

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Análisis de heteroplasma mitocondrial como herramienta para entender procesos de psicosis en adultos costarricenses

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Posgrado en Biología para optar al grado y título de Maestría Académica en Biología

María Mercedes Oreamuno Rodríguez

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2024

DEDICATORIA

A mi familia, a mi pareja, a Endora y a la memoria de la Dra. Sandra Silva de la Fuente

AGRADECIMIENTO

Deseo agradecer a mi comité de tesis. Al Dr. Gabriel Macaya Trejos por darme el honor de ser su aprendiz, por compartir su amplio conocimiento, por esa manera maravillosa en la que me permitió continuar el desarrollo del pensamiento crítico y la rigurosidad científica, y por su paternal guía en mi desarrollo profesional. A la Dra. Henriette Raventós Vorst por su valiosa guía, sus enseñanzas académicas y por creer en mí. A Dr. Ramiro Barrantes por sus consejos y por acceder a ser parte de este proyecto.

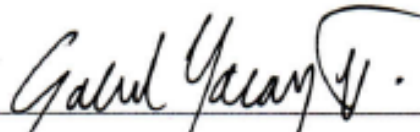
La ayuda técnica de M.Sc. Maria Fernanda Francis Cartín y M. Sc. Esteban Rodríguez fue clave en el desarrollo de este proyecto. A ellos y al Grupo de Psiquiatría Genética del CIBCM, mi agradecimiento y cariño.

Agradezco a mi familia por ser mi cimiento y alimentar mi insaciable sed de conocimiento, a mi pareja, por enseñarme el significado del amor y el apoyo incondicional. A Endora: mi compañía silenciosa y a la memoria eterna de la Dra. Sandra Silva de la Fuente, mi gratitud. Su amor maternal, su conocimiento y su confianza en mí hicieron la diferencia.

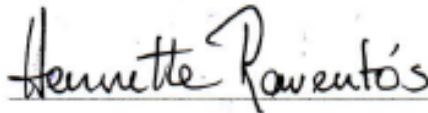
Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Posgrado en Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Biología.



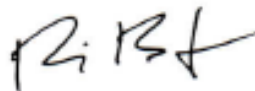
[Grado académico y nombre completo]
Decana o Representante de la Decana
Sistema de Estudios de Posgrado



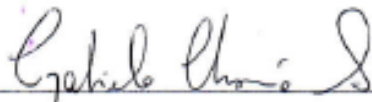
Dr. Gabriel Macaya Trejos
Director(a) de Tesis



Dra. Henriette Raventós Vorst
Asesora



Dr. Ramiro Barrantes Mesén
Asesor



Dra. Gabriela Chavarria Soley
Director (a) Coordinador (a) / Representante
Programa de Posgrado en Biología



María Mercedes Oreamuno Rodríguez
Sustentante

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
HOJA APROBACIÓN	iv
TABLA DE CONTENIDO	v
RESUMEN EN ESPAÑOL	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	26
ANEXOS	36
REFERENCIAS	173

RESUMEN EN ESPAÑOL

Los trastornos psiquiátricos tienen gran impacto en la sociedad. Estudios genéticos han intentado dilucidar los componentes hereditarios a los que se encuentran sujetos. El ADN mitocondrial es afectado por las especies reactivas de oxígeno producidos por la respiración celular. Esta investigación analiza la posible relación entre niveles altos de heteroplasmia y la presencia de psicosis en adultos costarricenses del Valle Central mediante el análisis de las secuencias mitocondriales. El método usado fue apropiado para extraer secuencias mitocondriales de alta calidad y también para detectar variantes con gran precisión. En individuos afectados se encontraron más sitios heteroplásmicos y presencia de heteroplasmia en más sitios codificantes. No hubo diferencia significativa en heteroplasmia total entre individuos sanos y afectados. Se encontró aumento de la presencia de heteroplasmia con la edad de manera significativa en individuos sanos. Los haplogrupos A, B y H fueron los predominantes. Más variantes en sitios codificantes para la NADH deshidrogenasa se hallaron en individuos afectados. Variantes muy frecuentes en la muestra han sido reportadas en la literatura como “raras” en poblaciones europeas y asiáticas y asociadas a patologías. El tamaño de la muestra pudo haber tenido un efecto en los resultados. Este estudio representa un primer acercamiento al estudio de heteroplasmia mitocondrial y de variantes de este tipo en la población costarricense.

ABSTRACT

Psychiatric disorders have a great impact on society. Genetic studies have attempted to elucidate the hereditary components to which they are subject. Mitochondrial DNA is affected by reactive oxygen species produced by cellular respiration. This research analyzes the possible relationship between high levels of heteroplasmy and the presence of psychosis in Costa Rican adults from the Central Valley by analyzing mitochondrial sequences. The method used was appropriate to extract high-quality mitochondrial sequences and also to detect variants with high precision. In affected individuals, more heteroplasmic sites and presence of heteroplasmy in more coding sites were found. There was no significant difference in total heteroplasmy between healthy and affected individuals. Healthy individuals showed an increase of heteroplasmy with age. Haplogroups A, B and H were predominant. More variants in NADH dehydrogenase coding sites were found in affected individuals. Very frequent variants in the sample have been reported in the literature as “rare” in European and Asian populations and associated with pathologies. The sample size may have had an effect on the results. This study represents a first approach to the study of mitochondrial heteroplasmy and variants of this type in the Costa Rican population.

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Genes presentes y zonas de importancia en el ADN mitocondrial (Lott et al., 2023).	3-4
Tabla II. Genes codificantes para ARN de transferencia en el ADN mitocondrial (Lott et al., 2023).	5-6
Tabla III. Distribución de los individuos por sexo y diagnóstico.	12
Tabla IV. Número de individuos sanos y afectados por grupo etario.	19
Tabla V. Número de individuos según haplogrupo mitocondrial.	21
Tabla VI. Variantes seleccionadas con su asociación reportada y el número de individuos sanos y afectados de la muestra que la poseen.	22
Tabla VII. Caso de variante presente en la madre y no heredada a hijo y de variante presente solamente en el hijo.	25-26
Tabla VIII. Profundidades de lectura por posición en individuos sanos y afectados.	36-163
Tabla IX. Variantes totales encontradas en individuos sanos y afectados.	164-173

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Molécula del ADN mitocondrial humano. (Modificado de Greiner et al., 2019).	7
Figura 2. Nivel de heteroplasmia por posición en el genoma mitocondrial.	16
Figura 3. Histograma de individuos sanos y su heteroplasmia total.	18
Figura 4. Histograma de individuos afectados y su heteroplasmia total.	18
Figura 5. Promedio de heteroplasmia por grupo etario en individuos sanos.	20
Figura 6. Promedio de heteroplasmia por grupo etario en individuos afectados.	20
Figura 7. Recuento de haplogrupos mitocondriales encontrados en la muestra.	21
Figura 8. Efecto de “cuello de botella” en la herencia de variantes mitocondriales maternas (Modificado a partir de McCormick et al., 2018).	33

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	En español	En inglés
ADN	ácido desoxirribonucleico	deoxyribonucleic acid
ARN	ácido ribonucleico	ribonucleic acid
ATP	adenosín trifosfato	adenosine triphosphate
CEC	comité ético científico	scientific ethics committee
DIGS	entrevista diagnóstica para estudios genéticos	diagnostic interview for genetic studies
DSM-IV	manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales-IV	diagnostic and statistical manual for mental disorders-IV
FIGS	entrevista familiar para estudios genéticos	family interview for genetic studies
GATK	herramientas de análisis genómico	genome analysis toolkit
HVR	región hipervariable	hypervariable region
MAF	frecuencia del alelo menos común	minor allele frequency
MED	mejor estimado diagnóstico	best estimate diagnosis
NADH	nicotinamida adenina dinucleótido	nicotinamide adenine dinucleotide
NUMTs	secuencias mitocondriales que migraron al núcleo	nuclear mitochondrial DNA segments
TRNA	ARN de transferencia	transfer RNA
VCF	archivo de llamado de variantes	variant call format
WGS	secuenciamiento masivo	whole genome sequencing

INTRODUCCIÓN

Genética en trastornos psiquiátricos

Los trastornos psiquiátricos, en general, son reconocidos como enfermedades de gran incidencia en el mundo y han causado a lo largo de la historia un impacto de gran relevancia en la sociedad (Atladottir *et al.*, 2015). Cabe destacar que desde mucho antes de que surgiera el estudio de la genética, se han reconocido patrones heredables en este tipo de afecciones (McInnis & Potash, 2004). Con el advenimiento de la genética, se ha desarrollado toda una serie de estudios que han intentado dilucidar qué componentes son los que se heredan y cómo se da dicho traspaso de caracteres. Los estudios han demostrado que la mayoría de estos trastornos son poligénicos, en otras palabras, el fenotipo expresado depende de la acción de varios genes (Sullivan & Geschwind, 2019). Existe también un factor muy importante que interactúa con los genes e influencia directamente la expresión de los trastornos psiquiátricos: el ambiente (Burmeister *et al.*, 2008).

Psicosis: ¿síntoma o trastorno?

La psicosis más que un trastorno en sí mismo se ha utilizado como criterio sindrómico del fenotipo (Tamminga *et al.*, 2013), en otras palabras, como un componente en común de varios trastornos psiquiátricos más complejos, tales como la enfermedad de Alzheimer, la depresión, la esquizofrenia y en trastornos neurocognitivos de diversos tipos (Jeste & Finkel, 2000). Sin embargo, su uso diagnóstico conlleva tomar en cuenta la complejidad de su etiología y la variedad de maneras de manifestarse en las personas dependiendo de su sexo, edad, hábitos, ambiente, entre otros muchos factores (Kirkbride *et al.*, 2012). En este estudio se utilizó la presencia de psicosis como criterio sindrómico en el fenotipo de distintas afecciones psiquiátricas.

Procesos neurodegenerativos y el papel de la mitocondria

Al estudiar el origen de los procesos neurodegenerativos se ha notado una correlación significativa entre alteraciones en la mitocondria e incidencia de trastornos a nivel neuronal (Beal, 2005). Sin embargo, ¿existe evidencia suficiente para inferir causalidad en esta correlación? En estudios posteriores se ha encontrado suficiente evidencia para entender el porqué de esta relación. En las mitocondrias ocurren procesos de respiración, que producen una serie de moléculas reactivas, radicales libres, que son causantes de estrés oxidativo (Islam, 2017). Esta sobreproducción de moléculas reactivas genera mutaciones en el ADN mitocondrial y cambios en muchas proteínas (Bozzo *et al.*, 2017). De igual forma, la mitocondria es una organela en la que confluyen y se integran varias vías metabólicas, un ejemplo de ello es la homeostasis del calcio, la cual se ha relacionado, en estudios recientes, con la presencia de trastornos neurodegenerativos (Area-Gomez *et al.* 2019).

ADN mitocondrial

Las mitocondrias son organelas que se encuentran en el citoplasma de la mayoría de las células eucariotas; en ellas se lleva a cabo la respiración oxidativa que permite la fosforilación la cual convierte el adenosín difosfato en adenosín trifosfato (Benard *et al.*, 2006). Este último es el componente químico que brinda la energía que permite la realización de una gran variedad de procesos bioquímicos en los organismos (Drew & Leeuwenburgh, 2003). La mitocondria tiene su propio genoma circular, el cual, según la hipótesis de endosimbiosis, es un vestigio de la información genética que tenía el organismo procariota que fue asimilado por otro organismo unicelular y dio origen a la célula eucariota (Gabaldón & Huynen, 2004). La herencia del ADN mitocondrial en la mayoría de los organismos multicelulares se da por vía materna, esto debido a que cuando el espermatozoide penetra el óvulo, las pocas mitocondrias que posee esta célula en la cola, quedan en el exterior (Jenuth *et al.*, 1996). Por lo tanto, el único ADN de origen mitocondrial que tendrá el cigoto es el que se encuentra en el óvulo que le dio origen. Cabe destacar que en una célula eucariota únicamente se tienen dos copias de ADN genómico, mientras que del ADN mitocondrial se tienen varias copias. Cada mitocondria puede tener hasta 15 copias

de ADN (Sato & Kuroiwa, 1991) y, dependiendo del tipo de célula, se pueden tener desde 100 hasta más de 2000 mitocondrias por célula (Cole, 2016).

La molécula del ADN mitocondrial humano tiene 16569 pares de bases (Habbane *et al.*, 2021) y está conformada por 2 hebras, una pesada y una ligera (Montoya *et al.*, 1982). Se les llama de esta manera, ya que difieren en su contenido en guanina y citosina, de tal manera que la hebra pesada posee mayor proporción (Shadel & Clayton, 1997). Esto se descubrió al desnaturalizar ADN mitocondrial por medio de un gradiente de cesio, la hebra que generaba más de estas bases nitrogenadas, fue denominada hebra pesada (heavy strand) y la otra, hebra ligera (light strand) (Alexeyev, 2020). En la hebra pesada se encuentran las unidades que codifican para todos los complejos respiratorios, excepto el complejo II (Habbane *et al.*, 2021). La hebra ligera posee zonas codificantes para ARN de transferencia, así como una unidad del complejo I de la NADH deshidrogenasa llamada ND6 (Zhao *et al.*, 2019). Es importante destacar que hay más genes codificados en la hebra pesada que en la ligera, tal como se puede observar en la Tabla I. En esta Tabla se muestra que la molécula de ADN mitocondrial se tienen genes que codifican para los complejos respiratorios y para 22 ARN de transferencia, así como 2 ARN ribosomales (Wei & Chinnery, 2020).

Tabla I. Genes presentes y zonas de importancia en el ADN mitocondrial (Lott et al., 2023)

Nombre	Color	Posición en el genoma	Hebra	Notas
Complejo I NADH deshidrogenasa ND1 ND2 ND3 ND4L ND4 ND5 ND6		3307-4262 4470-5511 10059-10404 10470-10766 10760-12137 12337-14148 14149-14673	Pesada Pesada Pesada Pesada Pesada Pesada Ligera	
Complejo III Ubiquinol citocromo C reductasa CYTB		14747-15887	Pesada	
Complejo IV Citocromo				

C oxidasa COX1 COX2 COX3		5904-7445 7586-8269 9207-9990	Pesada Pesada Pesada	
ATP sintasas ATP6 ATP8		8527-9207 8366-8572	Pesada Pesada	
RNAs de transferencia		(Ver Tabla II)		
RNA ribosomales RNR1 RNR2		648-1601 1671-3229	Pesada Pesada	
Origen de replicación (D-loop)		576-16024	Ligera	
Región Hipervariable I (HVI)		16024-16383	Ligera	
Región Hipervariable II (HVII)		57-372	Ligera	
Región Hipervariable III (HVIII)		438-574	Ligera	
Región no codificante (intrón)		5892-5903	Ligera	
Región no codificante (intrón)		8270-8294	Pesada	

Cabe destacar que el código genético mitocondrial difiere del código estándar. Por ejemplo, el codón UGA en el código mitocondrial, codifica para triptófano, en vez de ser codón de terminación, y en el caso del codón AUA, correspondería a metionina, en lugar de isoleucina (Anderson *et al.*, 1981). Por otro lado, AGA y AGG son considerados como codones de terminación (Lott *et al.*, 2023). Debido a estas diferencias con respecto al código genético universal, dentro de dicha molécula se encuentran varios genes codificantes para estos ARN de transferencia, responsables de esa especificidad (Koonin & Novozhilov, 2009). Esto se explica con mayor detalle en la Tabla II.

Tabla II. Genes codificantes para ARN de transferencia en el ADN mitocondrial (Lott et al., 2023)

Nombre	Posición en el genoma	Hebra
TRNA (ARNt alanina)	5587-5655	Ligera
TRNC (ARNt cisteína)	5761-5826	Ligera
TRND (ARNt ácido aspártico)	7518-7585	Pesada
TRNE (ARNt ácido glutámico)	14674-14742	Ligera
TRNF (ARNt fenilalanina)	577-647	Pesada
TRNG (ARNt glicina)	9991-10058	Pesada
TRNH (ARNt histidina)	12138-12206	Pesada
TRNI (ARNt isoleucina)	4263-4331	Pesada
TRNK (ARNt lisina)	8295-8364	Pesada
TRNL1 (ARNt leucina1)	3230-3304	Pesada
TRNL2 (ARNt leucina2)	12266-12336	Pesada
TRNM (ARNt metionina)	4402-4469	Pesada

TRNN (ARNt asparagina)	5657-5729	Ligera
TRNP (ARNt prolina)	15956-16023	Ligera
TRNQ (ARNt glutamina)	4329-4400	Ligera
TRNR (ARNt arginina)	10405-10469	Pesada
TRNS1 (ARNt serina1)	7446-7514	Ligera
TRNS2 (ARNt serina2)	12207-12265	Pesada
TRNT (ARNt treonina)	15888-15953	Pesada
TRNV (ARNt valina)	1602-1670	Pesada
TRNW (ARNt triptofano)	5512-5579	Pesada
TRNY (ARNt tirosina)	5826-5891	Ligera

Los NUMTs (del inglés, Nuclear Mitochondrial DNA Segments) son secuencias genéticas que originalmente pertenecían al ADN mitocondrial y que, con el pasar del tiempo, migraron y se fueron integrando al genoma nuclear (Ricchetti et al., 2004). Al analizar el genoma mitocondrial, a partir de estudios de secuenciamiento genómico total (WGS) es muy importante remover estas secuencias del conjunto de fragmentos de ADN total celular secuenciado para minimizar la cantidad de errores, y de esta

forma, reconstruir las secuencias mitocondriales de la manera más fiel posible (Ring *et al.*, 2018).

