1177932219899051
- Sun, W., Zhao, X., Wang, Z., Chu, Y., Mao, L., Lin, S., ... Nie, T. (2019). Tbx15 is required for adipocyte browning induced by adrenergic signaling pathway. *Molecular Metabolism*, 28, 48-57. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.07.004>

- Szyf, M., y Bick, J. (2013). DNA Methylation: A Mechanism for Embedding Early Life Experiences in the Genome. *Child Development*, 84(1), 49-57. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1467-8624.2012.01793.x>
- Teschendorff, A. E., Marabita, F., Lechner, M., Bartlett, T., Tegner, J., Gomez-Cabrero, D., y Beck, S. (2013). A beta-mixture quantile normalization method for correcting probe design bias in Illumina Infinium 450 k DNA methylation data. *Bioinformatics*, 29(2), 189-196. doi:10.1093/bioinformatics/bts680
- Thaler, L., Gauvin, L., Joober, R., Groleau, P., de Guzman, R., Ambalavanan, A., ... Steiger, H. (2014). Methylation of BDNF in women with bulimic eating syndromes: Associations with childhood abuse and borderline personality disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 54, 43-49. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.04.010>
- Tian, Z., He, W., Tang, J., Liao, X., Yang, Q., Wu, Y., y Wu, G. (2020). Identification of Important Modules and Biomarkers in Breast Cancer Based on WGCNA. *Onco Targets Ther*, 13, 6805-6817. doi:10.2147/ott.S258439
- Trace, S. E., Thornton, L. M., Baker, J. H., Root, T. L., Janson, L. E., Lichtenstein, P., ... Bulik, C. M. (2013). A behavioral-genetic investigation of bulimia nervosa and its relationship with alcohol use disorder. *Psychiatry Research*, 208(3), 232-237. doi:<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.04.030>
- Uitterlinden, A. G. (2016). An Introduction to Genome-Wide Association Studies: GWAS for Dummies. *Semin Reprod Med*, 34(4), 196-204. doi:10.1055/s-0036-1585406
- Wan, Q., Tang, J., Han, Y., y Wang, D. (2018). Co-expression modules construction by WGCNA and identify potential prognostic markers of uveal melanoma. *Experimental Eye Research*, 166, 13-20. doi:<https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.10.007>
- Wang, M., Wang, L., Pu, L., Li, K., Feng, T., Zheng, P., ... Jin, L. (2020). LncRNAs related key pathways and genes in ischemic stroke by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). *Genomics*, 112(3), 2302-2308. doi:10.1016/j.ygeno.2020.01.001
- Wang, Y., He, B., Zhao, Y., Reiter, J. L., Chen, S. X., Simpson, E., ... Liu, Y. (2019). Comprehensive Cis-Regulation Analysis of Genetic Variants in Human Lymphoblastoid Cell Lines. *Frontiers in Genetics*, 10.
- Wang, Z. V., y Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, the past two decades. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(2), 93-100. doi:10.1093/jmcb/mjw011
- Watanabe, K., Stringer, S., Frei, O., Umičević Mirkov, M., de Leeuw, C., Polderman, T. J. C., ... Posthuma, D. (2019). A global overview of pleiotropy and genetic architecture in complex traits. *Nature Genetics*, 51(9), 1339-1348. doi:10.1038/s41588-019-0481-0
- Watson, H. J., Yilmaz, Z., Thornton, L. M., Hübel, C., Coleman, J. R. I., Gaspar, H. A., ... Eating Disorders Working Group of the Psychiatric Genomics, C. (2019). Genome-wide association study identifies eight risk loci and implicates metabo-psychiatric origins for anorexia nervosa. *Nature Genetics*, 51(8), 1207-1214. doi:10.1038/s41588-019-0439-2
- Westmoreland, P., Krantz, M. J., y Mehler, P. S. (2016). Medical Complications of Anorexia Nervosa and Bulimia. *The American Journal of Medicine*, 129(1), 30-37. doi:<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2015.06.031>

- Woo, J. G., Dolan, L. M., Daniels, S. R., Goodman, E., y Martin, L. J. (2005). Adolescent Sex Differences in Adiponectin Are Conditional on Pubertal Development and Adiposity. *Obesity Research*, 13(12), 2095-2101. doi:<https://doi.org/10.1038/oby.2005.260>
- Yanovski, S. Z., Marcus, M. D., Wadden, T. A., y Walsh, B. T. (2015). The Questionnaire on Eating and Weight Patterns-5: An updated screening instrument for binge eating disorder. *International Journal of Eating Disorders*, 48(3), 259-261. doi:10.1002/eat.22372
- Yengo, L., Sidorenko, J., Kemper, K. E., Zheng, Z., Wood, A. R., Weedon, M. N., ... the, G. C. (2018). Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700000 individuals of European ancestry. *Human Molecular Genetics*, 27(20), 3641-3649. doi:10.1093/hmg/ddy271
- Yilmaz, Z., Hardaway, J. A., y Bulik, C. M. (2015). Genetics and Epigenetics of Eating Disorders. *Adv Genomics Genet*, 5, 131-150. doi:10.2147/agg.S55776
- Zerwas, S., Larsen, J. T., Petersen, L., Thornton, L. M., Quaranta, M., Koch, S. V., ... Bulik, C. M. (2017). Eating Disorders, Autoimmune, and Autoinflammatory Disease. *Pediatrics*, 140(6), e20162089. doi:10.1542/peds.2016-2089
- Zhao, W., Langfelder, P., Fuller, T., Dong, J., Li, A., y Hovarth, S. (2010). Weighted Gene Coexpression Network Analysis: State of the Art. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, 20(2), 281-300. doi:10.1080/10543400903572753
- Zhou, D., Li, Z., Yu, D., Wan, L., Zhu, Y., Lai, M., y Zhang, D. (2015). Polymorphisms involving gain or loss of CpG sites are significantly enriched in trait-associated SNPs. *Oncotarget*; Vol 6, No 37.

## Anexo 1. Actividades realizadas durante la maestría.

Asistente del curso “Understanding Clinical Research: Behind the Statistics”, por parte de la University of Cape Town (en línea, junio de 2020).



Asistente del Curso Pre-Congreso “Bioinformática Básica 2020”, por parte de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. (en línea, noviembre de 2020).



Presentación del trabajo “Interacción farmacológica en pacientes con Diabetes Tipo 2 en una población tabasqueña” en el marco del LXIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. (en línea, noviembre de 2020).



Participación en la ponencia “Características de los pacientes que fallecieron por COVID-19 en un hospital de Villahermosa, Tabasco” en el marco del 6to Seminario Binacional México-Belice (en línea, junio de 2021).