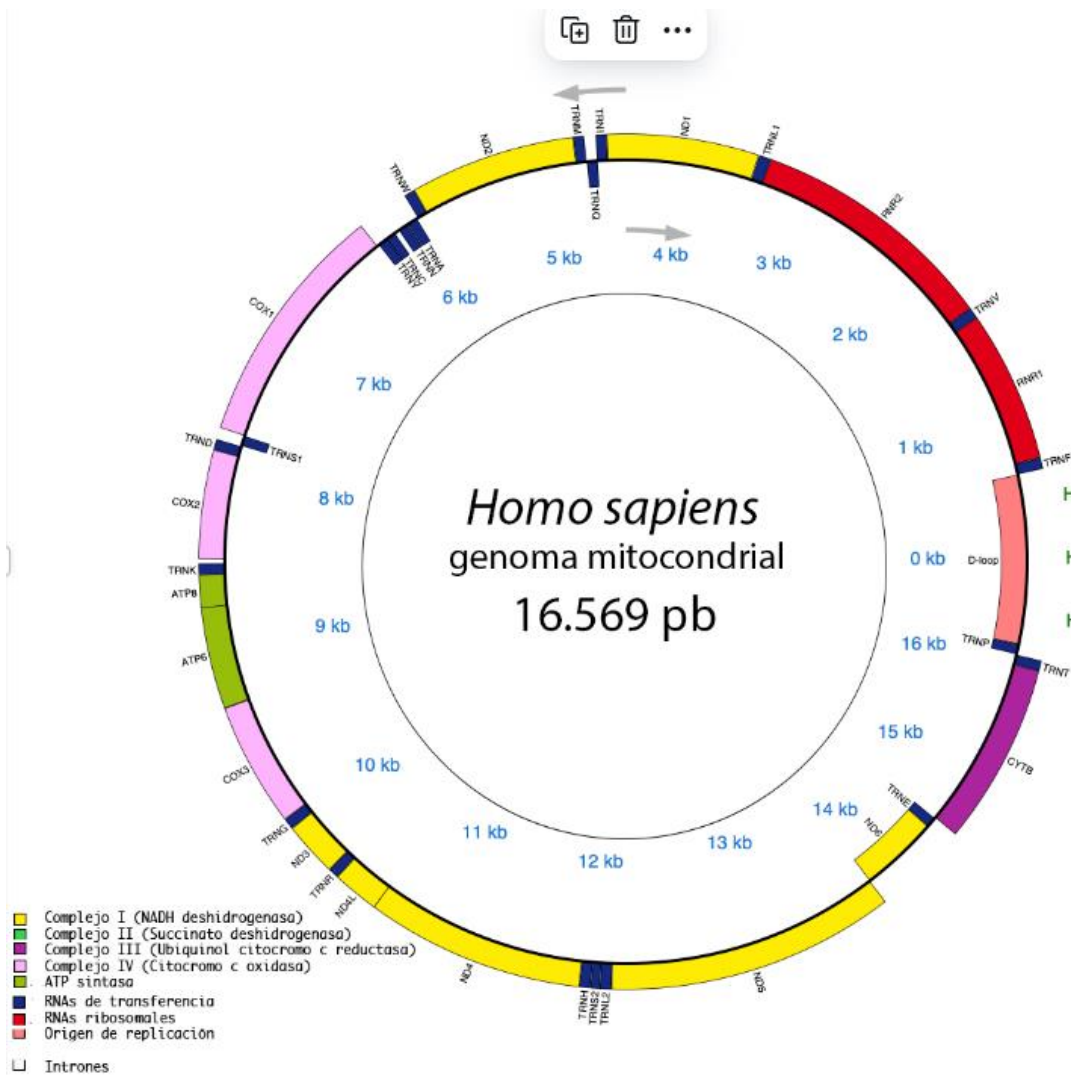


Figura 1. Molécula del ADN mitocondrial humano. (Modificado de Greiner *et al.*, 2019)

Haplogrupos mitocondriales

Debido a que, en la fecundación en seres humanos, y en la gran mayoría de organismos superiores en general, las mitocondrias que forman el cigoto son las que provienen de la madre (Sato & Sato, 2012), toda la información genética mitocondrial es heredada de manera matrilineal. Ese material genético, pasado de la madre a su progenie, contiene una serie de alelos específicos de acuerdo a la historia genética de su grupo poblacional (Veeramah & Hammer, 2014). Los conjuntos de alelos heredados de un solo progenitor son llamados haplotipos, y en el caso específico de

los humanos, los haplotipos mitocondriales son marcadores genéticos de gran utilidad para estudiar el origen de las poblaciones, las migraciones y demás dinámicas poblacionales (Der Sarkissian *et al.*, 2013). Los distintos haplotipos mitocondriales se agrupan según sus relaciones filogenéticas, en conjuntos más grandes llamados haplogrupos (Weissensteiner *et al.*, 2016).

La prevalencia de patologías de acuerdo a los haplogrupos también es un tema que puede ser estudiado con mucho detalle. Esto debido a que se han notado diferencias significativas en el funcionamiento de la mitocondria y la actividad replicativa del material genético, entre haplogrupos (De Paepe, 2019). De igual forma, se ha observado que existen distintos patrones de metilación que se dan específicamente en ciertos haplogrupos, lo cual genera una expresión génica diferencial (Lee *et al.*, 2017).

Estudiar los haplogrupos mitocondriales permite entender en gran parte su historia genética y la presencia de ciertas variantes de importancia. La historia genética de la población costarricense ha sido analizada previamente con marcadores de ancestría y se ha visto que, en general, predomina la ancestría europea (específicamente, origen ibérico), nativa americana y africana (Campos-Sanchez *et al.*, 2014). De igual forma, se han realizado análisis de ciertos haplotipos presentes en la población costarricense y su asociación con ciertas características, tales como longevidad y éxito reproductivo (Cagri *et al.*, 2011).

Heteroplasmias

El ADN mitocondrial no es siempre uniforme u homoplásmico (todas las copias del ADN son idénticas) en los individuos. Tanto las especies reactivas del oxígeno generadas por estrés oxidativo, como los errores al azar durante la replicación, pueden provocar cambios en los genomas mitocondriales (Keogh & Chinnery, 2013). Como se ha mencionado anteriormente, cada célula puede poseer varias mitocondrias, y a su vez, cada mitocondria puede albergar varias copias de su genoma; estos hechos contribuyen a que haya heteroplasmia, en otras palabras, que coexistan variantes del genoma mitocondrial en una misma célula de un individuo (Stewart & Chinnery, 2015). Por lo tanto, es esperable que en todos los individuos haya algún nivel de heteroplasmia, sin embargo, cuando este llega a un valor umbral,

la pérdida de funcionalidad puede ocurrir y con ella, la presencia de trastornos (Li *et al.*, 2010).

Análisis de Heteroplasmia

El análisis del nivel de heteroplasmia y su relación con trastornos psiquiátricos y enfermedades neurodegenerativas ha sido evidenciada en estudios de varios equipos de trabajo (Stewart & Chinnery, 2015; Sequeira *et al.* 2015). A pesar de que en Costa Rica se han realizado estudios que sugieren asociaciones de ciertos haplotipos con mayor incidencia de trastornos psiquiátricos, tales como la esquizofrenia, aún no se ha realizado un estudio enfocado directamente a estudiar la relación del nivel de heteroplasmia con la presencia de trastorno neurocognitivo y psicosis (Hare *et al.*, 2010). El hecho de estudiar heteroplasmas en familias previamente diagnosticadas y pertenecientes a una región específica del país permite entender el carácter hereditario de las variantes del ADN mitocondrial, así como la prevalencia de ciertas variantes asociadas a haplotipos específicos (Smeitink, 2004).

Es importante destacar que la tasa de replicación celular difiere entre tejidos, y con ello, la tasa de mutación que eventualmente genera heteroplasmia (Frederiksen *et al.* 2006). Este hecho refuerza que lo ideal es estudiar el nivel de heteroplasmia en células pertenecientes al tejido afectado. Sin embargo, por temas bioéticos, económicos y de accesibilidad es complicado o virtualmente imposible tomar muestras de ciertas células, como en este caso: las neuronas. Es por ello por lo que, al inicio de este estudio se investigó si era viable la posibilidad de utilizar los datos de heteroplasmia de las células sanguíneas como aproximados (proxis) a lo que ocurre en el tejido nervioso. Distintos estudios en los que se comparaba la heteroplasmia concluyen que el estudio en glóbulos blancos da una aproximación significativa con respecto al nivel de heteroplasmia en diversos tejidos, en especial, en los que no tienen una replicación tan activa como, por ejemplo, el tejido hepático (Sinyov *et al.*, 2017, Sinyov *et al.*, 2019) o el muscular (De Laat *et al.*, 2012). Por otro lado, un estudio de Sequeira de 2015, encontró perfecta correspondencia en las variantes mitocondriales encontradas al comparar el tejido cerebral y células sanguíneas.

- Objetivo general

Estudiar la posible relación entre niveles altos de heteroplasmia y presencia de psicosis en individuos costarricenses del Valle Central (incluyendo una familia multigeneracional) por medio del análisis de las secuencias mitocondriales.

- Objetivo específico 1

Desarrollar un método para extraer secuencias mitocondriales completas de poblaciones bien definidas.

- Objetivo específico 2

Detectar el nivel de heteroplasmia con un método de secuenciación de alta cobertura.

- Objetivo específico 3

Determinar si hay una relación existente entre el nivel de heteroplasmia y la presencia de psicosis.

- Objetivo específico 4

Examinar la composición de haplogrupos mitocondriales en los individuos muestreados.

METODOLOGÍA

Sujetos de estudio

En este estudio se utilizaron 2 cohortes de individuos residentes con, al menos, dos generaciones pasadas originarias del Valle Central de Costa Rica. Un grupo corresponde a una familia multigeneracional del cantón de Acosta y el otro grupo comprende individuos de distintas zonas del Valle Central.

La primera cohorte consta de un grupo familiar seleccionado para estudio en investigaciones previas a esta, debido a la alta incidencia de trastornos psicóticos en sus miembros. Cabe destacar que la extensión fue una característica clave al seleccionar esta familia, ya que se contaba con 214 individuos. Adicionalmente, se contó con una segunda cohorte. La cual consta de un grupo de 101 probandos del mismo proyecto antes mencionado, los cuales son grupos familiares en los que al menos uno de ellos fue diagnosticado con algún trastorno psicótico según el Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales (DSM-IV, por sus siglas en inglés). Mediante entrevista personal y el proceso del mejor estimado diagnóstico se verificaron los diagnósticos. Los individuos firmaron el consentimiento informado aprobado por el Consejo Ético Científico (CEC) antes de su participación, de igual forma, contaron con evaluaciones clínicas tales como la Entrevista Diagnóstica para Estudios Genéticos (DIGS, por sus siglas en inglés), la Entrevista Familiar para Estudios Genéticos (FIGS, por sus siglas en inglés) y el Mejor Estimado Diagnóstico (MED).

Cabe destacar que el criterio de individuo afectado se define en este proyecto como un sujeto diagnosticado con uno o varios trastornos psicóticos tales como: esquizofrenia, psicosis no especificada, trastorno bipolar tipo I y II, trastorno bipolar no especificado, trastorno esquizoafectivo tipo bipolar, trastorno esquizoafectivo tipo depresivo, episodio de depresión mayor, trastorno de depresión mayor recurrente y trastorno depresivo no especificado.

Muestreo y secuenciación

De la primera cohorte se seleccionaron únicamente 113 individuos para ser secuenciados por razones de presupuesto, y de la segunda cohorte se secuenciaron los 101. Dichos individuos muestreados formaron parte del proyecto 801-A1-751: *Secuenciación del genoma completo en familias con trastornos psicóticos y afectivos*. Las secuencias genómicas completas fueron extraídas por medio del proceso de Secuenciación de Genoma Completo (WGS, por sus siglas en inglés) de Illumina (Illumina HiSeq 2000) y mediante un alineamiento genómico Isaac. La secuenciación realizada fue de extremos pareados (paired end) con una cobertura mínima de 30X y una longitud mínima de lectura de 2x100pb. Los procesos antes descritos se llevaron a cabo en los 214 genomas secuenciados.

Extracción y análisis de secuencia mitocondrial

Las secuencias genómicas completas fueron procesadas por medio de SamTools (1.10.tar.bz2). Las secuencias mitocondriales se extrajeron de las genómicas completas, por medio de un criterio empleado por SamTools, el cual escoge de entre los segmentos extraídos, los de mejor calidad y esos son los que formarán la secuencia de cada individuo. Cada secuencia fue cotejada con la de referencia (GenBank #NC_012920). Es importante destacar que la escogencia de SamTools se basó en la calidad de las secuencias mitocondriales que genera y esto permitió disminuir al máximo posible la cantidad de fragmentos de ADN mitocondrial que se han transferido al genoma nuclear (NUMTs, por sus siglas en inglés) que se pudieron haber incluido. Esta herramienta es capaz de reconocer las secuencias en cuestión y eliminarlas de las lecturas mitocondriales.

Es importante aclarar que, a pesar de que se inició el estudio con una totalidad de 214 individuos, se tuvieron que excluir 32 sujetos debido a que no se tenía información del diagnóstico. Por lo tanto, el nuevo total del grupo familiar fue de 108 individuos, mientras que en la cohorte de grupos familiares fue de 74. Dentro del grupo familiar se contó con la presencia de 20 madres con al menos un hijo y en la otra cohorte utilizada los individuos se repartieron en 27 grupos de parentesco materno. El nuevo total general de 182 sujetos se organizó de la siguiente forma de acuerdo con sexo y diagnóstico:

Tabla III. Distribución de los individuos por sexo y diagnóstico.

Sexo	Diagnosticados	Sanos	Total
Femenino	45	62	107
Masculino	33	42	75
Total	78	104	182

Cabe destacar que no se encontró una diferencia significativa en la presencia de psicosis entre hombres y mujeres ($\chi^2(1, N = 182) = 0.068, p < 0.05$.)

Haplogrupos

Para averiguar los haplogrupos de los individuos, las secuencias mitocondriales fueron procesadas con el programa Haplogrep 2 (versión 2.4.0). Adicionalmente, se corroboró el resultado con la versión más actualizada del mismo programa (versión 3.2.1).

Como comprobación final se analizaron dichas secuencias con otro programa llamado mthap de Phylotree (versión 17.0). Cabe destacar que en ambos programas el formato utilizado para analizar las secuencias fue fasta.

Heteroplasmia

A las secuencias mitocondriales en archivo bam se les realizó un llamado de variantes por medio del programa de Herramientas de Análisis Genómico (GATK, por sus siglas en inglés) (versión 4.3.0.0). Se generó un archivo de llamado de variantes (VCF, por sus siglas en inglés) por cada sujeto que indicaba las variantes encontradas en cada posición, así como las posiciones en las que se detectaba heteroplasmia.

A cada archivo se le realizó un filtrado en las posiciones en las que el programa GATK detectó heteroplasmia. Este tamiz permitió reducir la presencia de errores durante la secuenciación y el llamado de variantes. La profundidad de lectura fue utilizada para dicho propósito. La profundidad es una medida de cobertura que, específicamente, cuantifica el número de veces que un nucleótido está presente en un conjunto determinado de secuencias crudas (Sims et al., 2014). En las secuencias mitocondriales, las profundidades encontradas fueron superiores a 900. Estos valores son considerados como extremadamente altos, ya que son mucho mayores a 30, el cual es un valor considerado como valor confiable (Telenti et al., 2016). Por otro lado, se escogió el MAF (Frecuencia del alelo menos común, por sus siglas en inglés) como segundo filtro. Para valores de heteroplasmas, el MAF umbral se determina de acuerdo con la cantidad de individuos muestreados y el método, y se ha llegado a utilizar valores de hasta 0.1%. Sin embargo, después de analizar el número de

muestra y las profundidades obtenidas, el filtro escogido consistió en seleccionar las variantes con profundidades mayores a 900 y con MAF superior a 0.5%.

Es importante aclarar que el estudio heteroplasmas de Rebolledo et al. 2014, seleccionó las variantes del archivo VCF con profundidades mayores a 1000X y un MAF mayor a 1%. No obstante, el estudio de Rebolledo se realizó utilizando secuencias enriquecidas y este estudio se basaba en secuencias mitocondriales extraídas mediante secuenciación masiva. Es por ello, que el filtro empleado en este estudio difiere del de Rebolledo.

El porcentaje de heteroplasma por posición se expresó como la frecuencia de la variante heteroplásmica ya filtrada. Esos mismos valores se sumaron y se expresaron como la heteroplasma total tal como lo hicieron Giuliani et al. 2014. Los valores totales de heteroplasmas de individuos sanos y afectados fueron tabulados con su media y desviación estándar. La prueba T de Student fue aplicada para comparar ambos promedios. Se generaron histogramas con los valores de heteroplasma normalizados. Todos los estadísticos, la prueba de T de Student y los gráficos fueron generados con Microsoft Excel 16.0.

Edad

Al analizar las edades en ambos grupos se tienen valores muy dispersos, con valores que van desde los 20 hasta los 79 años, y en promedio 47.5. Debido a esta característica de la muestra, se realizó un agrupamiento de individuos por década, tal como lo hicieron Ziada y colaboradores en 2019, y de esta forma se analizó el comportamiento de la heteroplasma en los grupos de edad.

Variantes detectadas

Las secuencias mitocondriales en formato Fasta fueron analizadas por medio del programa MITOMASTER, el cual forma parte de MITOMAP v.2024. Al procesar cada secuencia fasta, el programa genera un archivo xlsx o csv con las variantes encontradas en la totalidad de la secuencia mitocondrial. Inicialmente se realizó un conteo de número de variantes en la zona de los genes ND que codifican para distintas NADH deshidrogenasas para individuos sanos y afectados. Luego se analizó la presencia de una serie de variantes que han sido reportadas por tener asociación

con presencia de psicosis o protección ante los fenotipos que presentan este síntoma. De igual forma se estudió la presencia de otras variantes no reportadas en literatura que únicamente estuvieran presentes en los individuos afectados o en los sanos.

Herencia de Variantes

De las cohortes estudiadas, se escogieron los 6 núcleos familiares más extensos (madre con sus hijos y grupos de hermanos). Se compararon las variantes presentes entre ellos, para determinar cuáles eran heredadas y cuales eran *de novo*.