Presentación del Minireview “Evaluation analysis between IL-6 levels and COVID-19 symptoms in Mexicans with psychiatric disorders” en el marco de la SAFIS + ALACF 2021 Joint Meeting (en línea, octubre de 2021).



SAFIS + ALACF 2021 joint meeting  
October 20-22, 2021

VIDEO POSTER ABSTRACTS  
Immunity - Inflammation - Cancer 1

17

**Evaluation analysis between IL-6 levels and COVID-19 symptoms in Mexicans with psychiatric disorders**

<sup>1</sup>Ramos-Méndez MA, <sup>1,4</sup>Juárez-Rojop IE, <sup>2</sup>González-Castro TB, <sup>3</sup>Tovilla-Zárate CA, <sup>4</sup>Villar-Soto M, <sup>1</sup>Alberto Nolasco G, <sup>4</sup>Villar-Juárez GE  
<sup>1</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias de la Salud. <sup>2</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Mendez. <sup>3</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco. <sup>4</sup> Hospital de Alta Especialidad de Salud Mental de Villahermosa, Tabasco. <sup>4</sup>Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.

Asistencia al VI Congreso Internacional de Investigación en Ciencias de la Salud por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (en línea, octubre 2021).



The image shows a certificate of recognition for Germán Alberto Nolasco Rosales. The certificate is titled "VI CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD" and is dated October 6, 7, and 8, 2021. It is organized by the University of Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) and Austin College. The certificate recognizes Germán Alberto Nolasco Rosales for his participation as an assistant. The certificate is signed by Dr. Maritza Mercedes Borjilla Dimas, Dr. Guillermo Álvarez Osorio, and Dr. José Isidoro Alcaraz. The certificate is dated October 2021 and is issued in Villahermosa, Tabasco, Mexico.

UJAT UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

UCM

AUSTIN COLLEGE

**VI CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD**  
06, 07 Y 08 DE OCTUBRE DE 2021  
"La Ciencia al Servicio de la Humanidad: COVID-19"

Otorgan el presente  
**Reconocimiento**  
**GERMÁN ALBERTO NOLASCO ROSALES**  
Por su participación como Asistente.

Villahermosa Tabasco México, octubre de 2021.

Mg. Patrício Oñiza Lagos  
Decano Facultad de Ciencias Sociales y Económicas  
Universidad Católica del Maule  
República de Chile

Dra. Maritza Mercedes Borjilla Dimas  
Profesora Decana de la Universidad de El Salvador

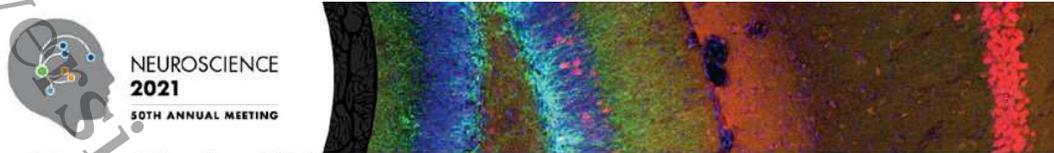
Dr. Guillermo Álvarez Osorio  
Rector de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco México

Dr. José Isidoro Alcaraz  
Rector de la Universidad de Murcia España

Dra. Julie Hermet  
Directora de Centro de Estudios del Sur y de Estudios Mexicanos  
Austin College Texas, USA

Libro: 13 Foja: 50 Curso: 863 Folio: 2419

Presentación en video del trabajo “Clinical features correlated with comethylation modules in mexican teenagers with eating disorders” en el marco de la 50th Annual Meeting of Society for Neuroscience 2021 (en línea, noviembre 2021).



**Abstract Control Number:** 2977

**Abstract Title:** Clinical features correlated with comethylation modules in mexican teenagers with eating disorders

G. NOLASCO-ROSALES<sup>1</sup>, J. MARTÍNEZ-MAGAÑA<sup>2</sup>, I. JUAREZ-ROJOP<sup>3</sup>, C.-Z. TOVILLA-ZARATE<sup>4</sup>, G. VILLAR-JUÁREZ<sup>5</sup>, A. GENIS-MENDOZA<sup>2</sup>, H. NICOLINI<sup>2</sup>;

<sup>1</sup>Univ. Juarez Autonoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico; <sup>2</sup>Inst. Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), Ciudad de Mexico, Mexico; <sup>3</sup>Univ. Juárez Autonoma De Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico; <sup>4</sup>Univ. Juarez Autonoma de Tabasco. DAMC, Comalcalco, Tabasco, Mexico; <sup>5</sup>Escuela de Medicina. Univ. Anáhuac Querétaro, Querétaro, Querétaro, Mexico

**Session Number:** P715

**Session Title:** Other Psychiatric Disorders Including Schizoffective and Eating Disorders

Presentación del trabajo “Incidencia de pacientes diabéticos tipo 1 con síndrome metabólico y su asociación con antecedentes heredofamiliares de diabetes tipo 2 en una población tabasqueña” en el marco del LXI Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología(Quintana Roo, diciembre 2021).



## Anexo 2. Artículos publicados.

Ruiz-Quiñonez JA, Guzmán-Priego CG, Nolasco-Rosales GA, Tovilla-Zarate CA, Flores-Barrientos OI, Narváez-Osorio V, et al. (2021). Features of patients that died for COVID-19 in a hospital in the south of Mexico: A observational cohort study. PLoS ONE 16(2): e0245394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245394>

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

### Features of patients that died for COVID-19 in a hospital in the south of Mexico: A observational cohort study

Jesús Arturo Ruiz-Quiñonez<sup>1\*</sup>, Crystell Guadalupe Guzmán-Priego<sup>2\*</sup>, Germán Alberto Nolasco-Rosales<sup>2</sup>, Carlos Alfonso Tovilla-Zarate<sup>3</sup>, Oscar Israel Flores-Barrientos<sup>1</sup>, Víctor Narváez-Osorio<sup>1</sup>, Guadalupe del Carmen Baeza-Flores<sup>2</sup>, Thelma Beatriz Gonzalez-Castro<sup>4</sup>, Carlos Ramón López-Brito<sup>1</sup>, Carlos Alberto Denis-García<sup>1</sup>, Agustín Pérez-García<sup>1</sup>, Isela Esther Juárez-Rojop<sup>2\*</sup>

**1** Secretaría de Salud, Hospital de Alta Especialidad Dr. Juan Graham Casasús, Villahermosa, Tabasco, México, **2** División Académica de Ciencias de la Salud, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México, **3** División Académica Multidisciplinaria de Comalcalco, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Comalcalco, Tabasco, México, **4** División Académica de Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Jalpa de Méndez, Tabasco, México

\* These authors contributed equally to this work.  
\* iselajuarezrojop@hotmail.com