RESULTADOS

Extracción de secuencias mitocondriales y detección de heteroplasmia.

De la secuencia genómica completa de cada individuo, se logró extraer la secuencia mitocondrial. Cabe destacar que la profundidad de lectura de cada variante detectada fue superior a 900, tal como se puede observar en la Tabla I de Anexos. Asimismo, la profundidad no estuvo correlacionada a la presencia de heteroplasmia, en otras palabras, fue igual de alta en regiones hipervariables y no hipervariables. La presencia de heteroplasmia se detectó en todos los individuos, en distintas posiciones, y, muy en especial en las regiones hipervariables. Los valores más altos fueron encontrados en las posiciones: 302, 310 (HVR-III), 513 (HVR-II), 16182 y 16183 (HVR-I). De igual forma, es muy notoria la concentración de heteroplasmia en la posición 16179 (HVR-I), tal como puede apreciarse en la Figura 2

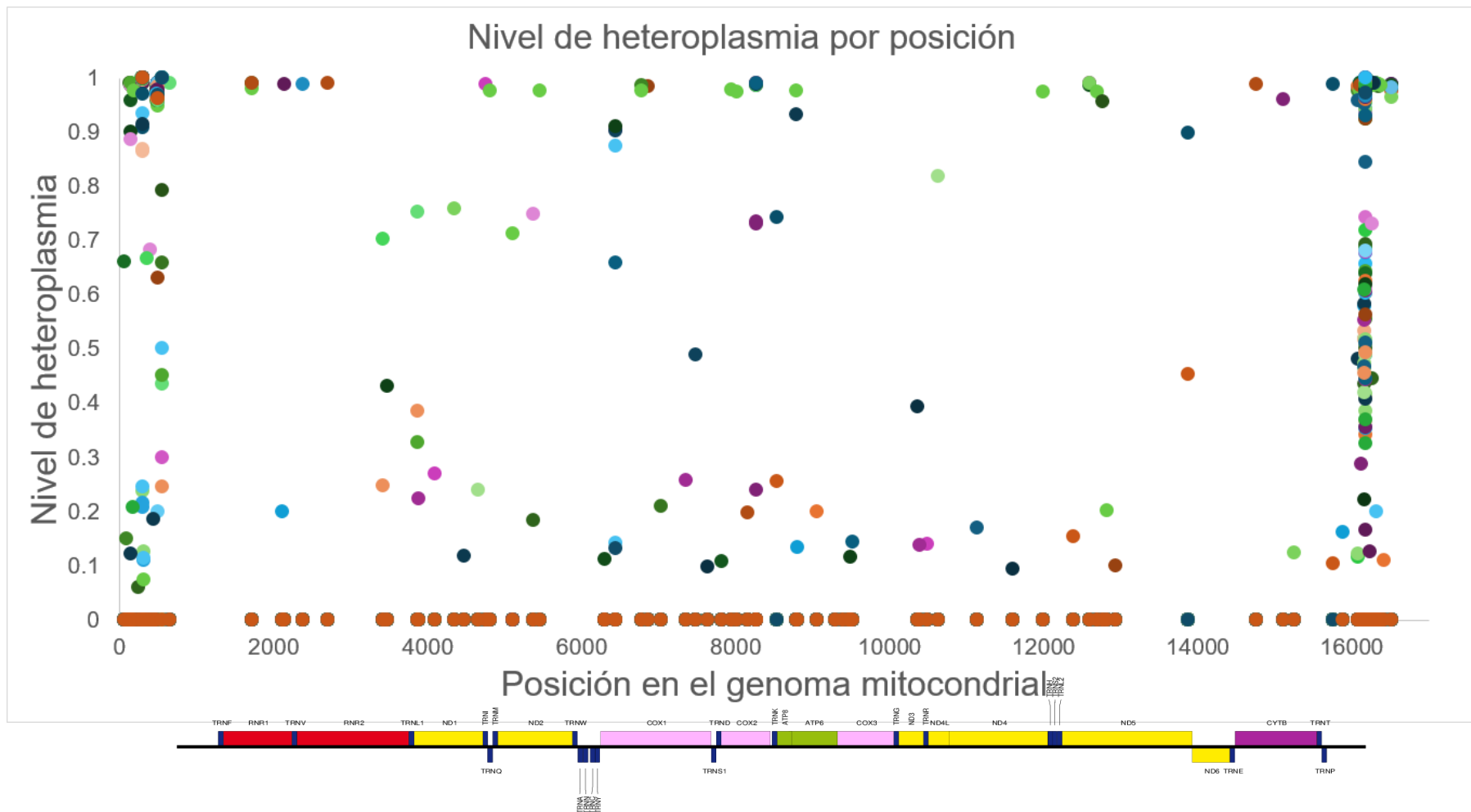


Figura 2. Nivel de heteroplasma por posición en el genoma mitocondrial.

Relación entre heteroplasmia y presencia de psicosis

Al analizar la heteroplasmia total de los individuos sanos y afectados se notan diferencias evidentes entre ambos grupos. Se obtuvo un total de 63 posiciones con heteroplasmia en sanos y 90 en afectados. En el grupo de afectados hay 6 posiciones heteroplásmicas en la zona no hipervariable, en comparación con los sanos.

Por otro lado, la sumatoria total de heteroplasmas en sanos es de 170,205 y en afectados es de 297,936. Sin embargo, al aplicar la prueba de T de Student a los promedios, no se encontró diferencia significativa $t(180) = 1.71$, $p > 0.05$, siendo la heteroplasmia promedio en afectados 3.82 (stdev= 2.44) y en sanos 3.34 (stdev= 1.27). Esto puede deberse a que en el grupo de afectados se cuenta con una desviación estándar mayor y una asimetría hacia la derecha mayor, que en el de sanos. Dicha asimetría en los datos es evidenciada al calcular el coeficiente de curtosis, ya que en afectados se tiene un valor de 23.46 y en sanos de 0.26, tomando en cuenta que conforme el valor se aumenta a partir de cero, la distribución se desvía de la normal (Chissom, 1970). Los valores de heteroplasmia total en afectados se encuentran más dispersos y eso se puede evidenciar en los histogramas de las figuras 3 y 4. De igual forma en estos gráficos se evidencia que en los afectados, se encuentran valores mayores de heteroplasmia en comparación con los individuos sanos.

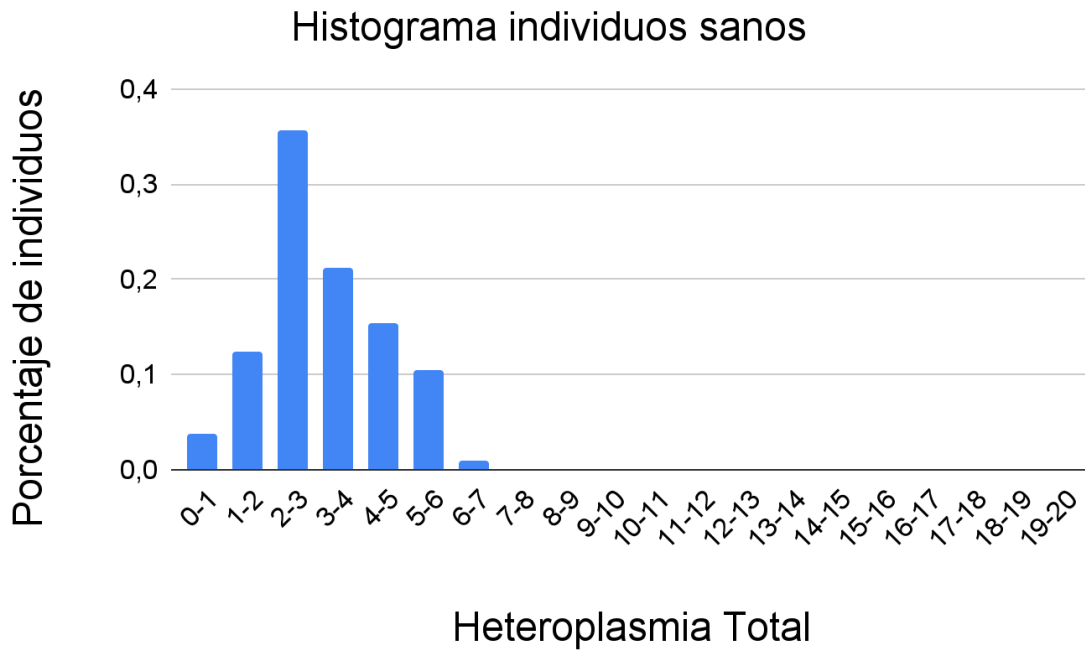


Figura 3. Histograma de individuos sanos y su heteroplasma total

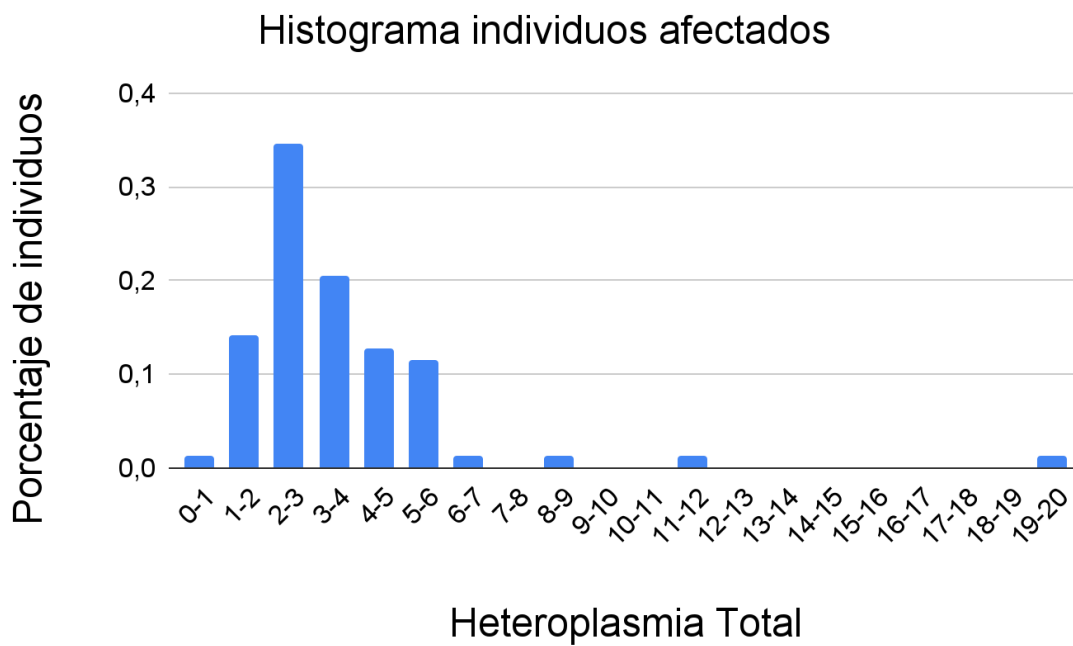


Figura 4. Histograma de individuos afectados y su heteroplasma total

Heteroplasmia según edad

Al analizar los grupos de edad, en total no se obtiene una tendencia clara de aumento de heteroplasmia. Sin embargo, al analizar sanos y afectados por separado, si se observan diferencias. En el grupo de sanos se observa un aumento de heteroplasmia conforme aumenta la edad ($R^2= 0.603, 9,63E-03*x+2,97$), mientras que en afectados dicha tendencia no es tan definida ($R^2=0.203, 2,31E-03*x+3,68$) En la mayoría de los grupos, los valores en afectados son mayores que en sanos. Este hallazgo es muy notorio en especial, en los grupos etarios de 20 a 29 años y de 30 a 39 años. De igual manera, el gráfico nos permite visualizar una uniformidad en valores altos ligeramente más presente en los promedios de afectados que en sanos.

Tabla IV. Número de individuos sanos y afectados por grupo etario

Grupo etario	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79
Sanos	11	22	23	27	12	9
Afectados	10	16	18	16	11	7

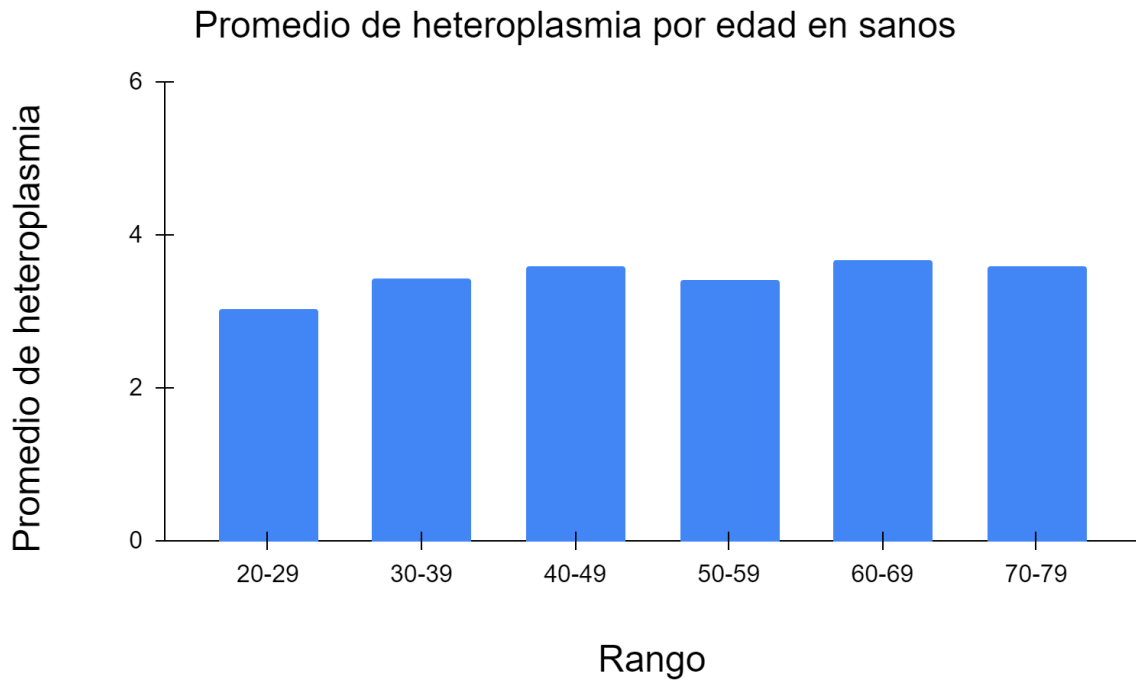


Figura 5. Promedio de heteroplasmia por grupo etario en individuos sanos

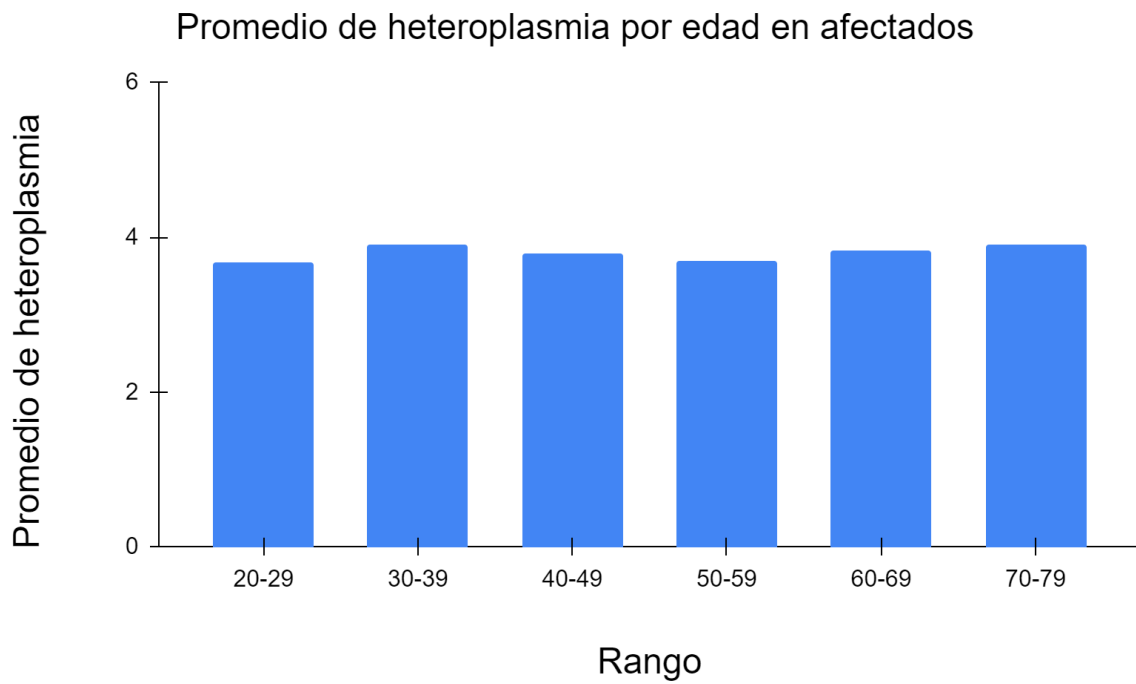


Figura 6. Promedio de heteroplasmia por grupo etario en individuos afectados

Haplogrupos presentes

Para averiguar la frecuencia de los haplogrupos encontrados, se agruparon los individuos en un total de 71 núcleos familiares de herencia materna. Los haplogrupos hallados en la muestra fueron: A2, B2, C1, H1, J1, L1 y L2, en las siguientes proporciones:

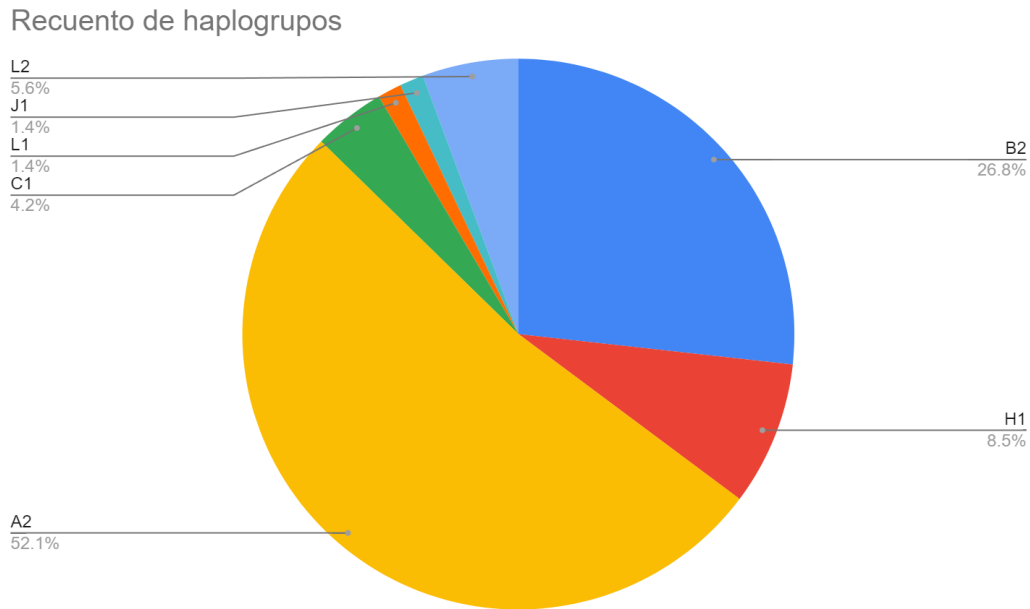


Figura 7. Recuento de haplogrupos mitocondriales encontrados en la muestra.

Tabla V. Número de individuos según haplogrupo mitocondrial

Haplogrupo	Total
A2	37
B2	19
C1	3
H1	6
J1	1
L1	1
L2	4
Total	71

Debido a que no se cuenta con individuos independientes, sino con núcleos de herencia materna que incluyen individuos sanos y afectados, no es posible determinar de manera estadística la asociación entre la presencia de psicosis con los haplogrupos.

Variantes detectadas

Se analizaron las variantes encontradas, sin embargo, es importante notar que se enfatizó el análisis en las variantes encontradas en literatura. La totalidad de variantes halladas en individuos sanos y afectados se encuentra en la Tabla IX de anexos.

Tabla VI. Variantes seleccionadas con su asociación reportada y el número de individuos sanos y afectados de la muestra que la poseen.

Asociación reportada	Variante	Afectados	Sanos
Asociación con Esquizofrenia (Ueno <i>et al.</i> , 2009)	1227G>A	-	-
Protección ante Parkinson (Kim <i>et al.</i> , 2024)	2158T> C	-	-
No reportados	3320A>G	3	1
No reportados	3552T>A	3	1
Asociación con Esquizofrenia (Ivanova <i>et al.</i> , 2021)	4115 T>C	-	-
Asociación con Esquizofrenia (Ivanova <i>et al.</i> , 2021)	4216G>C	1	2
Asociación con Alzheimer (Edland <i>et al.</i> , 2002)	4336 T>C	-	-
Asociación con Esquizofrenia (Ueno <i>et al.</i> , 2009)	5578T > C	-	-
Asociación con Neurodegeneración (Kozin <i>et al.</i> , 2020)	7028C > T	74	92
Protectora ante Parkinson (Liou <i>et al.</i> , 2016)	8584G>A	2	1
Protectora ante Parkinson (Liou <i>et al.</i> 2016) Asociación con Cáncer de Seno (Jahani <i>et al.</i> , 2020)	10398A>G	3	9
Protectora ante Parkinson (Keogh	11251A>G	1	2

& Chinnery, 2015)			
Asociación con Neuropatía óptica de Leber (Pasqualotto, 2023)	11778G>A	-	-
Asociación con Esquizofrenia (Marchbanks <i>et al.</i> , 2003)	12027T>C	-	-
Asociación con Esquizofrenia (Ueno <i>et al.</i> , 2009)	13418G > A	-	-
Asociación con Lipidemia y enfermedades Coronarias (Wang <i>et al.</i> , 2021)	14178T>C	-	2
Asociación con enfermedades Coronarias (Onieva <i>et al.</i> , 2023)	14766C>T	67	93
Asociación con Esquizofrenia (Sequeira <i>et al.</i> , 2015)	16086T>C	1	-
No reportada	16158T>C	8	-

El conteo de variantes en los sitios codificantes para la NAD deshidrogenasa dio un promedio de 8.84 en afectados y 7.86 en sanos, siendo la diferencia entre dichos promedios significativa $t(182) = 2.2624, p > 0.05$.

- a) Variantes reportadas con asociación a enfermedades coronarias, neurodegenerativas o con trastornos psiquiátricos con psicosis como parte del fenotipo diagnóstico
- Variantes no encontradas en la muestra: 1227G>A, 4115T>C, 4336T>C, 5578T>C, 11778G>A, 12027T>C y 13418G >A.
 - Variantes encontradas: 4336 T>C, 7028C > T ($\chi^2 (2.2841, N = 166) = 0.131, p > 0.05$) y 14766C>T tanto en sanos como en afectados, sin embargo, con una proporción levemente mayor en afectados ($\chi^2 (0.5214, N = 160) = 0.470, p > 0.05$). Por otro lado, 14178T>C solo se encontró en individuos sanos.

Cabe destacar que Sequeira en 2015 destacó la asociación de las variantes 16086T>C y 16159T>C con esquizofrenia. En la muestra analizada en este estudio, se encontró un individuo afectado con la primera variante y ocho con la variante 16158T>C, la cual, a pesar de no ser la misma que la reportada por Sequeira en 2015, está justamente a la par en el genoma mitocondrial. Sí se encontró diferencia significativa entre el número de afectados con la variante 16158T>C en comparación con los sanos. ($\chi^2 (11.156, N = 160) = 0.0008, p < 0.05$).

- b) Variantes reportadas con protección a enfermedades neurodegenerativas

Estas variantes se encontraron tanto en individuos sanos como en afectados. 8584G>A se detectó más en afectados que en sanos. Sin embargo, 10398A>G y 11251A>G tuvieron mayor presencia en sanos que en afectados.

- c) Variantes no reportadas en literatura encontradas en la muestra.

3320A>G y 3552T>A se encontraron mayormente en afectados que en sanos y no han sido reportadas previamente.

Herencia de Variantes

Al analizar las variantes entre madres e hijos, todas las variantes de las madres estaban presentes en los hijos, excepto en un caso. Al observar la tabla IV se aprecia que la madre posee la variante 16381C>T y el hijo no la tiene. Por otro lado, la variante 7124A>G está en el hijo pero no en la madre. En los grupos familiares, todas las variantes se compartían entre ellos, por lo tanto, no se encontraron variantes *de novo*.

Tabla VII. Caso de variante presente en la madre y no heredada a hijo y de variante presente solamente en el hijo. (Los cuadros rellenos indican la presencia del alelo mutado).

Posición	Alelo ref.	Alelo mut.	Ind2981 Madre	Ind0181 Hijo
64	C	T		
73	A	G		
89	T	C		
97	G	A		
111	A	C		
198	C	T		
5460	G	A		
6794	A	G		
7124	A	G		
7960	A	G		
8474	C	T		

11016	G	A		
12865	A	G		
16360	C	T		
16381	T	C		

DISCUSIÓN

Extracción de secuencias mitocondriales

Es muy importante recordar que uno de los objetivos de este estudio es potenciar la utilidad de los estudios de secuenciación masiva, y de esta manera, aprovechar no solo la información genética nuclear, sino también la mitocondrial. Cuando se realiza la secuenciación masiva de nueva generación, usualmente, el enfoque se dirige hacia las lecturas nucleares (Muzzey *et al.*, 2015). Por otro lado, los estudios de ADN mitocondrial son mayoritariamente llevados a cabo por enriquecimiento para mejorar la calidad de las secuencias (Gould *et al.*, 2015). En este estudio se logró el cometido de extraer las secuencias mitocondriales de la secuenciación masiva con profundidades de lectura superiores a 900. Por lo tanto, se concluye que la secuenciación masiva es una herramienta que permite tener acceso a las secuencias mitocondriales con profundidades de lectura muy altas.

La gran calidad de las lecturas mitocondriales obtenidas refuerza la utilidad que tiene la secuenciación masiva para aprovechar las secuencias mitocondriales resultantes del proceso. Una razón de peso por la que se presentan estas calidades óptimas se debe a la presencia de varias mitocondrias por célula, las cuales a su vez tienen varias moléculas de ADN mitocondrial presentes (Andréasson *et al.*, 2006). Este hecho se contrapone a las secuencias nucleares, de las cuales solamente se obtiene una copia diploide por célula somática (Mikhalchenko *et al.*, 2024). Asimismo, la estructura molecular del ADN mitocondrial es más estable que la nuclear debido a

que es circular y muy pequeña, en comparación con el ADN nuclear; esta estructura y dimensión le permite ser menos susceptible a la acción digestora de las exonucleasas (Foran *et al.*, 2006).

Detección de heteroplasmia

Es importante mencionar que el origen de las zonas hipervariables no está del todo claro. La mayoría de los estudios de las zonas con tasas altas de mutación se han llevado a cabo con el genoma nuclear, sin embargo, hay ciertos hallazgos que pueden extrapolarse a estas regiones del ADN mitocondrial como, por ejemplo, la propensión alta de las secuencias ricas en guanina y citosina de desaminarse y causar transversiones o deleciones (Nesta *et al.*, 2021). La sustitución de guanina por timina es una característica frecuentemente encontrada en mutaciones del ADN mitocondrial y ha sido relacionada con el daño oxidativo (Chiaratti & Chinnery, 2022). Este hecho concuerda con un estudio del 2003 de Samuels y colaboradores, el cual menciona que es notoria la presencia de guaninas y citosinas mutadas en las zonas hipervariables del ADN mitocondrial. A pesar de que se encontró heteroplasmia en distintas zonas del ADN mitocondrial, es notorio que los niveles mayores de heteroplasmia fueron hallados en la zona hipervariable (HVR). Los valores más altos fueron encontrados en las posiciones: 302, 310 (HVR-III), 513 (HVR-II), 16182 y 16183 (HVR-I), y muy en especial en 16179 (HVR-I).

La gran concentración de heteroplasmia encontrada en estas posiciones concuerda con la alta tasa de sustitución nucleotídica que se da en esas regiones específicas de dicha molécula (Morovvati *et al.*, 2007). Es importante destacar que, a pesar de que estas regiones se caracterizan por una alta tasa de mutación, no se puede establecer un rango específico, ya que se ha encontrado variación entre poblaciones (Irwin *et al.*, 2009). Este estudio aporta un pequeño acercamiento a la comprensión del comportamiento de este fenómeno en poblaciones latinoamericanas.

Relación entre heteroplasmia y presencia de psicosis

La alta heredabilidad del fenotipo de psicosis ha sido un tema ampliamente discutido. Es por ello por lo que el componente genético de estas afecciones ha sido de gran interés para la comunidad científica. Numerosos estudios han demostrado la

asociación de la presencia de variantes específicas en todo el genoma nuclear, con el fenotipo de psicosis (O'Donovan *et al.*, 2009; Owen *et al.*, 2007; Ismail *et al.*, 2022). El genoma nuclear no tiene una tasa de mutación tan alta ni tampoco tiene coexistencia de distintas variantes, como el mitocondrial (Parakatselaki & Ladoukakis, 2021); es precisamente, este hecho, lo que despierta la curiosidad del efecto que puede tener la heteroplasmia mitocondrial en los individuos estudiados.

El hecho de encontrar más sitios heteroplásmicos y más heteroplasmia total en afectados que en sanos concuerda con una probabilidad mayor de encontrar mutaciones deletéreas que, al pasar un umbral determinado, pueden causar afectaciones orgánicas (Nissanka & Moraes, 2020).

Otro hallazgo muy importante es la presencia de heteroplasmia en más sitios codificantes en afectados que en sanos. Esto tiene mucho sentido ya que, al haber más heteroplasmia en posiciones codificantes, existen más alelos mutados de genes que codifican para proteínas claves de los procesos bioenergéticos de la mitocondria (Wallace, 2017; Morovvati *et al.*, 2007).

Heteroplasmia según edad

Debido a la susceptibilidad que tiene el ADN mitocondrial ante el constante impacto de las moléculas oxidantes generadas secundariamente en la respiración celular, así como a las variantes producidas azarosamente en cada división (Keogh & Chinnery, 2013), se esperaba que la heteroplasmia se fuera acumulando conforme los individuos envejecieran. Esta tendencia fue encontrada, siendo más notoria en el grupo de individuos sanos.

Este patrón de aumento en general, no fue tan claro como se esperaba, lo cual puede ser causado por un fenómeno de estabilización cíclica de la cantidad de heteroplasmia (Wei *et al.* 2019). Un hallazgo que puede relacionarse con lo encontrado en este estudio fue una disminución de transversiones encontrada en individuos mayores a 80 años en un estudio del año 2023 de Gupta y colaboradores. Este fenómeno puede estar relacionado con la selección negativa de variantes deletéreas, en otras palabras, se da una selección en contra de las variantes potencialmente peligrosas surgidas a partir de las replicaciones (Chinnery *et al.*, 2002; Wei *et al.* 2019). Incluso hay estudios que afirman que esta selección sucede a ritmos distintos en diferentes zonas del ADN mitocondrial (Wei *et al.*, 2019). Esta selección

en contra de variantes específicas puede provocar los ciclos de estabilización de la heteroplasmia a través de la vida de los individuos. Cabe destacar que se recomienda repetir este análisis en estudios futuros con grupos etarios que posean más cantidad de sujetos y que el número de individuos por grupo etario sea el mismo.

Haplogrupos presentes

El haplogrupo más frecuente en la muestra fue el A. Este haplogrupo se asocia a las poblaciones amerindias y se presume que su surgimiento se dio previo a la migración de *Homo sapiens* a América por Beringia, ya que este haplogrupo también está presente en grupos humanos actuales del noreste de Asia (Fagundes *et al.*, 2008). Cabe destacar que diversos estudios filogenéticos ubican a este haplogrupo como uno de los más antiguos en el continente americano, por lo tanto, se infiere que los primeros grupos humanos que emigraron de Asia fueron los fundadores de este clado en América (Starikovskaya *et al.*, 2005, Fagundes *et al.*, 2008).

El segundo haplogrupo más frecuente fue el B. Este haplogrupo también es característico de los grupos amerindios, y tiene una frecuencia más alta en poblaciones nativas del sur de América, en comparación con el haplogrupo A (Tackney *et al.*, 2015). Al igual que con el grupo A, este haplogrupo está presente en Asia, por lo que sus fundadores, se deduce, también cruzaron Beringia, en su camino migratorio hacia América (Fagundes *et al.*, 2008). No obstante, es importante destacar que estudios filogenéticos ubican la fundación de este haplogrupo en América en oleadas migratorias posteriores a la del grupo A, de igual forma, el tiempo de divergencia de B es más reciente al clado A (Starikovskaya *et al.*, 1998).

La predominancia de los haplogrupos A y B en las poblaciones costarricenses fue también reportado por Silva y colaboradores en un estudio del año 2006. Los pobladores nativos del territorio costarricense pertenecieron al grupo étnico chibchamaya (Barrantes, 1998), el cual, está únicamente conformado precisamente, por los haplogrupos A y B (Batista *et al.*, 1998). Este hecho refleja el papel del istmo centroamericano como punto de encuentro de poblaciones nativas del norte y del sur del continente.

Finalmente, el tercero más frecuente fue H. El haplogrupo H es representativo de los grupos humanos del litoral oeste del mar Mediterráneo y, muy en especial de la Península Ibérica (Hernandez *et al.*, 2017). Al analizar la totalidad de hallazgos

obtenidos, se puede confirmar que hay concordancia con el mestizaje que dio origen a la población costarricense actual (Morera *et al.*, 2001). Es importante, con esto, destacar el papel clave de los estudios genéticos, en especial, del ADN mitocondrial para comprender ampliamente los patrones migratorios que dan origen a las poblaciones actuales.

Con respecto al fenotipo de psicosis, no se pudo averiguar si existe una asociación entre un haplogrupo específico con la presencia de éste, ya que no se contó con individuos independientes, sino con grupos de individuos relacionados por vía materna, tanto sanos como afectados.

Al revisar la literatura, resulta importante destacar que los haplogrupos A y B no han sido ampliamente muestreados en estudios acerca de trastornos psicóticos, en comparación con otros haplogrupos, tales como el J, el T (Gonçalves *et al.*, 2018) y el U (Frye *et al.*, 2017). El haplogrupo H ha sido más estudiado, sin embargo, los resultados no han sido del todo concluyentes. Se sabe que, en general, se caracteriza por una alta eficiencia en la generación de ATP (Ventades *et al.*, 2023), lo cual pudo ser una gran ventaja evolutiva en el Último Máximo Glacial en Europa (Roostalu *et al.*, 2007). Sin embargo, también se ha descubierto que tiene una producción de moléculas reactivas de oxígeno muy elevada, en comparación con otros haplogrupos, lo cual se convierte en una amenaza constante a la integridad del ADN mitocondrial (Ventades *et al.*, 2023).

Se concluye que es necesario realizar más muestreos con individuos independientes en poblaciones nativas para entender ampliamente las características metabólicas que confieren sus haplogrupos representativos y la asociación que pueden tener los mismos con el fenotipo de psicosis.

Variantes detectadas

La alta incidencia de variantes en sitios codificantes para la NADH deshidrogenasa, encontrada en afectados concuerda con los hallazgos que se han hecho al estudiar patologías neurodegenerativas, en donde hay una especial

afectación en los genes que codifican para esta enzima (Dhillon & Fenech, 2014). La NADH deshidrogenasa es una enzima clave en el proceso de respiración celular; su función consiste en catalizar el proceso de transporte de electrones, que eventualmente genera un gradiente electroquímico que permite la creación de ATP (Keogh & Chinnery, 2015). Las células neuronales constituyen uno de los tejidos del cuerpo que utiliza más energía en forma de ATP para llevar a cabo todas sus funciones, siendo la señalización eléctrica y química entre neuronas, uno de los procesos más energéticamente costosos (Niven, 2016). Por lo tanto, una afectación funcional causada por presencia de alelos mutados de los genes que codifican para esta enzima perjudica sustancialmente la funcionalidad neuronal.