#### OPEN ACCESS

**Citation:** Ruiz-Quiñonez JA, Guzmán-Priego CG, Nolasco-Rosales GA, Tovilla-Zarate CA, Flores-Barrientos OI, Narváez-Osorio V, et al. (2021) Features of patients that died for COVID-19 in a hospital in the south of Mexico: A observational cohort study. PLoS ONE 16(2): e0245394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245394>

**Editor:** Francesco Di Gennaro, National Institute for Infectious Diseases Lazzaro Spallanzani-IRCCS, ITALY

**Received:** September 16, 2020

**Accepted:** December 17, 2020

**Published:** February 19, 2021

**Peer Review History:** PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245394>

**Copyright:** © 2021 Ruiz-Quiñonez et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

#### Abstract

##### Background

Due to the wide spread of SARS-CoV2 around the world, the risk of death in individuals with metabolic comorbidities has dangerously increased. Mexico has a high number of infected individuals and deaths by COVID-19 as well as an important burden of metabolic diseases; nevertheless, reports about features of Mexican individuals with COVID-19 are scarce. The aim of this study was to evaluate demographic features, clinical characteristics and the pharmacological treatment of individuals who died by COVID-19 in the south of Mexico.

##### Methods

We performed an observational study including the information of 185 deceased individuals with confirmed diagnoses of COVID-19. Data were retrieved from medical records. Categorical data were expressed as proportions (%) and numerical data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Comorbidities and overlapping symptoms were plotted as Venn diagrams. Drug clusters were plotted as dendrograms.

##### Results

The mean age was 59.53 years. There was a male predominance (60.1%). The mean hospital stay was  $4.75 \pm 4.43$  days. The most frequent symptoms were dyspnea (88.77%), fever (71.42%) and dry cough (64.28%). Present comorbidities included diabetes (60.63%), hypertension (59.57%) and obesity (43.61%). The main drugs used for treating COVID-19 were azithromycin (60.6%), hydroxychloroquine (53.0%) and oseltamivir (27.3%).

Nolasco-Rosales, G.A.; Martínez-Magaña, J.J.; Juárez-Rojop, I.E.; González-Castro, T.B.; Tovilla-Zarate, C.A.; García, A.R.; Sarmiento, E.; Ruiz-Ramos, D.; Genis-Mendoza, A.D.; Nicolini, H. Association Study among Comethylation Modules, Genetic Polymorphisms and Clinical Features in Mexican Teenagers with Eating Disorders: Preliminary Results. *Nutrients* 2021, 13, 3210. <https://doi.org/10.3390/nu13093210>



Article

## Association Study among Comethylation Modules, Genetic Polymorphisms and Clinical Features in Mexican Teenagers with Eating Disorders: Preliminary Results

Germán Alberto Nolasco-Rosales <sup>1</sup>, José Jaime Martínez-Magaña <sup>2</sup>, Isela Esther Juárez-Rojop <sup>1</sup>, Thelma Beatriz González-Castro <sup>3</sup>, Carlos Alfonso Tovilla-Zarate <sup>4</sup>, Ana Rosa García <sup>5</sup>, Emmanuel Sarmiento <sup>5</sup>, David Ruiz-Ramos <sup>1</sup>, Alma Delia Genis-Mendoza <sup>2,\*</sup> and Humberto Nicolini <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Biomedical Postgraduate Program, Academic Division of Health Sciences, Juárez Autonomous University of Tabasco, Villahermosa 86000, Mexico; ganr\_1277@live.com.mx (G.A.N.-R.); iselajuarezrojop@hotmail.com (I.E.J.-R.); daruiz\_9146@hotmail.com (D.R.-R.)

<sup>2</sup> Genomes of Psychiatric and Neurodegenerative Diseases Laboratory, National Institute of Genomic Medicine (INMÉGEN), Mexico City 01090, Mexico; martinezmagana@inmegen.gob.mx

<sup>3</sup> Genomics Laboratory, Academic Division Jalpa de Méndez, Juárez Autonomous University of Tabasco, Jalpa de Méndez 86200, Mexico; thelma.glez.castro@gmail.com

<sup>4</sup> Genomics Laboratory, Comatecalco Multidisciplinary Academic Division, Juárez Autonomous University of Tabasco, Villahermosa 86000, Mexico; alfonso.tovillaz@yahoo.com.mx

<sup>5</sup> Children's Psychiatric Hospital "Dr. Juan N. Navarro", Mexico City 01090, Mexico; anarosgarcia@gmail.com (A.R.G.); emmanuel.sarmiento@hotmail.com (E.S.)

\* Correspondence: adgeris@inmegen.gob.mx (A.D.G.-M.); hnicolini@inmegen.gob.mx (H.N.); Tel.: +52-(53)-501900 (ext. 1196/1197) (A.D.G.-M. & H.N.)



**Citation:** Nolasco-Rosales, G.A.; Martínez-Magaña, J.J.; Juárez-Rojop, I.E.; González-Castro, T.B.; Tovilla-Zarate, C.A.; García, A.R.; Sarmiento, E.; Ruiz-Ramos, D.; Genis-Mendoza, A.D.; Nicolini, H. Association Study among Comethylation Modules, Genetic Polymorphisms and Clinical Features in Mexican Teenagers with Eating Disorders: Preliminary Results. *Nutrients* 2021, 13, 3210. <https://doi.org/10.3390/nu13093210>

Academic Editors: Daniel-Antonio de Luis Roman and Ana B. Crujeiras

Received: 9 July 2021

Accepted: 7 September 2021

Published: 15 September 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Eating disorders are psychiatric disorders characterized by disturbed eating behaviors. They have a complex etiology in which genetic and environmental factors interact. Analyzing gene-environment interactions could help us to identify the mechanisms involved in the etiology of such conditions. For example, comethylation module analysis could detect the small effects of epigenetic interactions, reflecting the influence of environmental factors. We used MethylationEPIC and Psycharray microarrays to determine DNA methylation levels and genotype from 63 teenagers with eating disorders. We identified 11 comethylation modules in WGCNA (Weighted Gene Correlation Network Analysis) and correlated them with single nucleotide polymorphisms (SNP) and clinical features in our subjects. Two comethylation modules correlated with clinical features (BMI and height) in our sample and with SNPs associated with these phenotypes. One of these comethylation modules (yellow) correlated with BMI and rs10494217 polymorphism (associated with waist-hip ratio). Another module (black) was correlated with height, rs9349206, rs11761528, and rs17726787 SNPs; these polymorphisms were associated with height in previous GWAS. Our data suggest that genetic variations could alter epigenetics, and that these perturbations could be reflected as variations in clinical features.

**Keywords:** comethylation modules; genetic polymorphisms; eating disorders; WGCNA

### 1. Introduction

Eating disorders (EDs) are severe psychiatric disorders characterized by disturbances of eating behavior, affecting the health and quality of life of individuals. These disorders have an early teenage onset and a hereditary component [1]. EDs have a complex etiology in which genetic and environmental factors interact [2]. Genome-wide association studies (GWAS) and other genetic studies have revealed loci and single nucleotide polymorphisms (SNP) associated with ED [1,3,4]. The clinical characteristics of EDs have been associated in genetic studies. In this sense, significant genetic correlations have been reported in anorexia nervosa with psychiatric disorders, physical activity and metabolic, lipid and

### Anexo 3. Tablas anexas.

Tabla anexa 1. Enriquecimientos del módulo marrón.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes superpuestos	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Metabolismo de drogas	hsa00982	72	10	2.6296	0.0149	0.7059
Diferenciación de células Th17	hsa04659	107	4	5.1706	0.0072	0.7059
Vías en cáncer	hsa05200	526	10	2.6296	0.0039	0.7059

Tabla anexa 2. Enriquecimientos del módulo verde.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes superpuestos	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Vía de señalización GMP-PKG	hsa04022	163	5	6.7385	0.0007	0.1040

Tabla anexa 3. Enriquecimientos del módulo turquesa.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes superpuestos	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Vías regulatorias de la longevidad	hsa04211	89	24	2.2255	0.0001	0.0046
Vía de señalización de GnRH	hsa04912	93	25	2.2186	7.6826E-05	0.0041
Glioma	hsa05214	71	19	2.2086	0.0005	0.0125
Sinapsis colinérgica	hsa04725	112	27	1.9896	0.0002	0.0090
Infección por citomegalovirus humano	hsa05163	225	44	1.6139	0.0007	0.0125
Endocitosis	hsa04144	244	47	1.5897	0.0007	0.0125

Tabla anexa 4. Enriquecimientos del módulo amarillo.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes superpuestos	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Vía de señalización VEGF	hsa04370	59	4	14.066	0.0001	0.0558
Metabolismo del ácido alfa linoleico	hsa00592	25	2	16.598	0.0063	0.6868
Hepatitis C	hsa05160	131	3	4.7513	0.0247	0.7719

Tabla anexa 5. Enriquecimientos del módulo magenta.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Inmunodeficiencia primaria	hsa05340	37	2	13.024	0.0101	0.7174
Regulación de la lipólisis en adipositos	hsa04923	54	2	8.9235	0.0208	0.8011
Metabolismo de glicerolípidos	hsa00561	61	2	7.8995	0.0262	0.8011
Vía de señalización de la insulina	hsa04910	137	4	7.0346	0.0023	0.7174
Contracción del músculo liso vascular	hsa04270	121	3	5.9736	0.0133	0.7174

Tabla anexa 6. Enriquecimientos del módulo púrpura.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Metabolismo de D-glutamina y D-glutamato	hsa00471	5	1	114.91	0.0086	1
Regulación de los canales TRP por mediadores de la inflamación	hsa04750	99	2	11.607	0.0123	1
Contracción del músculo liso vascular	hsa04270	121	2	9.4965	0.0180	1

Tabla anexa 7. Enriquecimientos del módulo rojo.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Degradación de otros glicanos	hsa00511	18	2	19.3	0.0046	0.5261
Metabolismo de taurina e hipotaurina	hsa00430	11	1	15.791	0.0615	1
Biosíntesis de hormonas esteroideas	hsa00140	60	3	8.6849	0.0048	0.5261
Resistencia a la insulina	hsa04931	107	4	6.4934	0.0031	0.5261
Vía de señalización de PPAR	hsa03320	74	2	4.6945	0.0673	1
Degradación de ARN	hsa03018	79	2	4.3974	0.0755	1
Moléculas de adhesión celular (CAMs)	hsa04514	144	3	3.6187	0.0494	1

Tabla anexa 8. Enriquecimientos del módulo negro.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Adicción a la morfina	hsa05032	91	3	6.6549	0.0100	1
Ciclo de vesículas sinápticas	hsa04721	63	2	6.4084	0.0385	1
Apoptosis	hsa04210	136	3	4.4529	0.0292	1
Vía de señalización mTOR	hsa04150	151	3	4.0106	0.0381	1

Tabla anexa 9. Enriquecimientos del módulo azul.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Diferenciación celular Th1 y Th2	hsa04658	92	24	3.7981	7.03E-09	6.87E-07
Rechazo de aloinjerto	hsa05330	38	8	3.0651	0.0036	0.0184
Cáncer endometrial	hsa05213	58	11	2.7613	0.0017	0.0111
Vía de señalización de TNF	hsa04668	110	20	2.6472	4.8994E-05	0.0006
Vía AGE-RAGE en complicaciones diabéticas	hsa04933	99	17	2.5001	0.0003	0.0033
Sistema de señalización de fosfatidilinositol	hsa04070	99	16	2.353	0.0010	0.0073
Glioma	hsa05214	71	11	2.2557	0.0085	0.0364
Vía reguladora de la longevidad	hsa04211	89	13	2.1267	0.0073	0.0324
Infección por citomegalovirus	hsa05163	225	32	2.0707	5.8812E-05	0.0007
Adhesión focal	hsa04510	199	27	1.9754	0.0004	0.0038

Tabla anexa 10. Enriquecimientos del módulo rosa.

Vía	KEGG ID	Genes en la vía	Genes sobrelapados	Tasa de enriquecimiento	p	FDR
Metabolismo de almidón y glucosa	hsa00500	36	2	11.215	0.0135	1
Infección por virus de Epstein-Barr	hsa05169	201	5	5.0215	0.0029	0.9468
Interacción ECM-receptor	hsa04512	82	2	4.9235	0.0619	1
Peroxisoma	hsa04146	83	2	4.8642	0.0632	1
Moléculas de adhesión celular (CAMs)	hsa04514	144	3	4.2055	0.0338	1
Procesamiento de proteínas en retículo endoplásmico	hsa04141	165	3	3.6703	0.0475	1