Las variantes asociadas a enfermedades coronarias, neurodegenerativas y a trastornos psiquiátricos con psicosis como parte del fenotipo diagnóstico, no fueron encontradas o fueron encontradas en poca proporción tanto en sanos como en afectados, lo cual no es extraño, debido a que los estudios que arrojaron esas variantes fueron realizados en poblaciones europeas y asiáticas, en su mayoría (Ueno *et al.*, 2019; Ivanova *et al.*, 2021). Un hallazgo muy notable fue la presencia de variantes reportadas como “raras” en esas poblaciones y asociadas a patologías (7028C>T y 14766C>T) (Kozin *et al.*, 2020; Onieva *et al.*, 2023), en más de un 90% de la muestra estudiada. Es posible que el poco estudio que se les ha dado a las poblaciones latinoamericanas haya provocado que esas variantes se consideren poco frecuentes y de riesgo para dichas poblaciones, porque no se tenía el dato de que en otras poblaciones eran frecuentes. Este hecho refuerza la importancia de este estudio como acercamiento al conocimiento del genoma mitocondrial en poblaciones poco estudiadas como la costarricense, y en general, en Latinoamérica.

Resulta de interés la presencia de la variante 16158 T>C únicamente en individuos afectados. La variante 16159T>C ha sido estudiada previamente en poblaciones de orígenes diversos y se ha asociado con la presencia de esquizofrenia (Sequeira *et al.* 2015, Sequeira *et al.* 2013). Es importante destacar que la región del ADN mitocondrial que va de la posición 16024 a la 576, se conoce como el D-loop y es una zona no codificante, *per se*, sin embargo, actúa como promotor, por lo tanto, tiene una gran relevancia en la replicación y la transcripción de la molécula (Sharma *et al.*, 2005). La secuencia mitocondrial de referencia utilizada por Sequeira es la misma a la utilizada en este estudio, por lo que ya sea, que la variante 16158T>C y 16159T>C sean la misma, debido a su cercanía en el genoma y una posible inserción

o deleción no contemplada, o que sean variantes por separado, es de esperar que puedan generar afectación orgánica directamente en el número de copias de ADN mitocondrial o en la expresión de genes mitocondriales.

La variante 10398A>G fue encontrada en más individuos sanos que en afectados, lo cual concuerda con el efecto protector reportado por Liou et al. en 2016. Sin embargo, los resultados no son estadísticamente significativos ya que la presencia de dicha variante en la muestra es menor al 10%. En el futuro, es importante estudiar esta variante en muestras costarricenses más numerosas para comprobar si, de manera estadísticamente significativa, se encuentra con más frecuencia en individuos sanos.

Por otro lado, no se encontraron variantes que, significativamente, tuvieran mayor presencia en afectados y que fueran distintas de las reportadas en la literatura consultada.

Herencia de Variantes

Al analizar la herencia entre grupos familiares, no se encontró ninguna variante *de novo*, lo cual coincide con lo reportado en literatura. El ADN mitocondrial se hereda de manera clonal por línea materna, por lo tanto, no hay recombinación. Por otro lado, las zonas codificantes del ADN mitocondrial son muy importantes para la respiración celular, el cual, es un proceso muy conservado evolutivamente en eucariotas (Purcell et al. 2015).

No obstante, al estudiar la herencia de variantes de madres a hijos, todos compartían las variantes, excepto un caso, en el cual, la madre presentaba 16381C>T y el hijo no. De igual forma, en el hijo fue detectada la variante 7124A>G, y en la madre no. Con respecto a la variante presente en la madre y no en el hijo se puede explicar con el hecho de que la variante materna pudo no haber pasado al óvulo que dio origen al hijo, en el proceso de su formación. Durante el proceso de ovogénesis, se da un efecto de “cuello de botella” causado por la disminución en la cantidad de ADN mitocondrial que formara cada ovulo, por lo tanto, cada hijo puede recibir variantes en distintas proporciones a la madre o no recibirlas del todo (Wei et al. 2019). La Figura 8 explica este razonamiento de manera precisa.

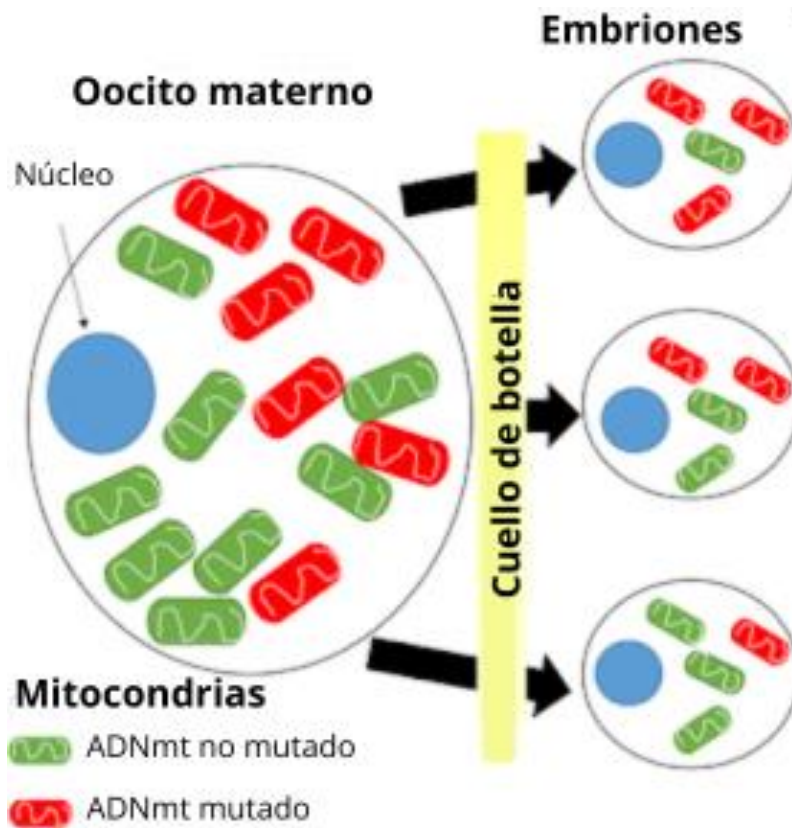


Figura 8. Efecto de “cuello de botella” en la herencia de variantes mitocondriales maternas (Modificado a partir de McCormick *et al.*, 2018)

Es importante tomar en cuenta que, debido a la interacción con el ambiente y, muy en especial, con el constante contacto que tiene el ADN mitocondrial con especies reactivas de oxígeno, conforme el individuo envejece es posible que algunas variantes de novo se generen y sean detectadas por medio de secuenciamiento (Purcell *et al.* 2015). Por esta razón, es posible que esa variante encontrada en el hijo haya sido generada en el transcurso de su vida y por ello, no se haya encontrado en la madre.

Conclusiones Generales

Este trabajo permitió demostrar que el método utilizado es apropiado para extraer secuencias mitocondriales de alta calidad y también para detectar variantes con gran precisión, tanto en zonas hipervariables como en regiones donde la variación

no es tan alta. Entre los hallazgos clave de este estudio se destaca que en individuos afectados fueron hallados más sitios heteroplásmicos, así como una presencia de heteroplasmia en más sitios codificantes en comparación con los individuos sanos. Mayor heteroplasmia total fue encontrada en individuos afectados, sin embargo, estadísticamente este resultado no fue significativo. Por otro lado, no se encontró dependencia de la presencia de heteroplasmia con la edad, sino una estabilización cíclica más notoria en individuos sanos que en afectados. Con respecto a los haplogrupos encontrados, A, B y H fueron los predominantes, lo cual concuerda con estudios previos y con la historia de la población. Es de suma importancia tomar en cuenta el tamaño de la muestra utilizada y el posible efecto que este haya tenido en los resultados, así como el poco muestreo y estudio existente en poblaciones americanas. Es de suma importancia destacar que se ha hallado correlación, tanto negativa como positiva, entre presencia de patologías neurológicas, como la enfermedad de Alzheimer, y haplogrupos específicos (Ridge *et al.*, 2012), por lo tanto se recomienda utilizar una muestra de individuos independientes para averiguar si hay asociación del fenotipo de psicosis con algún haplogrupo.

Al analizar las variantes se destacan varios hallazgos importantes, un ejemplo de ellos es la presencia de mayor incidencia de variantes en sitios codificantes para la NADH deshidrogenasa encontrada en individuos afectados, en comparación con los sanos. Asimismo, se detectó la presencia de variantes muy frecuentes en la totalidad de la muestra estudiada, las cuales aparecen reportadas en la literatura como “raras” en poblaciones europeas y asiáticas y asociadas a patologías.

En conclusión, este estudio representa un primer acercamiento al estudio de heteroplasmia mitocondrial y de variantes de este tipo en la población costarricense, así como un aporte al conocimiento en estos temas en poblaciones latinoamericanas, lo que, como se mencionó anteriormente, es una necesidad muy grande debido a la poca representación de estas poblaciones en la literatura. También propone un método accesible, amigable y de notable calidad para analizar las secuencias mitocondriales obtenidas secundariamente por secuenciamiento masivo.

ANEXOS

Tabla VIII. Profundidades de lectura por posición en individuos sanos y afectados.

Individuo	pos65	pos97	pos146	pos150	pos152	pos153	pos183	pos198	pos247	pos302	pos309	pos310
8007540139	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1446	0	1520
8007540210	0	0	0	0	0	0	0	0	0	985	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0	0	970	0	0
8007540222	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1957	0	2027
8007540398	0	0	0	0	0	0	0	0	0	977	0	0
8007540446	0	0	0	0	0	0	0	0	0	951	0	0
8007540451	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1422	0	1463
8007540505	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1634	0	1701
8007540510	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4615	0	4856
8007540723	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1184	0	0
8007540815	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1263	0	0
8007540839	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1570	0	1783
8007540851	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1318	0	1389
8007540902	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1494	0	1624
8007540950	0	0	0	0	0	0	0	0	0	975	0	0

8007540972	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1496	0	1578
8007540984	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1173	0	1525
8007540997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1621	0	1668
8007540998	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1181	0	1342
8007541023	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1950	0	1903
8007541035	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2058	0	2083
8007541045	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1616	0	1683
8007541194	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2961	0	3455
8007541257	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1383	0	1594
8007541304	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1039	0	1232
8007541345	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	965	0	0
8007541488	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1136	0	1215
8007541512	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1706	0	1774
8007541524	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	970	0	0
8007541548	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1729	0	0
8007541570	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	975	0	0
8007541573	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1373	0	1729
8007541623	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3614	0	4017
8007541624	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	947	0	0
8007541632	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1409	0	1413
8007541645	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1293	0	1271

8007542346	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1570	0	1691
8007542372	0	0	0	0	0	1670	0	0	0	1054	0	1105
8007542396	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1362	0	0
8007542408	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1320	0	1442
8007542420	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1250	0	1449
8007542427	0	0	0	0	0	1845	0	0	0	1165	0	1269
8007542432	0	0	0	0	0	0	0	0	0	950	0	0
8007542490	0	0	0	0	0	2218	0	0	0	1565	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1699	0	1762
8007540151	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1628	0	1699
8007540162	0	0	1356	0	0	1409	0	0	1294	974	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0	0	982	0	0
8007540321	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1110	0	1181
8007540333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1019	0	1125
8007540338	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4554	0	4816
8007540374	0	0	0	0	0	0	0	0	0	961	0	0
8007540406	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1098	0	1155
8007540440	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1083	0	1316
8007540463	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1307	0	1425
8007540475	0	0	0	0	0	0	0	0	0	970	0	0
8007540487	0	0	0	0	0	1937	0	0	0	1403	0	1489

8007540499	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1053	0	0
8007540525	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	978	0	0
8007540724	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	975	0	0
8007540735	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	955	0	0
8007540803	0	1450	0	0	0	0	0	0	0	0	1290	0	1281
8007540862	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1264	0	1348
8007541021	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1562	0	1541
8007541044	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1070	0	1127
8007541292	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	977	0	1116
8007541363	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1113	0	0
8007541375	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	950	0	1678
8007541475	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	967	0	1286
8007541500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1218	0	0
8007541522	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1510	0	1613
8007541535	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1780	0	1875
8007541547	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1512	0	1632
8007541586	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2254	0	2366
8007541622	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1145	1212	1220
8007541633	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1304	0	1274
8007541644	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1293	0	0
8007541648	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1818	0	1892

8007541656	0	0	0	0	0	0	0	0	0	974	0	0
8007541669	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1276	0	1320
8007541678	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1230	0	1335
8007541689	0	0	0	0	0	0	0	0	0	981	0	0
8007541755	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1230	0	0
8007541808	0	0	0	0	0	0	0	0	0	955	0	0
8007541828	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4238	0	4419
8007541974	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1114	0	1184
8007541996	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1383	0	1515
8007542206	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1040	0	1082
8007542379	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1055	0	1120
8007542391	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1006	0	1089
8007542419	0	0	0	4230	0	4287	0	0	0	3065	0	3200
8007542429	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1361	0	1444
8007542502	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1772	0	1852
8007540157	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4579	0	4706
8007540307	2687	0	0	0	0	0	0	0	0	4225	0	4438
8007540354	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2991	0	3141
8007540436	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1006	0	0
8007540448	0	0	0	0	0	1970	0	0	0	1318	0	1378
8007540450	0	0	0	0	6325	0	0	0	0	3099	0	3274

8007540532	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4568	0	4751
8007540587	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2606	0	2882
8007540588	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2892	0	3307
8007540775	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4510	0	4643
8007540981	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4371	0	4583
8007541241	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2626	0	2765
8007541270	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4449	0	4516
8007541307	0	0	0	0	0	0	5742	0	0	3916	0	4070
8007541451	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4233	0	4392
8007541742	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3992	0	4224
8007541803	0	0	0	0	0	0	0	6023	0	3926	0	4278
8007541810	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4742	0	4992
8007542266	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1793	0	1849
8007542267	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1492	0	1657
8007542278	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2034	0	2130
8007542304	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1373	0	1556
8007542320	0	0	0	0	0	0	0	0	0	920	0	0
8007542333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1093	0	0
8007542354	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1325	0	1382
8007542376	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1033	0	1104
8007542422	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1575	0	1591

8007542426	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1089	0	0
8007542461	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2100	0	2186
8007542922	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4094	0	4408
8007542936	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1475	0	0
8007542980	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3696	0	3868
8007542984	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4536	0	4727
8007540181	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1790	0	4746
8007540211	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1008	0	1062
8007540215	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3790	0	4088
8007540435	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1951	0	2060
8007540437	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1727	0	1831
8007540471	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2025	0	0
8007540541	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3920	0	4081
8007540563	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3857	0	4522
8007540612	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3109	0	3224
8007540619	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1456	0	1474
8007540666	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1157	0	1226
8007540716	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4615	0	4771
8007540763	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	977	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3682	0	3955
8007540802	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3373	0	3812

8007540916	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3606	0	3857
8007540965	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4875	0	5288
8007541017	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3473	0	3554
8007541208	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3546	0	3940
8007541222	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3298	0	3391
8007541246	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3471	0	3748
8007541303	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3375	0	3576
8007541308	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3574	0	4180
8007541322	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3650	0	3800
8007541366	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2117	0	4324
8007541415	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3826	0	3899
8007541472	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1414	0	0
8007541869	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2931	0	3144
8007541893	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2655	0	2824
8007542013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1336	0	0
8007542025	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1431	0	1483
8007542041	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1584	0	1592
8007542047	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3460	0	3855
8007542245	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1359	0	1394
8007542259	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1181	0	0
8007542271	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1919	0	1657

8007542280	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1067	0	0
8007542281	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1471	0	1573
8007542282	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200	0	1350
8007542291	0	0	0	0	0	2567	0	0	0	1590	0	1733
8007542292	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1561	0	1641
8007542306	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1296	0	1292
8007542317	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1253	0	1300
8007542319	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2081	0	2157
8007542339	0	0	0	0	0	0	0	0	0	984	0	0
8007542341	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1628	0	1694
8007542377	0	0	0	0	0	0	0	0	0	955	0	0
8007542388	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1419	0	1508
8007542399	0	0	0	0	0	0	0	0	0	978	0	1057
8007542473	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2033	0	2176
8007542853	0	0	0	0	0	0	0	0	0	970	0	0
8007542920	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3451	0	3593
8007542921	0	0	0	0	0	0	0	0	0	945	0	4948
8007542934	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4031	0	4274
8007542981	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4536	0	4727
8007542996	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1773	0	1905

8007540210	0	0	0	0	0	0	1957	0	0	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	1161	0	0	0	0	0
8007540222	0	0	0	0	0	0	2523	0	0	0	0	0
8007540398	0	0	0	0	0	0	1139	0	0	0	0	0
8007540446	0	0	0	0	0	0	1533	0	0	0	0	0
8007540451	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540505	0	0	0	0	0	1969	0	0	0	0	0	0
8007540510	0	0	0	0	0	0	5068	0	0	0	0	0
8007540723	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540815	0	0	0	0	0	0	1432	0	0	0	0	0
8007540839	0	0	0	0	0	0	2014	0	0	0	0	0
8007540851	0	0	0	0	0	1941	0	0	0	0	0	0
8007540902	0	0	0	0	0	2502	0	0	0	0	0	0
8007540950	0	0	0	0	0	1451	0	0	0	0	0	0
8007540972	0	0	0	0	0	0	1848	0	0	0	0	0
8007540984	0	0	0	0	0	2068	0	0	0	0	0	0
8007540997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540998	0	0	0	0	0	0	1577	0	0	0	0	0