Tabla anexa 11. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo marrón.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlapped gene	Annotation	MA	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	2329783	rs2645065	MORN1	Intron	A	0.0566	0.0943	-0.69	2.17E-08
1	39562508	rs4660293	PABPC4	Intron	G	0.0755	0.1215	-0.69	3.23E-08
1	64681319	rs3828064	CACHD1	Synonymous	T	0.0566	0.0688	-0.76	2.17E-10
1	247982342	rs6695603	OR2L13	Intron	T	0.0566	0.1055	-0.69	2.98E-08
1	248063899	rs7527770	OR2L13	Intron	C	0.0566	0.1156	-0.69	2.98E-08
1	248086593	rs11204589	OR2L13	Intron	G	0.0566	0.1106	-0.69	2.98E-08
2	33797953	rs4313958	LINC01317	Intron	C	0.0660	0.0993	-0.70	1.89E-08
2	131340569	rs6430737	PLEKHB2	Intron	G	0.0660	0.0993	-0.71	5.73E-09
3	42690744	rs339698	KLHL40	Intron	C	0.0566	0.0530	-0.71	9.46E-09
3	131303198	rs73220537	NEK11	Intron	T	0.0566	0.0296	-0.71	1.05E-08
5	169127251	rs17070834	SLIT3	Intron	C	0.0566	0.1427	-0.74	9.38E-10
6	71759969	rs872209	—	Intergenic	C	0.0566	0.0721	-0.71	1.07E-08
6	72518705	rs9446692	—	Upstream gene	C	0.0566	0.0943	-0.71	8.24E-09
6	84557051	rs9294306	LINC01611	Upstream gene	A	0.0660	0.2512	-0.68	4.17E-08
6	95586684	rs62417812	MANEA	Missense (p.Thr82Ile)	T	0.0660	0.0392	-0.69	2.55E-08
8	29850352	rs13275481	—	Intron	A	0.0566	0.1028	-0.71	9.56E-09
8	54319153	rs6992754	—	Intergenic	G	0.0566	0.0967	-0.70	1.39E-08
8	56113670	rs35392772	MOS	Missense (p.Ala105Ser)	A	0.0566	0.0918	-0.71	9.19E-09
8	56166374	rs35883156	PLAG1	Missense (p.Pro458Thr)	T	0.0566	0.1013	-0.71	7.93E-09
8	56188232	rs13273123	PLAG1	Intron	G	0.0566	0.1250	-0.71	7.93E-09
8	98345696	rs11784029	—	Regulatory region	G	0.0660	0.1513	-0.69	2.50E-08
8	101038284	rs6994935	FLJ42969	Non coding transcript	T	0.0566	0.0508	-0.70	1.87E-08
8	111740738	rs7836329	LINC02237	Upstream gene	T	0.0566	0.0497	-0.71	9.62E-09
8	111874081	rs16882789	—	Intergenic	A	0.0566	0.0452	-0.71	9.62E-09
9	2408770	rs7038629	—	Intergenic	T	0.0566	0.0804	-0.70	1.45E-08
9	7897865	rs10758914	—	Intergenic	T	0.0566	0.0804	-0.71	8.49E-09
9	106131559	rs1120147	LINC01505	Non coding transcript	A	0.0566	0.0908	-0.70	1.41E-08
10	16431985	rs17319738	PTER	Upstream gene	T	0.0566	0.0887	-0.69	3.78E-08
10	33053400	rs11009199	ITGB1-DT	Intron	C	0.0660	0.1050	-0.71	6.35E-09
11	20491714	rs11025583	PRMT3	Intron	G	0.0566	0.1333	-0.70	1.55E-08

11	62102041	rs11603446	—	Intergenic	C	0.0566	0.1052	-0.69	3.42E-08
11	63475084	rs7944411	PLAAT5	Intron	G	0.0566	0.0601	-0.71	8.57E-09
12	96282552	rs35751611	CDK17	Synonymous	A	0.0566	0.0481	-0.70	1.87E-08
13	20476436	rs7989332	CRYL1	Intron	C	0.0566	0.1588	-0.69	2.64E-08
14	71382468	rs35866366	SIPA1L1	Intron	C	0.0660	0.1588	-0.69	2.84E-08
14	78082095	rs11159324	NRXN3	Intron	C	0.0755	0.0790	-0.69	3.72E-08
15	26790228	rs6576617	GABRB3	Intron	A	0.0566	0.1028	-0.73	1.32E-09
18	55081836	rs4598994	—	Intergenic	G	0.0566	0.0762	-0.70	1.18E-08
20	11294595	rs967972	—	Non coding transcript	G	0.0566	0.0849	-0.70	1.77E-08

Tabla anexa 12. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo verde.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlapped gene	Annotation	MA	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
2	2523869	rs6720427	—	Intergenic	C	0.0755	0.1710	-0.72	5.10E-09
2	52252113	rs12472885	LOC730100	Non coding transcript	G	0.0566	0.0684	-0.70	1.58E-08
2	165822638	rs4667840	LOC105373730	Non coding transcript	A	0.0566	0.0875	-0.74	7.21E-10
2	205904865	rs1362663	RN7SKP178	Downstream gene	A	0.0660	0.0566	-0.69	3.76E-08
2	205910806	rs4141999	—	Intergenic	G	0.0566	0.0271	-0.74	7.03E-10
2	212800341	rs7594160	LINC01878	Non coding transcript	C	0.0660	0.0672	-0.71	1.09E-08
2	215276514	rs10498034	LINC02862	Non coding transcript	T	0.0566	0.1348	-0.70	1.93E-08
2	234002284	rs11682848	TRPM8	Intron	C	0.0566	0.1241	-0.71	7.99E-09
3	114476756	rs76307454	ZBTB20	Intron	A	0.0566	0.0318	-0.74	6.42E-10
3	145577576	rs11721325	—	Intergenic	T	0.0755	0.1014	-0.70	1.30E-08
4	13110095	rs9991988	—	Intergenic	T	0.0566	0.0462	-0.72	3.71E-09
4	52825873	rs10008073	LINC01618	Non coding transcript	T	0.0566	0.0627	-0.70	1.42E-08
4	52845904	rs9993034	LINC01618	Non coding transcript	T	0.0566	0.0650	-0.70	1.42E-08
4	100965764	rs2645370	—	Intergenic	T	0.0566	0.1344	-0.70	1.61E-08
4	124738316	rs17772791	—	Intergenic	C	0.0660	0.1568	-0.74	7.23E-10
5	34079425	rs62366982	C1QTNF3-AMACR	Intron	A	0.0566	0.0557	-0.72	4.96E-09
5	114343507	rs36936	KCNN2	Intron	C	0.0566	0.1203	-0.70	1.62E-08
5	130278416	rs3919478	—	Regulatory region	T	0.0660	0.1152	-0.70	1.89E-08
6	98789603	rs12174549	—	Regulatory region	C	0.0566	0.1247	-0.69	2.60E-08
6	123738109	rs9482443	—	Intergenic	T	0.0566	0.1014	-0.70	1.70E-08
8	38914063	rs7386365	PLEKHA2	Intron	A	0.0660	0.1568	-0.71	9.10E-09

10	122755779	rs953355	DMBT1L1	Upstream gene	A	0.0566	0.1002	- 0.70	1.11E-08
10	123214610	rs6599665	—	Intergenic	A	0.0660	0.0615	- 0.71	5.86E-09
12	48526290	rs61941963	OR8S1	Missense (p.Arg220His)	A	0.0566	0.0891	- 0.70	1.66E-08
14	46263135	rs858893	LINC00871	Non coding transcript	A	0.0566	0.0650	- 0.69	2.26E-08
14	88833263	rs10141646	—	Regulatory region	A	0.0660	0.0865	- 0.71	9.42E-09
16	26076734	rs4442817	HS3ST4	Intron	G	0.0566	0.0696	- 0.69	3.18E-08
18	5952545	rs626823	L3MBTL4	Downstream gene	G	0.0566	0.0743	- 0.73	2.16E-09
18	9648421	rs12959303	LINC02856	Non coding transcript exon	T	0.0566	0.0908	- 0.69	2.35E-08
18	10377309	rs12965406	—	Non coding transcript	A	0.0566	0.1927	- 0.70	1.27E-08
19	28833553	rs1075733	—	Intergenic	A	0.0566	0.1135	- 0.70	2.07E-08
20	58219853	rs608502	ANKRD60	Intron	C	0.0566	0.0790	- 0.70	1.85E-08

Tabla anexa 13. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo amarillo.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlapped gene	Annotation	M A	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	118926565	rs10494217	TBX15	Missense (p.His50Asn)	T	0.0566	0.0857	- 0.71	9.39E-09
2	31265391	rs605588	EHD3	Intron	A	0.0660	0.0873	- 0.69	2.53E-08
2	53866819	rs1049894	PSME4	Synonymous	A	0.0566	0.0331	- 0.71	7.91E-09
2	85253299	rs7580690	TCF7L1	Intron	C	0.0566	0.1425	- 0.74	6.47E-10
2	102350330	rs10185897	IL1RL1	Intron	A	0.0566	0.0745	- 0.71	6.94E-09
2	224854976	rs16866236	DOCK10	Synonymous	A	0.0566	0.0544	- 0.74	7.06E-10
3	42393627	rs247421	LYZL4	Downstream gene	T	0.0566	0.0898	- 0.76	1.67E-10
3	61192802	rs17064607	FHIT	Intron	C	0.0566	0.0448	- 0.71	1.01E-08
3	125173702	rs503875	SLC12A8	Intron	G	0.0566	0.0401	- 0.70	1.48E-08
3	195113211	rs7652885	XXYL1	Intron	T	0.0660	0.1226	- 0.71	5.62E-09
4	177672114	rs13149928	—	Non coding transcript	C	0.0566	0.1773	- 0.71	1.02E-08
8	56600345	rs16920810	—	Intergenic	A	0.0566	0.1368	- 0.70	1.18E-08
8	137069047	rs4295697	LINC02055	Non coding transcript	G	0.0755	0.0896	- 0.70	1.80E-08
8	140362245	rs10110999	TRAPPC9	Intron	A	0.0566	0.1336	- 0.68	4.19E-08
10	47108035	rs709616	—	Intergenic	A	0.0566	0.0837	- 0.75	3.97E-10
10	98576923	rs4919244	HPSE2	Intron	C	0.0566	0.0675	- 0.75	2.83E-10
11	44698420	rs4643068	LINC02704	Upstream gene	G	0.0566	0.0884	- 0.69	3.18E-08
11	84563438	rs948141	DLG2	Intron	G	0.0660	0.1946	- 0.70	1.15E-08

11	84608916	rs1940085	DLG2	Intron	A	0.0566	0.2050	- 0.74	6.74E-10
12	3869495	rs11062885	PARP11	Intron	A	0.0660	0.2109	- 0.72	3.87E-09
12	59736407	rs2178671	SLC16A7	Intron	A	0.0660	0.0637	- 0.70	1.60E-08
12	105331857	rs11112469	C12orf75	Intron	T	0.0755	0.1415	- 0.68	4.99E-08
12	107593348	rs17757562	BTBD11	Intron	C	0.0566	0.0684	- 0.69	3.12E-08
14	94382864	rs709932	SERPINA1	Missense (p.Arg125His)	T	0.0566	0.1086	- 0.70	1.13E-08
15	27126450	rs117379055	GABRG3	Intron	G	0.0566	0.0331	- 0.75	5.01E-10
17	36660668	rs12453272	—	Intergenic	A	0.0566	0.0520	- 0.69	2.34E-08
21	24224251	rs2828922	—	Intergenic	G	0.0566	0.1038	- 0.71	7.10E-09

Tabla anexa 14. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo magenta.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlapped gene	Annotation	M A	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	29509484	rs9426279	—	Intergenic	T	0.0566	0.0920	- 0.72	4.30E-09
2	15341628	rs16862519	NBAS	Intron	T	0.0566	0.0296	- 0.70	1.56E-08
2	21604063	rs2216880	—	Non coding transcript	T	0.0566	0.0733	- 0.72	5.38E-09
2	223216936	rs10804318	—	Intergenic	G	0.0660	0.1548	- 0.72	5.35E-09
3	172954905	rs12636168	SPATA16	Intron	A	0.0660	0.1038	- 0.69	2.91E-08
4	140384440	rs75311634	SCOC	3'UTR	G	0.0660	0.0590	- 0.75	2.46E-10
5	34757561	rs17521570	RAI14	Missense (p.Ala47Thr)	A	0.0566	0.1137	- 0.71	7.57E-09
5	153515849	rs512983	GRIA1	Intron	T	0.0660	0.1418	- 0.69	2.23E-08
5	155710232	rs4532407	—	Intergenic	G	0.0566	0.0778	- 0.75	5.17E-10
7	46032526	rs7780838	LOC102723446	Regulatory region	T	0.0566	0.0830	- 0.70	1.28E-08
7	46077124	rs6968126	—	Intergenic	A	0.0566	0.0920	- 0.70	1.28E-08
9	101711604	rs2485530	GRIN3A	Intron	T	0.0566	0.0637	- 0.69	2.52E-08
10	133345696	rs2864417	ZNF511	Intron	G	0.0566	0.0330	- 0.70	1.38E-08
13	26887478	rs9551336	—	Intergenic	G	0.0566	0.0849	- 0.70	1.20E-08
16	53446200	rs4784311	RBL2	Intron	T	0.0566	0.1232	- 0.73	1.38E-09
18	12809341	rs1893217	PTPN2	Intron	G	0.0566	0.0719	- 0.69	2.25E-08
21	23952620	rs9977556	—	Regulatory region	C	0.0566	0.1097	- 0.69	2.64E-08