8007541023	0	0	0	0	0	0	2313	0	0	0	0	0
8007541035	0	0	0	0	0	0	2326	0	0	0	0	0
8007541045	0	0	0	0	0	0	2051	0	0	0	0	0
8007541194	0	0	0	0	0	0	3822	0	0	0	0	0
8007541257	0	0	0	0	0	0	1692	0	0	0	0	0
8007541304	0	0	0	0	0	1755	0	0	0	0	0	0
8007541345	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541488	0	0	0	0	0	0	1289	0	0	0	0	0
8007541512	0	0	0	0	0	0	1908	0	0	0	0	0
8007541524	0	0	0	0	0	0	1333	0	0	0	0	0
8007541548	0	0	0	0	0	0	2005	0	0	0	0	0
8007541570	0	0	0	0	0	0	1092	0	0	0	0	0
8007541573	1662	1472	0	0	0	2206	0	0	0	0	0	0
8007541623	0	0	0	0	0	0	4705	0	0	0	0	0
8007541624	0	0	0	0	0	0	1072	0	0	0	0	0
8007541632	0	0	0	0	0	0	1592	0	0	0	0	0
8007541645	0	0	0	0	0	2120	0	0	0	0	0	0
8007541662	0	0	0	0	0	0	2023	0	0	0	0	0
8007541666	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541751	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541829	0	0	0	0	0	0	1043	0	0	0	0	0

8007541832	0	0	0	0	0	2044	0	0	0	0	0	0
8007541959	0	0	0	0	0	0	1093	1157	0	0	0	0
8007541981	0	0	0	0	0	0	1150	1125	0	0	0	0
8007541993	0	0	0	0	0	0	1164	0	0	0	0	0
8007541997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542005	0	0	0	0	0	0	1836	0	0	0	0	0
8007542017	0	0	0	0	0	0	1240	0	0	0	0	0
8007542028	0	0	0	0	0	0	1008	1014	0	0	0	0
8007542093	0	0	0	0	0	2380	0	0	0	0	0	0
8007542105	0	0	0	0	0	1678	0	0	0	0	0	0
8007542217	0	0	0	0	0	0	1866	0	0	0	0	0
8007542230	0	0	0	0	0	2529	0	0	0	0	0	0
8007542253	0	0	0	0	0	0	1067	1086	0	0	0	0
8007542276	0	0	0	0	0	1553	0	0	0	0	0	0
8007542300	0	0	0	1519	0	0	1035	0	0	0	0	0
8007542324	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542336	0	0	0	0	0	0	1578	0	0	0	0	0
8007542346	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542372	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542396	0	0	0	0	0	2306	0	0	0	0	0	0
8007542408	0	0	0	0	0	0	1619	0	0	0	0	0

8007540803	0	0	0	0	0	0	1620	0	0	0	0	0
8007540862	0	0	0	0	0	1892	0	0	0	0	0	0
8007541021	0	0	0	0	0	2603	0	0	0	0	0	0
8007541044	0	0	0	0	0	0	1357	0	0	0	0	0
8007541292	0	0	0	0	0	1694	0	0	0	0	0	0
8007541363	0	0	0	0	0	1818	0	0	0	0	0	0
8007541375	0	0	0	0	0	2141	0	0	0	0	0	0
8007541475	0	0	0	0	0	0	1520	0	0	0	0	0
8007541500	0	0	0	0	0	0	1536	0	0	0	0	0
8007541522	0	0	0	0	0	0	1640	0	0	0	0	0
8007541535	0	0	0	0	0	0	1986	0	0	0	0	0
8007541547	0	0	0	0	0	0	1711	0	0	0	0	0
8007541586	0	0	0	0	0	0	2664	0	0	0	0	0
8007541622	1241	1100	0	0	0	0	1564	0	0	0	0	0
8007541633	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541644	0	0	0	0	0	1679	0	0	0	0	0	0
8007541648	1728	1483	0	0	0	0	1269	1073	0	0	0	0
8007541656	0	0	0	0	0	1418	0	0	0	0	0	0
8007541669	0	0	0	0	0	0	1517	0	0	0	0	0
8007541678	0	0	0	0	0	0	1553	0	0	0	0	0
8007541689	0	0	0	0	0	0	1390	0	0	0	0	0

8007540981	0	0	0	0	0	5779	0	0	0	0	0	0
8007541241	0	0	0	0	0	0	3047	0	0	0	0	0
8007541270	0	0	0	0	0	0	3649	2621	0	0	0	0
8007541307	0	0	0	0	0	0	4041	0	0	0	0	0
8007541451	0	0	0	0	0	5488	0	0	0	0	0	0
8007541742	0	0	0	0	0	5593	0	0	0	0	0	0
8007541803	0	0	0	0	0	0	4698	0	0	6581	0	0
8007541810	0	0	0	0	0	0	5224	0	0	0	0	0
8007542266	0	0	0	0	0	0	1959	0	0	0	0	0
8007542267	0	0	0	0	0	0	1693	0	0	0	0	0
8007542278	0	0	0	0	0	0	2268	0	0	0	0	0
8007542304	0	0	0	0	0	2057	0	0	0	0	0	0
8007542320	0	0	0	0	0	1307	0	0	0	0	0	0
8007542333	0	0	0	0	0	0	1466	0	0	0	0	0
8007542354	0	0	0	0	0	0	1457	0	0	0	0	0
8007542376	0	0	1235	0	0	1574	0	0	0	0	0	0
8007542422	0	0	0	0	0	1978	0	0	0	0	0	0
8007542426	0	0	0	0	0	1685	0	0	0	0	0	0
8007542461	0	0	0	0	0	0	3551	0	0	0	0	0
8007542922	0	0	0	0	0	0	3147	2480	0	0	0	0
8007542936	0	0	0	0	0	0	2135	0	0	0	0	0

8007542980	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542984	0	0	0	0	0	0	4986	0	0	0	0	0
8007540181	0	0	0	0	0	0	5236	0	0	0	0	0
8007540211	0	0	0	0	0	1490	0	0	0	0	0	0
8007540215	0	0	0	0	0	0	2825	2821	0	0	0	0
8007540435	0	0	0	0	0	0	2414	0	0	0	0	0
8007540437	0	0	0	0	0	0	2030	0	0	0	0	0
8007540541	0	0	0	0	0	5266	0	0	0	0	0	0
8007540563	0	0	0	0	0	0	5156	0	0	0	0	0
8007540612	0	0	0	0	0	0	3398	0	0	0	0	0
8007540619	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540666	0	0	0	0	0	1704	0	0	0	0	0	0
8007540716	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540763	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1160	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540802	0	0	0	0	0	0	3183	2838	0	0	0	0
8007540916	0	0	0	0	0	0	4447	0	0	0	0	0
8007540965	0	0	0	0	0	0	5083	0	0	0	0	0
8007541017	0	0	0	0	0	0	2395	2230	0	0	0	0
8007541208	0	0	0	0	0	0	4282	0	0	0	0	0
8007541222	0	0	0	0	0	0	3917	0	0	0	0	0

8007541246	0	0	0	0	0	0	2360	1848	0	0	0	0
8007541303	0	0	0	0	0	4230	0	0	0	0	0	0
8007541308	0	0	0	0	0	5352	0	0	0	0	0	0
8007541322	0	0	0	0	0	4787	0	0	0	0	0	0
8007541366	0	0	0	0	0	5212	0	0	0	0	0	0
8007541415	0	0	0	0	0	4606	0	0	0	0	0	0
8007541472	0	0	0	0	0	2239	0	0	0	0	0	0
8007541869	0	0	0	0	0	0	2368	1654	0	0	4944	0
8007541893	0	0	0	0	0	0	4002	0	0	0	0	0
8007542013	0	0	0	0	0	0	1582	0	0	0	0	0
8007542025	0	0	0	0	0	0	1735	0	0	0	0	0
8007542041	0	0	0	0	0	0	1800	0	0	0	0	0
8007542047	0	0	0	0	0	0	2520	1847	0	0	0	0
8007542245	0	0	0	0	0	2077	0	0	0	0	0	0
8007542259	0	0	0	0	0	0	1620	0	0	0	0	0
8007542271	0	0	0	0	0	0	2146	0	0	0	0	0
8007542280	0	0	0	0	0	1531	0	0	0	0	0	0
8007542281	0	0	0	0	0	2219	0	0	0	0	0	0
8007542282	0	0	0	0	0	2151	0	0	0	0	0	0
8007542291	0	0	0	0	0	0	1792	0	0	0	0	0
8007542292	0	0	0	0	0	2143	0	0	0	0	0	0

8007540435	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540437	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540471	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540541	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540563	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540612	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540619	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540666	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540716	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540763	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540802	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540916	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540965	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541017	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541208	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541222	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541246	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541303	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541308	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541322	0	0	0	0	0	6385	0	0	0

8007542300	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542324	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542336	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542346	0	0	0	0	2282	0	0	0
8007542372	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542396	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542408	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542420	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542427	0	0	0	0	0	2103	0	0
8007542432	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542490	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540151	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540162	0	0	0	0	0	1529	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540321	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540333	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540338	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540374	0	0	0	0	0	0	16114	0
8007540406	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540440	0	0	0	0	0	0	0	0

8007541633	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541644	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541648	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541656	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541669	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541678	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541689	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541755	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541808	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541828	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541974	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541996	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542206	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542379	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542391	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542419	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542429	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542502	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540157	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540307	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540354	0	0	6201	0	0	0	0	0	0

8007540763	0	0	0	0	0	1274	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540802	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540916	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540965	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541017	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541208	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541222	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541246	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541303	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541308	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541322	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541366	0	0	0	0	5660	0	0	0
8007541415	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541472	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541869	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541893	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542013	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542025	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542041	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542047	0	0	0	0	0	0	0	0

8007542245	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542259	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542271	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542280	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542281	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542282	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542291	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542292	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542306	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542317	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542319	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542339	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542341	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542377	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542388	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542399	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542473	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542853	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542920	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542921	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542934	0	0	0	0	0	0	0	0

8007542981	0	6814	0	0	0	0	0	0
8007542996	0	0	0	0	0	0	0	0

Individuo	pos16129	pos16136	pos16168	pos16175	pos16176	pos16179	pos16182	pos16183
8007540139	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540210	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540222	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540398	0	1733	0	0	0	0	0	0
8007540446	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540451	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540505	0	0	0	0	0	0	1178	1460
8007540510	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540723	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540815	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540839	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540851	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540902	0	0	0	0	0	1118	1145	1127
8007540950	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540972	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540984	0	0	1822	0	0	0	1161	1304

8007542396	0	0	0	0	0	0	1316	1726
8007542408	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542420	0	0	0	0	0	0	1384	1574
8007542427	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542432	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542490	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540151	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540162	0	1510	0	0	0	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540321	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540333	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540338	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540374	0	0	1241	0	0	0	0	0
8007540406	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540440	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540463	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540475	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540487	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540499	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540525	0	0	0	0	0	0	0	0

8007540588	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540775	0	0	0	0	0	0	0	0	4516
8007540981	0	0	0	0	0	0	0	3083	3995
8007541241	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541270	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541307	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541451	0	0	0	0	0	0	0	2973	3930
8007541742	0	0	0	0	0	0	0	2886	3954
8007541803	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541810	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542266	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542267	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542278	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542304	2217	0	0	0	0	0	0	1207	1207
8007542320	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542333	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542354	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542376	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542422	0	0	0	0	0	0	0	1115	1511
8007542426	0	0	0	0	0	0	0	1070	1201
8007542461	0	0	0	0	0	0	1730	1749	1713

8007540210	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540222	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540398	0	0	0	0	0	1733	0	0
8007540446	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540451	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540505	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540510	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540723	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540815	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540839	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540851	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540902	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540950	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540972	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540984	0	0	0	0	1397	0	0	0
8007540997	0	0	0	0	0	0	0	1892
8007540998	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541023	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541035	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541045	0	0	0	0	0	0	0	0

8007542490	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540151	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540162	0	0	0	0	0	1505	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540321	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540333	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540338	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540374	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540406	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540440	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540463	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540475	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540487	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540499	0	0	0	0	0	1973	0	0
8007540525	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540724	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540735	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540803	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540862	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541021	0	0	0	0	1397	0	0	0

8007541044	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541292	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541363	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541375	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541475	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541500	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541522	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541535	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541547	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541586	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541622	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541633	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541644	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541648	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541656	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541669	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541678	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541689	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541755	0	0	0	0	0	2317	0	0
8007541808	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541828	0	0	0	0	0	0	0	0

8007541974	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541996	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542206	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542379	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542391	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542419	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542429	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542502	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540157	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540307	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540354	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540436	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540448	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540450	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540532	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540587	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540588	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540775	0	0	0	0	0	0	5136	0
8007540981	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541241	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541270	0	6206	0	0	0	0	0	0

8007541307	6052	0	0	0	0	0	0	0
8007541451	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541742	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541803	0	0	0	0	0	6375	0	0
8007541810	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542266	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542267	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542278	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542304	0	0	0	0	1349	0	0	0
8007542320	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542333	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542354	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542376	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542422	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542426	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542461	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542922	0	5981	0	0	0	0	0	0
8007542936	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542980	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542984	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540181	0	0	0	0	0	0	0	0

8007540211	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540215	0	5696	0	0	0	0	0	0
8007540435	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540437	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540471	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540541	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540563	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540612	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540619	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540666	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540716	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540763	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540802	0	5673	0	0	0	0	0	0
8007540916	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540965	0	0	6738	0	0	0	0	0
8007541017	0	5540	0	0	0	0	0	0
8007541208	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541222	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541246	0	5340	0	0	0	0	0	0
8007541303	0	0	0	0	0	0	0	0

8007541308	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541322	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541366	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541415	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541472	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541869	0	4693	0	0	0	0	0	0	0
8007541893	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542013	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542025	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542041	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542047	0	5764	0	0	0	0	0	0	0
8007542245	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542259	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542271	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542280	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542281	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542282	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542291	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542292	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542306	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542317	0	1892	0	0	0	0	0	0	0

8007542093	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542105	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542217	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542230	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542253	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542276	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542300	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542324	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542336	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542346	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542372	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542396	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542408	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542420	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542427	0	1916	0	0	0	1961	0	0
8007542432	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542490	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540151	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540162	0	1429	0	0	0	0	1445	1443
8007540221	0	0	0	0	0	0	0	0

8007542419	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542429	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542502	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540157	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540307	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540354	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540436	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540448	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540450	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540532	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540587	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540588	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540775	0	0	0	0	0	0	0	0
8007540981	4759	0	0	0	0	0	0	0
8007541241	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541270	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541307	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541451	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541742	0	0	0	0	0	0	0	0
8007541803	0	6176	0	0	0	0	0	6129
8007541810	0	0	0	0	6765	0	0	0

8007542399	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542473	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542853	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542920	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542921	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542934	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542981	0	0	0	0	0	0	0	0
8007542996	0	0	0	0	0	0	0	0

Individuo	pos16327	pos16360	pos16362	pos16381	pos16433	pos16518
8007540139	0	0	0	0	0	1728
8007540210	0	0	0	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0
8007540222	0	0	0	0	0	0
8007540398	0	0	0	0	0	0
8007540446	0	0	0	0	0	0
8007540451	0	0	0	0	0	0
8007540505	0	0	0	0	0	0
8007540510	0	0	0	0	0	0
8007540723	0	0	0	0	0	0
8007540815	0	0	0	0	0	0

8007540839	0	0	0	0	0	0	0
8007540851	0	0	0	0	0	0	0
8007540902	0	0	0	0	0	0	0
8007540950	0	0	0	0	0	0	0
8007540972	0	0	0	0	0	0	0
8007540984	0	0	0	0	0	0	0
8007540997	0	0	0	0	0	0	0
8007540998	0	0	0	0	0	0	0
8007541023	0	0	0	0	0	0	0
8007541035	0	0	0	0	0	0	2403
8007541045	0	0	0	0	0	0	0
8007541194	0	0	0	0	0	0	0
8007541257	0	0	0	0	0	0	0
8007541304	0	0	0	0	0	0	0
8007541345	0	0	0	0	0	0	0
8007541488	0	0	0	0	0	0	0
8007541512	0	0	0	0	0	0	0
8007541524	0	0	0	0	0	0	0
8007541548	0	0	0	0	0	0	0
8007541570	0	0	0	0	0	0	0
8007541573	0	0	0	0	0	0	0

8007541623	0	0	0	0	0	0
8007541624	0	0	0	0	0	0
8007541632	0	0	0	0	0	0
8007541645	0	0	0	0	0	0
8007541662	0	0	0	0	0	0
8007541666	0	0	0	0	0	0
8007541751	0	0	0	0	0	0
8007541829	0	0	0	0	0	0
8007541832	0	0	0	0	0	0
8007541959	0	0	0	0	0	0
8007541981	0	0	0	0	0	0
8007541993	0	0	0	0	0	0
8007541997	0	0	0	0	0	0
8007542005	0	0	0	0	0	0
8007542017	0	0	0	0	0	0
8007542028	0	0	0	0	0	0
8007542093	0	0	0	0	0	0
8007542105	0	0	0	0	0	0
8007542217	0	0	0	0	0	0
8007542230	0	0	0	0	0	0
8007542253	0	0	0	0	0	0

8007542276	0	0	0	0	0	0
8007542300	0	0	0	0	0	0
8007542324	0	0	0	0	0	0
8007542336	0	0	0	0	0	0
8007542346	0	0	0	0	0	0
8007542372	0	0	0	0	0	0
8007542396	0	0	0	0	0	0
8007542408	0	0	0	0	0	0
8007542420	0	0	0	0	0	0
8007542427	0	0	0	0	0	0
8007542432	0	0	0	0	0	0
8007542490	0	0	0	0	0	0
8007542997	0	0	0	0	0	0
8007540151	0	0	0	0	0	1872
8007540162	0	0	1386	0	0	0
8007540221	0	0	0	0	0	0
8007540321	0	0	0	0	0	0
8007540333	0	0	0	0	0	0
8007540338	0	0	0	0	0	0
8007540374	0	0	0	0	0	0
8007540406	0	0	0	0	0	0