Tabla anexa 15. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo rojo.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlappe d gene	Annotation	M A	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	4481330	rs11799990	—	Non coding transcript exon	C	0.0566	0.1014	- 0.71	9.07E-09
1	66871602	rs1280338	DNAI4	Intron	A	0.0566	0.0837	- 0.75	2.93E-10
2	37473643	rs6544081	LOC105374 464	Non coding transcript	G	0.0755	0.1085	- 0.70	1.59E-08
2	42917816	rs11682091	—	Regulatory region	C	0.0660	0.1073	- 0.70	1.16E-08
2	44210078	rs6730278	PPM1B	Intron	A	0.0566	0.1170	- 0.69	2.68E-08
2	45968735	rs2711303	PRKCE	Intron	T	0.0566	0.1303	- 0.69	3.72E-08
2	66075739	rs10496131	LOC105369 168	Non coding transcript	A	0.0566	0.0991	- 0.70	1.17E-08
2	115416220	rs843393	DPP10	Intron	A	0.0566	0.0521	- 0.70	1.58E-08
2	224819449	rs7572725	DOCK10	Synonymou s	G	0.0566	0.1051	- 0.69	2.81E-08
3	163605240	rs4855274	—	Intergenic	A	0.0566	0.0519	- 0.72	3.42E-09
4	10903060	rs2904192	—	Intergenic	G	0.0660	0.0859	- 0.70	1.85E-08
4	162469697	rs17462361	—	Intergenic	A	0.0660	0.1185	- 0.69	2.54E-08
5	97608167	rs990698	LINC01340	Non coding transcript	T	0.0566	0.0995	- 0.69	2.32E-08
5	97624424	rs10515257	LINC01340	Non coding transcript	C	0.0566	0.1002	- 0.69	2.32E-08
5	172315288	rs7715800	—	Regulatory region	T	0.0566	0.0649	- 0.70	1.24E-08
6	24127032	rs74293212	NRSN1	Intron	A	0.0566	0.0875	- 0.70	1.61E-08
6	30854636	rs3095345	—	Intergenic	T	0.0566	0.0967	- 0.70	1.28E-08
6	97292775	rs17057619	—	Non coding transcript	G	0.0566	0.0389	- 0.70	1.42E-08
7	99866195	rs17161983	CYP3A43	Downstream gene	G	0.0566	0.0354	- 0.70	1.59E-08
7	99876178	rs73403577	OR2AE1	Missense (p.Ser286Pro)	G	0.0566	0.0398	- 0.70	1.59E-08
7	99876384	rs60737583	OR2AE1	Missense (p.Tyr217Cys)	C	0.0566	0.0400	- 0.70	1.59E-08
7	99876520	rs114518763	OR2AE1	Missense (p.Arg172Trp)	A	0.0566	0.0343	- 0.70	1.59E-08
7	99876535	rs115450325	OR2AE1	Missense (p.Pro167Thr)	T	0.0566	0.0321	- 0.70	1.59E-08
7	143732095	rs73154270	TCAF2P1	Downstream gene	T	0.0566	0.0437	- 0.69	2.18E-08
8	1292337	rs760179	DLGAP2	Intron	G	0.0660	0.1528	- 0.74	9.48E-10
8	1334677	rs11778654	DLGAP2	Intron	C	0.0660	0.1229	- 0.69	2.16E-08
8	8579613	rs10099072	RN7SL178 P	Downstream gene	C	0.0566	0.1392	- 0.70	1.89E-08
8	75503254	rs1380692	HNF4G	Intron	G	0.0566	0.1498	- 0.69	2.26E-08
8	95394568	rs3133749	C8orf37- AS1	Non coding transcript	A	0.0566	0.0981	- 0.74	6.85E-10

9	32899809	rs4879635	APTX	Intron	A	0.0755	0.1120	- 0.69	2.95E-08
9	96409349	rs10820564	ZNF367	Intron	A	0.0660	0.1061	- 0.76	1.66E-10
9	96426973	rs10820598	—	Intergenic	G	0.0769	0.1229	- 0.72	5.18E-09
9	96488181	rs7030316	HABP4	Synonymou s	T	0.0755	0.0970	- 0.72	5.18E-09
9	96500014	rs7871404	CDC14B	Intron	G	0.0755	0.1229	- 0.72	5.18E-09
9	114358400	rs7866925	AKNA	Intron	T	0.0566	0.1651	- 0.68	4.46E-08
10	55990954	rs1874155	—	Intergenic	G	0.0566	0.0912	- 0.75	4.96E-10
10	75797729	rs75160293	LRMDA	Intron	T	0.0566	0.0675	- 0.71	1.00E-08
13	56909229	rs9591778	—	Intergenic	G	0.0566	0.0757	- 0.69	3.56E-08
13	90125820	rs1491016	—	Intergenic	A	0.0566	0.1312	- 0.69	3.04E-08
13	90149707	rs992190	—	Intergenic	T	0.0566	0.1545	- 0.69	3.04E-08
14	51561058	rs17586183	FRMD6- AS2	Intron	G	0.0566	0.0991	- 0.70	1.59E-08
14	75280415	rs1063169	FOS	Intron	T	0.0660	0.0908	- 0.69	3.14E-08
15	40157612	rs55940969	BUB1B	Upstream gene	T	0.0566	0.0743	- 0.71	1.07E-08
15	59450811	rs8029746	FAM81A	Intron	A	0.0660	0.1651	- 0.68	4.92E-08
15	59453523	rs8025789	FAM81A	Intron	A	0.0660	0.1415	- 0.73	2.49E-09
16	287691	rs34665498	AXIN1	3'UTR	T	0.0566	0.0861	- 0.68	4.19E-08
17	5696705	rs1468636	—	Downstream gene	T	0.0566	0.1002	- 0.74	5.56E-10
19	32510840	rs6510250	—	Intergenic	C	0.0566	0.0851	- 0.75	2.72E-10
19	32514997	rs10408355	—	Intergenic	T	0.0566	0.1154	- 0.75	2.72E-10
20	44075848	rs16988687	—	Intergenic	C	0.0566	0.0898	- 0.73	2.43E-09
20	44216102	rs4812796	OSER1-DT	Intron	G	0.0566	0.0887	- 0.69	3.05E-08
20	60784474	rs941694	—	Intergenic	G	0.0566	0.1026	- 0.71	8.95E-09

Tabla anexa 16. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo negro.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlappe d gene	Annotation	M A	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	113276758	rs736202	—	Regulatory region	T	0.0566	0.0448	- 0.69	2.16E-08
1	207103034	rs11120211	C4BPA	Upstream gene	A	0.0566	0.0625	- 0.69	2.70E-08
1	207668589	rs12567945	CR1L	Intron	C	0.0566	0.0590	- 0.70	1.43E-08
1	207683909	rs3085	CR1L	Missense (p.Ile139Val)	G	0.0566	0.0535	- 0.70	1.43E-08
2	7961206	rs7597307	LINC00298	Non coding transcript	C	0.0566	0.0887	- 0.69	3.28E-08
3	108105214	rs162064	—	Intergenic	G	0.0566	0.1792	- 0.69	3.56E-08
5	146386611	rs879943	—	Intergenic	G	0.0566	0.0943	- 0.69	2.75E-08

6	10756495	rs72821581	TMEM14B	Missense (p.Arg108Cys)	T	0.0566	0.0002	- 0.74	7.22E-10
6	29868686	rs1611635	—	Non coding transcript	T	0.0566	0.0675	- 0.71	8.81E-09
6	30012020	rs356971	ZNRD1AS P	Non coding transcript	G	0.0566	0.0790	- 0.71	8.81E-09
6	30020865	rs3129012	ZNRD1AS P	Non coding transcript exon	A	0.0566	0.0712	- 0.71	8.81E-09
6	41960644	rs9349206	CCND3	Intron	A	0.0755	0.1888	- 0.71	6.38E-09
6	138781229	rs6927344	CCDC28A	Intron	C	0.0566	0.0333	- 0.70	2.00E-08
7	92724018	rs10234981	CDK6	Intron	C	0.0566	0.0928	- 0.70	1.53E-08
7	99521178	rs11761528	ZKSCAN5	Intron	T	0.0566	0.0845	- 0.74	7.09E-10
7	105985118	rs6980139	CDHR3	Intron	T	0.0660	0.0677	- 0.70	1.90E-08
8	134093964	rs7012570	—	Intergenic	T	0.0566	0.2663	- 0.74	9.05E-10
9	33956621	rs7869836	UBAP2	Intron	A	0.0660	0.0889	- 0.69	2.97E-08
9	38190819	rs4878763	—	Intergenic	G	0.0566	0.1288	- 0.69	2.38E-08
9	125023678	rs7857443	SCAI	Intron	G	0.0566	0.1587	- 0.74	7.47E-10
10	15901347	rs11253684	—	Intergenic	A	0.0660	0.1175	- 0.69	3.06E-08
10	91986663	rs11819184	BTAF1	Intron	G	0.0566	0.1371	- 0.70	1.11E-08
10	100647416	rs7068072	—	Intergenic	T	0.0566	0.1014	- 0.70	1.48E-08
10	107608386	rs10884481	—	Intergenic	G	0.0660	0.1464	- 0.68	4.55E-08
11	29160912	rs617346	—	Non coding transcript	C	0.0566	0.0908	- 0.70	1.54E-08
11	47507485	rs17726787	CELF1	Intron	A	0.0566	0.0723	- 0.69	4.05E-08
11	57248458	rs17151797	—	Intergenic	G	0.0566	0.0532	- 0.71	8.67E-09
13	67193281	rs9564380	PCDH9	Intron	C	0.0566	0.0972	- 0.70	1.86E-08
13	103642428	rs1331523	—	Intergenic	G	0.0566	0.0957	- 0.70	1.31E-08
14	92880101	rs17748637	—	Intergenic	T	0.0566	0.1351	- 0.70	1.74E-08
14	94469773	rs45438398	SERPINA9	Missense (p.Pro41Leu)	A	0.0566	0.1008	- 0.75	3.82E-10
14	98154677	rs17096531	—	Non coding transcript	A	0.0566	0.1561	- 0.74	1.14E-09
18	4752817	rs4797183	—	Intergenic	C	0.0566	0.1311	- 0.69	2.57E-08
18	8454503	rs10502370	—	Intergenic	C	0.0566	0.1219	- 0.70	1.41E-08
19	401907	rs116918090	C2CD4C	Downstream gene	A	0.0566	0.1696	- 0.69	3.27E-08
19	48098255	rs11564538	PLA2G4C	Missense (p.Pro161Leu)	A	0.0660	0.0432	- 0.73	1.94E-09
20	42423496	rs6030215	PTPRT	Intron	C	0.0566	0.1005	- 0.69	2.32E-08
20	42436876	rs6030238	PTPRT	Intron	A	0.0566	0.1274	- 0.69	2.32E-08
20	48234518	rs927150	—	Intergenic	A	0.0566	0.1173	- 0.69	2.40E-08

20	50672690	rs6020677	RIPOR3	Intron	G	0.0566	0.0946	- 0.76	2.35E-10
20	50695364	rs6096066	RIPOR3	Upstream gene	G	0.0566	0.1114	- 0.76	2.35E-10

Tabla anexa 17. SNPs que presentaron correlación significativa con el módulo rosa.

Chr	Base-pair position	SNP	Overlapped gene	Annotation	M A	MAF	MAF gnomAD	R <sup>2</sup>	p
1	12629686	rs12070206	—	Intergenic	A	0.0660	0.0802	- 0.70	1.76E-08
1	14854598	rs114069881	KAZN	Intron	T	0.0566	0.0283	- 0.71	6.42E-09
1	220493812	rs13376101	—	Intergenic	C	0.0566	0.0544	- 0.68	4.25E-08
3	145569585	rs2695775	—	Intergenic	A	0.0755	0.0979	- 0.68	4.46E-08
6	23202388	rs75395008	—	Regulatory region	A	0.0566	0.0472	- 0.74	6.64E-10
6	31705659	rs9267546	LY6G6F	Upstream gene	A	0.0566	0.1085	- 0.70	1.36E-08
6	31707724	rs9267547	LY6G6F	Missense (p.Ala107Thr)	A	0.0566	0.1023	- 0.70	1.36E-08
6	97071111	rs9374329	KLHL32	Intron	A	0.0660	0.0566	- 0.72	4.86E-09
6	162253061	rs6921358	PRKN	Intron	T	0.0566	0.1300	- 0.76	2.37E-10
9	82094111	rs9886873	LOC105376 107	Non coding transcript	C	0.0660	0.0519	- 0.71	9.58E-09
11	81143332	rs1357339	—	Intergenic	A	0.0566	0.0810	- 0.74	5.51E-10
12	75162474	rs1458621	KCNC2	Intron	C	0.0566	0.1202	- 0.69	3.72E-08
14	23792010	rs11622700	RN7SKP20 5	Non coding transcript exon	C	0.0566	0.1288	- 0.69	2.66E-08
14	23794735	rs11626329	RN7SKP20 5	Downstream gene	C	0.0566	0.1206	- 0.69	3.36E-08
16	67284339	rs8044843	PLEKHG4	Missense (p.Asp525Gly)	G	0.0566	0.1124	- 0.76	1.81E-10
16	67356545	rs11859352	LRRC36	Intron	G	0.0566	0.1256	- 0.76	1.81E-10
17	896607	rs2114	NXN	Intron	A	0.0566	0.1663	- 0.69	3.70E-08
18	14146360	rs8097141	—	Non coding transcript	G	0.0566	0.1031	- 0.77	9.32E-11
18	55748146	rs4800995	—	Non coding transcript	A	0.0566	0.1191	- 0.72	4.04E-09
22	47160588	rs754890	TBC1D22A	Intron	A	0.0566	0.1344	- 0.71	1.02E-08