8007540440	0	0	0	0	0	0
8007540463	0	0	0	0	0	1538
8007540475	0	0	0	0	0	1468
8007540487	0	0	0	0	0	1567
8007540499	0	0	0	0	0	1353
8007540525	0	0	0	0	0	0
8007540724	0	0	0	0	0	0
8007540735	0	0	0	0	0	0
8007540803	0	0	0	0	0	0
8007540862	0	0	0	0	0	0
8007541021	0	0	0	0	0	0
8007541044	0	0	0	0	0	0
8007541292	0	0	0	0	0	0
8007541363	0	0	0	0	0	0
8007541375	0	0	0	0	0	0
8007541475	0	0	0	0	0	0
8007541500	0	0	0	0	0	0
8007541522	0	0	0	0	0	0
8007541535	0	0	0	0	0	0
8007541547	0	0	0	0	0	0
8007541586	0	0	0	0	0	0

8007541622	0	0	0	0	0	0	0
8007541633	0	0	0	0	0	0	0
8007541644	0	0	0	0	0	0	0
8007541648	0	0	0	0	0	0	0
8007541656	0	0	0	0	0	0	0
8007541669	0	0	0	0	0	0	1619
8007541678	0	0	0	0	0	0	0
8007541689	0	0	0	0	0	0	0
8007541755	0	0	0	0	0	0	1634
8007541808	0	0	0	0	0	0	0
8007541828	0	0	0	0	0	0	0
8007541974	0	0	0	0	0	0	0
8007541996	0	0	0	0	0	0	1694
8007542206	0	0	0	0	0	0	0
8007542379	0	0	0	0	0	0	0
8007542391	0	0	0	0	0	0	0
8007542419	0	0	0	0	0	0	0
8007542429	0	0	0	0	0	0	0
8007542502	0	0	0	0	0	0	0
8007540157	0	0	0	0	0	0	0
8007540307	0	0	0	0	0	0	0

8007540354	0	0	0	0	0	0
8007540436	0	0	0	0	0	0
8007540448	0	0	0	0	0	0
8007540450	0	0	0	0	0	0
8007540532	0	0	0	0	0	0
8007540587	0	0	0	0	0	0
8007540588	0	0	0	0	0	0
8007540775	0	0	0	0	0	0
8007540981	0	0	0	0	0	0
8007541241	0	0	0	0	0	0
8007541270	0	0	0	0	0	0
8007541307	0	0	0	0	0	0
8007541451	0	0	0	0	0	0
8007541742	0	0	0	0	0	0
8007541803	0	5936	6003	6071	0	0
8007541810	0	0	0	0	0	0
8007542266	0	0	0	0	0	0
8007542267	0	0	0	0	0	0
8007542278	0	0	0	0	0	0
8007542304	0	0	0	0	0	0
8007542320	0	0	0	0	0	0

8007542333	0	0	0	0	0	0	0
8007542354	0	0	0	0	0	0	0
8007542376	0	0	0	0	0	0	0
8007542422	0	0	0	0	0	0	0
8007542426	0	0	0	0	0	0	0
8007542461	0	0	0	0	0	0	0
8007542922	0	0	0	0	0	0	0
8007542936	0	0	0	0	0	0	0
8007542980	0	0	0	0	0	0	0
8007542984	0	0	0	0	0	0	0
8007540181	0	0	0	0	0	0	0
8007540211	0	0	0	0	0	0	0
8007540215	0	0	0	0	0	0	0
8007540435	0	0	0	0	0	0	0
8007540437	0	0	0	0	0	0	0
8007540471	0	0	0	0	0	0	0
8007540541	0	0	0	0	0	0	0
8007540563	6707	0	0	0	0	0	0
8007540612	0	0	0	0	0	0	0
8007540619	0	0	0	0	0	0	0
8007540666	0	0	0	0	0	0	0

8007540716	0	0	0	0	0	0	0
8007540763	0	0	0	0	0	0	0
8007540799	0	0	0	0	0	0	0
8007540802	0	0	0	0	0	0	0
8007540916	0	0	0	0	0	0	0
8007540965	0	0	0	0	0	0	0
8007541017	0	0	0	0	0	0	0
8007541208	0	0	0	0	0	0	0
8007541222	0	0	0	0	0	0	0
8007541246	0	0	0	0	0	0	0
8007541303	0	0	0	0	0	0	0
8007541308	0	0	0	0	0	0	0
8007541322	0	0	0	0	0	0	0
8007541366	0	0	0	0	0	0	0
8007541415	0	0	0	0	0	5423	0
8007541472	0	0	0	0	0	0	0
8007541869	0	0	0	0	0	0	0
8007541893	0	0	0	0	0	0	0
8007542013	0	0	0	0	0	0	0
8007542025	0	0	0	0	0	0	0
8007542041	0	0	0	0	0	0	0

8007542047	0	0	0	0	0	0	0
8007542245	0	0	0	0	0	0	0
8007542259	0	0	0	0	0	0	0
8007542271	0	0	0	0	0	0	0
8007542280	0	0	0	0	0	0	0
8007542281	0	0	0	0	0	0	0
8007542282	0	0	0	0	0	0	0
8007542291	0	0	0	0	0	0	0
8007542292	0	0	0	0	0	0	0
8007542306	0	0	0	0	0	0	0
8007542317	0	0	0	0	0	0	0
8007542319	0	0	0	0	0	0	0
8007542339	0	0	0	0	0	0	0
8007542341	0	0	0	0	0	0	0
8007542377	0	0	0	0	0	0	0
8007542388	0	0	0	0	0	0	0
8007542399	0	0	0	0	0	0	0
8007542473	0	0	0	0	0	0	0
8007542853	0	0	0	0	0	0	0
8007542920	0	0	0	0	0	0	0
8007542921	0	0	0	0	0	0	0

8007542934	0	0	0	0	0	0
8007542981	0	0	0	0	0	0
8007542996	0	0	0	0	0	0

Tabla IX. Variantes totales encontradas en individuos sanos y afectados.

Posición	Variante	Sanos	Afectados
pos65	C>T	0	1
pos97	G>A	0	1
pos146	C>T	0	1
pos150	C>T	1	1
pos152	T>C	0	1
pos153	A>G	14	13
pos183	A>G	0	1
pos198	C>T	0	1
pos235	A>G	0	2
pos247	G>A	0	1
pos302	A> ACC/AC	104	78
pos309	C/CCCA	0	2
pos310	T>TC/C	79	62
pos316	G>C	0	2
pos318	T>C	2	2
pos369	C>T	0	1
pos456	C>T	0	1
pos493	AC>A	30	22
pos513	GCA>G	62	52
pos567	A>ACCCCC/ C/ACCCC	14	3
pos663	A>G	3	4
pos1736	A>G	3	3
pos2129	GA>G	0	1
pos2150	T>TA	0	1
pos2393	CA>C	0	1

pos2706	A>G	0	1
pos3320	A>G	1	3
pos3552	A>G	1	3
pos3434	A>G	1	1
pos3483	G>A	0	1
pos3609	C>T	0	1
pos3876	A>G	2	1
pos3898	T>C	1	0
pos4105	A>G	1	0
pos4122	A>G	0	1
pos4123	A>G	0	1
pos4216	G>C	2	1
pos4248	T>C	0	1
pos4363	T>C	1	0
pos4665	G>A	1	0
pos4769	A>G	0	1
pos4824	A>G	0	2
pos5122	T>C	1	0
pos5381	A>G	1	1
pos5460	G>A	0	1
pos5894	A>AC	0	2
pos6306	A>G	1	0
pos6445	C>T	1	0
pos6446	G>T	5	1
pos6473	C>T	0	1
pos6794	A>G	0	2
pos7028	C>T	92	74

pos7256	C>T	1	0
pos7368	T>C	1	0
pos7497	G>A	1	0
pos7640	G>A	0	1
pos7960	A>G	0	1
pos8027	G>A	3	2
pos8170	A>G	1	0
pos8270	C>CACCCC CTCT	14	15
pos8276	CTCTA>*/C CTA	0	1
pos8278	CTACCCCC T>*/C	0	1
pos8474	C>T	7	3
pos8538	T>C	1	1
pos8584	G>A	1	2
pos8794	C>T	0	1
pos8817	A>G	1	0
pos9530	T>C	0	1
pos9494	A>G	0	1
pos10398	A>G	9	3
pos10401	G>A	1	0
pos10500	G>A	0	1
pos10635	G>A	2	0
pos11177	C>T	1	1
pos11150	G>A	1	0
pos11251	A>G	2	1

pos12007	G>A	1	1
pos12398	C>T	0	1
pos12609	T>C	0	5
pos12705	C>T	0	1
pos12772	G>A	1	0
pos12823	G>A	0	1
pos12940	G>A	0	1
pos13889	G>A	1	1
pos14178	T>C	2	0
pos14766	C>T	93	67
pos15113	A>G	0	1
pos15254	G>A	1	0
pos15535	C>T	0	1
pos15766	C>T	1	1
pos15898	T>C	0	1
pos16086	T>C	0	1
pos16093	T>C	5	0
pos16111	C>T	6	4
pos16114	C>T	0	1
pos16129	G>A	1	1
pos16136	T>C	0	2
pos16158	T>C	0	8
pos16168	C>T	0	1
pos16175	A>G	2	0
pos16176	C>T	0	1
pos16179	CAA>C	9	7
pos16182	A>C	24	15

pos16183	A>C/ACCC	28	16
pos16184	C>T	0	1
pos16187	C>T	13	2
pos16188	C>CA	1	0
pos16189	T>C	0	1
pos16217	T>C	5	3
pos16223	C>T	11	13
pos16241	A>G	0	1
pos16261	C>T	5	0
pos16270	C>T	1	1
pos16290	C>T	4	4
pos16298	T>C	0	1
pos16311	T>C	0	1
pos16319	G>A	3	2
pos16327	C>T	2	1
pos16355	C>T	1	1
pos16360	C>T	0	2
pos16362	T>C	0	4
pos16381	T>C	0	1
pos16433	T>A	1	0

Tabla IX. Variantes totales encontradas en individuos sanos y afectados.

Posición	Cambio	Sanos	Afectados
pos65	C>T	0	1
pos97	G>A	0	1
pos146	C>T	0	1
pos150	C>T	1	1
pos152	T>C	0	1
pos153	A>G	14	13
pos183	A>G	0	1
pos198	C>T	0	1
pos235	A>G	0	2
pos247	G>A	0	1
pos302	A> ACC/AC	104	78
pos309	C/CCCA	0	2
pos310	T>TC/C	79	62
pos316	G>C	0	2
pos318	T>C	2	2
pos369	C>T	0	1
pos456	C>T	0	1
pos493	AC>A	30	22
pos513	GCA>G	62	52
pos567	A>ACCCCC/C/ACCCC	14	3
pos663	A>G	3	4
pos1736	A>G	3	3
pos2129	GA>G	0	1
pos2150	T>TA	0	1

pos2393	CA>C	0	1
pos2706	A>G	0	1
pos3434	A>G	1	1
pos3483	G>A	0	1
pos3609	C>T	0	1
pos3876	A>G	2	1
pos3898	T>C	1	0
pos4105	A>G	1	0
pos4122	A>G	0	1
pos4123	A>G	0	1
pos4248	T>C	0	1
pos4363	T>C	1	0
pos4665	G>A	1	0
pos4769	A>G	0	1
pos4824	A>G	0	2
pos5122	T>C	1	0
pos5381	A>G	1	1
pos5460	G>A	0	1
pos5894	A>AC	0	2
pos6306	A>G	1	0
pos6445	C>T	1	0
pos6446	G>T	5	1
pos6473	C>T	0	1
pos6794	A>G	0	2
pos7256	C>T	1	0
pos7368	T>C	1	0
pos7497	G>A	1	0

pos7640	G>A	0	1
pos7960	A>G	0	1
pos8027	G>A	3	2
pos8170	A>G	1	0
pos8270	C>CACCCCCTCT	14	15
pos8276	CTCTA>*/CCTA	0	1
pos8278	CTACCCCCT>*/C	0	1
pos8474	C>T	7	3
pos8538	T>C	1	1
pos8794	C>T	0	1
pos8817	A>G	1	0
pos9530	T>C	0	1
pos9494	A>G	0	1
pos10401	G>A	1	0
pos10500	G>A	0	1
pos10635	G>A	2	0
pos11177	C>T	1	1
pos11150	G>A	1	0
pos12007	G>A	1	1
pos12398	C>T	0	1
pos12609	T>C	0	5
pos12705	C>T	0	1
pos12772	G>A	1	0
pos12823	G>A	0	1
pos12940	G>A	0	1
pos13889	G>A	1	1
pos14766	C>T	1	1

pos15113	A>G	0	1
pos15254	G>A	1	0
pos15535	C>T	0	1
pos15766	C>T	1	1
pos15898	T>C	0	1
pos16086	T>C	0	1
pos16093	T>C	5	0
pos16111	C>T	6	4
pos16114	C>T	0	1
pos16129	G>A	1	1
pos16136	T>C	0	2
pos16168	C>T	0	1
pos16175	A>G	2	0
pos16176	C>T	0	1
pos16179	CAA>C	9	7
pos16182	A>C	24	15
pos16183	A>C/ACCC	28	16
pos16184	C>T	0	1
pos16187	C>T	13	2
pos16188	C>CA	1	0
pos16189	T>C	0	1
pos16217	T>C	5	3
pos16223	C>T	11	13
pos16241	A>G	0	1
pos16261	C>T	5	0
pos16270	C>T	1	1
pos16290	C>T	4	4

pos16298	T>C	0	1
pos16311	T>C	0	1
pos16319	G>A	3	2
pos16327	C>T	2	1
pos16355	C>T	1	1
pos16360	C>T	0	2
pos16362	T>C	0	4
pos16381	T>C	0	1
pos16433	T>A	1	0

REFERENCIAS

Alexeyev, M. (2020). Mitochondrial DNA: the common confusions. *Mitochondrial DNA Part A*, 31(2), 45-47.

Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H., Coulson, A. R., Drouin, J., ... & Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457-465.

Andréasson, H., Nilsson, M., Lundberg, H., & Allen, M. (2006). Nuclear and mitochondrial DNA quantification of various forensic materials. *Forensic Science International*, 164(1), 56-64.

Area-Gomez, E., Guardia-Laguarta, C., Schon, E. A., & Przedborski, S. (2019). Mitochondria, OxPhos, and neurodegeneration: cells are not just running out of gas. *The Journal of clinical investigation*, 129(1), 34-45.

Atladottir, H. O., Gyllenberg, D., Langridge, A., Sandin, S., Hansen, S. N., Leonard, H., Gissler, M., Reichenberg, A., Schendel, D. E., Bourke, J., Hultman, C. M., Grice, D. E., Buxbaum, J. D., & Parner, E. T. (2015). The increasing prevalence of reported diagnoses of childhood psychiatric disorders: a descriptive multinational comparison. *European child & adolescent psychiatry*, 24(2), 173-183.

Barrantes, R. (1998). Origen y relaciones entre los amerindios chibcha de Costa Rica: Una perspectiva genética y evolutiva. In *Memoria del Primer Congreso Científico sobre Pueblos Indígenas de Costa Rica y sus fronteras* (pp. 3-14).

Batista, O. I., Kolman, C. J., Arias, T. D., Guionneau-Sinclair, F., Quirós, E., & Bermingham, E. (1998). Variación en el ADNmT de dos tribus amerindias chibchas, los Ngobe y Cuna de Panamá. In *Memoria del Primer Congreso Científico sobre Pueblos Indígenas de Costa Rica y sus Fronteras (15-35)*, EUNED, San José.

Beal, M. F. (2005). Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 58(4), 495-505.

Benard, G., Faustin, B., Passerieux, E., Galinier, A., Rocher, C., Bellance, N., Delage, J. P., Casteilla, L., Letellier, T., & Rossignol, R. (2006). Physiological diversity of mitochondrial oxidative phosphorylation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 291(6), C1172-C1182.

Bozzo, F., Mirra, A., & Carri, M. T. (2017). Oxidative stress and mitochondrial damage in the pathogenesis of ALS: new perspectives. *Neuroscience letters*, 636, 3-8.

Bug, D. S., Subbotina, T. F., Narkevich, A. N., Petukhova, N. V., & Zhloba, A. A. (2023). Evolutionary reconstruction of MT-RNR2 gene demonstrates a diverse compositional landscape of humanin in vertebrates. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 59(5), 1566-1576.

Burmeister, M., McInnis, M. G., & Zöllner, S. (2008). Psychiatric genetics: progress amid controversy. *Nature Reviews Genetics*, 9(7), 527.

Chiaratti, M. R., & Chinnery, P. F. (2022). Modulating mitochondrial DNA mutations: factors shaping heteroplasmy in the germ line and somatic cells. *Pharmacological Research*, 185, 106466.

Chinnery, P. F., Samuels, D. C., Elson, J., & Turnbull, D. M. (2002). Accumulation of mitochondrial DNA mutations in aging, cancer, and mitochondrial disease: is there a common mechanism?. *The Lancet*, 360(9342), 1323-1325.

Chissom, B. S. (1970). Interpretation of the kurtosis statistic. *The American Statistician*, 24(4), 19-22.

Cole, L. W. (2016). The evolution of per-cell organelle number. *Frontiers in cell and developmental biology*, 4, 85.

De Laat, P., Koene, S., van den Heuvel, L. P., Rodenburg, R. J., Janssen, M. C., & Smeitink, J. A. (2012). Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m. 3243A> G mutation. *Journal of inherited metabolic disease*, 35, 1059-1069.

Dhillon, V. S., & Fenech, M. (2014). Mutations that affect mitochondrial functions and their association with neurodegenerative diseases. *Mutation Research*, 759, 1-13.

Drew, B., & Leeuwenburgh, C. (2003). Method for measuring ATP production in isolated mitochondria: ATP production in brain and liver mitochondria of Fischer-344 rats with age and caloric restriction. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285(5), R1259-R1267.

Edland, S. D., Tobe, V. O., Rieder, M. J., Bowen, J. D., McCormick, W., Teri, L., ... & Kukull, W. A. (2002). Mitochondrial genetic variants and Alzheimer disease: a case-control study of the T4336C and G5460A variants. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 16(1), 1-7.

Fagundes, N. J., Kanitz, R., Eckert, R., Valls, A. C., Bogo, M. R., Salzano, F. M., ... & Bonatto, S. L. (2008). Mitochondrial population genomics supports a single pre-Clovis origin with a coastal route for the peopling of the Americas. *The American Journal of Human Genetics*, 82(3), 583-592.

Foran, D. R. (2006). Relative degradation of nuclear and mitochondrial DNA: an experimental approach. *Journal of forensic sciences*, 51(4), 766-770.

Frederiksen, A. L., Andersen, P. H., Kyvik, K. O., Jeppesen, T. D., Vissing, J., & Schwartz, M. (2006). Tissue specific distribution of the 3243A→ G mtDNA mutation. *Journal of medical genetics*, 43(8), 671-677.

Frye, M. A., Ryu, E., Nassan, M., Jenkins, G. D., Andreazza, A. C., Evans, J. M., ... & Biernacka, J. M. (2017). Mitochondrial DNA sequence data reveals association of haplogroup U with psychosis in bipolar disorder. *Journal of psychiatric research*, *84*, 221-226.

Gabaldón, T., & Huynen, M. A. (2004). Shaping the mitochondrial proteome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *1659*(2-3), 212-220.

Giuliani, C., Barbieri, C., Li, M., Bucci, L., Monti, D., Passarino, G., ... & Garagnani, P. (2014). Transmission from centenarians to their offspring of mtDNA heteroplasmy revealed by ultra-deep sequencing. *Aging (Albany NY)*, *6*(6), 454.

Gonçalves, V. F., Giamberardino, S. N., Crowley, J. J., Vawter, M. P., Saxena, R., Bulik, C. M., ... & Knight, J. (2018). Examining the role of common and rare mitochondrial variants in schizophrenia. *PloS one*, *13*(1), e0191153.

Gould, M. P., Bosworth, C. M., McMahon, S., Grandhi, S., Grimerg, B. T., & LaFramboise, T. (2015). PCR-free enrichment of mitochondrial DNA from human blood and cell lines for high quality next-generation DNA sequencing. *PLoS One*, *10*(10), e0139253.

Greiner S., Lehwark, P. and Bock, R. (2019) OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic Acids Research* *47*: W59-W64

Gupta, R., Kanai, M., Durham, T. J., Tsuo, K., McCoy, J. G., Kotrys, A. V., ... & Mootha, V. K. (2023). Nuclear genetic control of mtDNA copy number and heteroplasmy in humans. *Nature*, *620*(7975), 839-848.

Habbane, M., Montoya, J., Rhouda, T., Sbaoui, Y., Radallah, D., & Emperador, S. (2021). Human mitochondrial DNA: particularities and diseases. *Biomedicines*, *9*(10), 1364.

Hare, E., Glahn, D. C., Dassori, A., Raventos, H., Nicolini, H., Ontiveros, A., Medina, R., Mendoza, R., Jerez, A., Muñoz, R., Almasy, L., & Escamilla, M. A. (2010). Heritability of age of onset of psychosis in schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 153(1), 298-302.

Hernández, C. L., Dugoujon, J. M., Novelletto, A., Rodríguez, J. N., Cuesta, P., & Calderón, R. (2017). The distribution of mitochondrial DNA haplogroup H in southern Iberia indicates ancient human genetic exchanges along the western edge of the Mediterranean. *BMC genetics*, 18, 1-14.

Huang, M., Chen, S., Liang, Y., & Guo, Y. (2016). The role of berberine in the multi-target treatment of senile dementia. *Current topics in medicinal chemistry*, 16(8), 867-873.

Irwin, J. A., Saunier, J. L., Niederstätter, H., Strouss, K. M., Sturk, K. A., Diegoli, T. M., ... & Parsons, T. J. (2009). Investigation of heteroplasmy in the human mitochondrial DNA control region: a synthesis of observations from more than 5000 global population samples. *Journal of molecular evolution*, 68, 516-527.

Islam, M. T. (2017). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological research*, 39(1), 73-82.

Ismail, Z., Creese, B., Aarsland, D., Kales, H. C., Lyketsos, C. G., Sweet, R. A., & Ballard, C. (2022). Psychosis in Alzheimer disease—mechanisms, genetics and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Neurology*, 18(3), 131-144

Ivanova, E. M., Kandilarova, S. M., Lukanov, T. I., Naumova, E. J., Akabalieva, K. V., & Milanova, V. K. (2021). NGS-based mtDNA profiling could reveal genetic alterations in schizophrenia. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(11), 938-948.

Jahani, M. M., Azimi Meibody, A., Karimi, T., Banoei, M. M., & Houshmand, M. (2020). An A10398G mitochondrial DNA alteration is related to increased risk of breast cancer, and associates with Her2 positive receptor. *Mitochondrial DNA Part A*, 31(1), 11-16.

Jenuth, J. P., Peterson, A. C., Fu, K., & Shoubridge, E. A. (1996). Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nature genetics*, 14(2), 146.

Jeste, D. V., & Finkel, S. I. (2000). Psychosis of Alzheimer's disease and related dementias: diagnostic criteria for a distinct syndrome. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 8(1), 29-34.

Keogh, M., & Chinnery, P. F. (2013). Hereditary mtDNA heteroplasmy: a baseline for aging?. *Cell metabolism*, 18(4), 463-464.

Keogh, M. J., & Chinnery, P. F. (2015). Mitochondrial DNA mutations in neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1847(11), 1401-1411.

Kim, S. J., Miller, B., Hartel, N. G., Ramirez, R., Braniff, R. G., Leelaprachakul, N., ... & Cohen, P. (2024). A naturally occurring variant of SHLP2 is a protective factor in Parkinson's disease. *Molecular Psychiatry*, 29(2), 505-517.

Kirkbride, J. B., Stubbins, C., & Jones, P. B. (2012). Psychosis incidence through the prism of early intervention services. *The British Journal of Psychiatry*, 200(2), 156-157.

Koonin, E. V., & Novozhilov, A. S. (2009). Origin and evolution of the genetic code: the universal enigma. *IUBMB life*, 61(2), 99-111.

Korolija, M., Sukser, V., & Vlahoviček, K. (2024). Mitochondrial point heteroplasmy: insights from deep-sequencing of human replicate samples. *BMC genomics*, 25(1), 48.

Kozin, M., Kulakova, O., Kiselev, I., Baulina, N., Boyko, A., & Favorova, O. (2020). Mitonuclear interactions influence multiple sclerosis risk. *Gene*, 758, 144962.

Li, M., Schönberg, A., Schaefer, M., Schroeder, R., Nasidze, I., & Stoneking, M. (2010). Detecting heteroplasmy from high-throughput sequencing of complete human mitochondrial DNA genomes. *The American Journal of Human Genetics*, 87(2), 237-249.

Liou, C. W., Chuang, J. H., Chen, J. B., Tiao, M. M., Wang, P. W., Huang, S. T., ... & Lin, T. K. (2016). Mitochondrial DNA variants as genetic risk factors for Parkinson disease. *European journal of neurology*, 23(8), 1289-1300.

Lott, M.T., Leipzig, J.N., Derbeneva, O., Xie, H.M., Chalkia, D., Sarmady, M., Procaccio, V., and Wallace, D.C. 2013. mtDNA variation and analysis using MITOMAP and MITOMASTER. *Current Protocols in Bioinformatics* 1(123):1.23.1-26.

Ma, J., Purcell, H., Showalter, L., & Aagaard, K. M. (2015). Mitochondrial DNA sequence variation is largely conserved at birth with rare de novo mutations in neonates. *American journal of obstetrics and gynecology*, 212(4), 530-e1.

Marchbanks, R. M., Ryan, M., Day, I. N. M., Owen, M., McGuffin, P., & Whatley, S. A. (2003). A mitochondrial DNA sequence variant associated with schizophrenia and oxidative stress. *Schizophrenia research*, 65(1), 33-38.

Martins, A. C. (2011). Change and aging senescence as an adaptation. *PLoS One*, 6(9), e24328.

McCormick, E. M., Muraresku, C. C., & Falk, M. J. (2018). Mitochondrial Genomics: A complex field now coming of age. *Current genetic medicine reports*, 6, 52-61.

McInnis, M. G., & Potash, J. B. (2004). Psychiatric genetics: Into the 21st century. *International Review of Psychiatry*, 16(4), 243-245.

Mikhalchenko, A., Gutierrez, N. M., Frana, D., Safaei, Z., Van Dyken, C., Li, Y., ... & Mitalipov, S. (2024). Induction of somatic cell haploidy by premature cell division. *Science Advances*, 10(10), eadk9001.

Morovvati, S., Modarresi, M., Habibi, G., Kiarudi, Y., Karami, A., & Peyvandi, A. A. (2007). Sequence analysis of mitochondrial DNA hypervariable regions: an approach to personal identification. *Archives of medical research*, 38(3), 345-349.

Montoya, J., Christianson, T., Levens, D., Rabinowitz, M., & Attardi, G. (1982). Identification of initiation sites for heavy-strand and light-strand transcription in human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(23), 7195-7199.

Morera, B., Marín-Rojas, R., & Barrantes, R. (2001). Análisis de varios marcadores genéticos clásicos en la población de Costa Rica. *Revista de biología tropical*, 49(3-4), 1237-1252.

Muzzey, D., Evans, E. A., & Lieber, C. (2015). Understanding the basics of NGS: from mechanism to variant calling. *Current genetic medicine reports*, 3(4), 158-165.

Nesta, A. V., Tafur, D., & Beck, C. R. (2021). Hotspots of human mutation. *Trends in Genetics*, 37(8), 717-729.

Nissanka, N., & Moraes, C. T. (2020). Mitochondrial DNA heteroplasmy in disease and targeted nuclease- based therapeutic approaches. *EMBO reports*, 21(3), e49612.

Niven, J. E. (2016). Neuronal energy consumption: biophysics, efficiency and evolution. *Current opinion in neurobiology*, 41, 129-135.

O'Donovan, M. C., Craddock, N. J., & Owen, M. J. (2009). Genetics of psychosis; insights from views across the genome. *Human genetics*, 126(1), 3-12.

Onieva, A., Martin, J., Cuesta-Aguirre, D. R., Planells, V., Coronado-Zamora, M., Beyer, K., ... & Aluja, M. P. (2023). Complete mitochondrial DNA profile in stroke: A geographical matched case-control study in Spanish population. *Mitochondrion*, 73, 51-61.

Owen, M. J., Craddock, N., & Jablensky, A. (2007). The genetic deconstruction of psychosis. *Schizophrenia bulletin*, 33(4), 905-911.

Parakatselaki, M. E., & Ladoukakis, E. D. (2021). mtDNA heteroplasmy: origin, detection, significance, and evolutionary consequences. *Life*, 11(7), 633.

Pasqualotto, B. (2023). Mitochondrial form and function in patient-derived fibroblasts harbouring the G11778A mutation of Leber's hereditary optic neuropathy.

Quispe-Tintaya, W., White, R. R., Popov, V. N., Vijg, J., & Maslov, A. Y. (2013). Fast mitochondrial DNA isolation from mammalian cells for next-generation sequencing. *Biotechniques*, 55(3), 133-136.

Rebolledo-Jaramillo, B., Su, M. S. W., Stoler, N., McElhoe, J. A., Dickins, B., Blankenberg, D., ... & Makova, K. D. (2014). Maternal age effect and severe germ-line bottleneck in the inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(43), 15474-15479.

Ricchetti, M., Tekaia, F., & Dujon, B. (2004). Continued colonization of the human genome by mitochondrial DNA. *PLoS Biol*, 2(9), e273.

Ridge, P. G., Maxwell, T. J., Corcoran, C. D., Norton, M. C., Tschanz, J. T., O'Brien, E., ... & Kauwe, J. S. (2012). Mitochondrial genomic analysis of late

onset Alzheimer's disease reveals protective haplogroups H6A1A/H6A1B: the Cache County Study on Memory in Aging.

Ring, J. D., Sturk-Andreaggi, K., Alyse Peck, M., & Marshall, C. (2018). Bioinformatic removal of NUMT-associated variants in mitotiling next-generation sequencing data from whole blood samples. *Electrophoresis*, 39(21), 2785-2797.

Roostalu, U., Kutuev, I., Loogväli, E. L., Metspalu, E., Tambets, K., Reidla, M., ... & Villems, R. (2007). Origin and expansion of haplogroup H, the dominant human mitochondrial DNA lineage in West Eurasia: the Near Eastern and Caucasian perspective. *Molecular biology and evolution*, 24(2), 436-448.

Samuels, D. C., Boys, R. J., Henderson, D. A., & Chinnery, P. F. (2003). A compositional segmentation of the human mitochondrial genome is related to heterogeneities in the guanine mutation rate. *Nucleic acids research*, 31(20), 6043-6052

Satoh, M., & Kuroiwa, T. (1991). Organization of multiple nucleoids and DNA molecules in mitochondria of a human cell. *Experimental cell research*, 196(1), 137-140.

Sequeira, A., Rollins, B., Magnan, C., van Oven, M., Baldi, P., Myers, R. M., Barchas, J. D., Schatzberg, A. F., Watson, R. J., Akil, H., & Bunney, W. E. (2015). Mitochondrial mutations in subjects with psychiatric disorders. *PLoS one*, 10(5), e0127280.

Sequeira, A., Martin, M. V., Rollins, B., Moon, E. A., Bunney, W. E., Macciardi, F., ... & Vawter, M. P. (2012). Mitochondrial mutations and polymorphisms in psychiatric disorders. *Frontiers in genetics*, 3, 103.

Shadel, G. S., & Clayton, D. A. (1997). Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. *Annual review of biochemistry*, 66, 409-435.

Sharma, H., Singh, A., Sharma, C., Jain, S. K., & Singh, N. (2005). Mutations in the mitochondrial DNA D-loop region are frequent in cervical cancer. *Cancer cell international*, 5, 1-6.

Silva, S., Ontiveros, J. A., Nicolini, H., Carracci, G. M., & Raventós, H. (2006). Genetic Structure Analysis of Three Hispanic Populations from Costa Rica, Mexico, and the Southwestern United... *Human Biology*, 78(5), 551-563.

Sims, D., Sudbery, I., Illott, N. E., Heger, A., & Ponting, C. P. (2014). Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nature Reviews Genetics*, 15(2), 121-132.

Sinyov, V. V., Sazonova, M. A., Ryzhkova, A. I., Galitsyna, E. V., Melnichenko, A. A., Postnov, A. Y., ... & Sobenin, I. A. (2017). Potential use of buccal epithelium for genetic diagnosis of atherosclerosis using mtDNA mutations. *Vessel Plus*, 1, 145-150.

Sinyov, V., Ryzhkova, A. I., Sazonova, M. D., Khasanova, Z. B., Doroschuk, N. A., Nikitina, N. N., ... & Sazonova, M. A. (2019). Variability of heteroplasmy of some mitochondrial genome mutations in different human tissues. *Atherosclerosis*, 287, e164.

Smeitink, J. A. M. (2004). *Oxidative Phosphorylation in Health and Disease*. Springer Science & Business Media. 205 p.

Sobenin, I. A., Sazonova, M. A., Ivanova, M. M., Zhelankin, A. V., Myasoedova, V. A., Postnov, A. Y., Nurbaev S. D., Bobryshev Y. V., & Orekhov, A. N. (2012). Mutation C3256T of mitochondrial genome in white blood cells: novel genetic marker of atherosclerosis and coronary heart disease. *PLoS one*, 7(10), e46573.

Starikovskaya, Y. B., Sukernik, R. I., Schurr, T. G., Kogelnik, A. M., & Wallace, D. C. (1998). mtDNA diversity in Chukchi and Siberian Eskimos: implications for the genetic history of Ancient Beringia and the peopling of the New World. *The American Journal of Human Genetics*, 63(5), 1473-1491.

Starikovskaya, E. B., Sukernik, R. I., Derbeneva, O. A., Volodko, N. V., Ruiz-Pesini, E., Torroni, A., ... & Wallace, D. C. (2005). Mitochondrial DNA Diversity in Indigenous Populations of the Southern Extent of Siberia, and the Origins of Native American Haplogroups. *Annals of Human Genetics*, 69, 67-89.

Stewart, J. B., & Chinnery, P. F. (2015). The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 16(9), 530-542.

Sullivan, P. F., & Geschwind, D. H. (2019). Defining the genetic, genomic, cellular, and diagnostic architectures of psychiatric disorders. *Cell*, 177(1), 162-183.

Tackney, J. C., Potter, B. A., Raff, J., Powers, M., Watkins, W. S., Warner, D., ... & O'Rourke, D. H. (2015). Two contemporaneous mitogenomes from terminal Pleistocene

Tamminga, C. A., Ivleva, E. I., Keshavan, M. S., Pearlson, G. D., Clementz, B. A., Witte, B., ... & Sweeney, J. A. (2013). Clinical phenotypes of psychosis in the Bipolar-Schizophrenia Network on Intermediate Phenotypes (B-SNIP). *American Journal of psychiatry*, 170(11), 1263-1274. burials in eastern Beringia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(45), 13833-13838.

Telenti, A., Pierce, L. C., Biggs, W. H., Di Iulio, J., Wong, E. H., Fabani, M. M., ... & Venter, J. C. (2016). Deep sequencing of 10,000 human genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(42), 11901-11906.

Ueno, H., Nishigaki, Y., Kong, Q. P., Fuku, N., Kojima, S., Iwata, N., ... & Tanaka, M. (2009). Analysis of mitochondrial DNA variants in Japanese patients with schizophrenia. *Mitochondrion*, 9(6), 385-393.

Ventades, N. G., de-la-Rua, C., & Hervella, M. (2023). High frequency of mitochondrial haplogroups H and H2 in medieval individuals from the Cathedral of Santa María (Basque Country). Their contribution to the study of inflammatory arthropathies. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 47, 103782.

Wang, Z., Chen, H., Qin, M., Liu, C., Ma, Q., Chen, X., ... & Zhong, S. (2021). Associations of mitochondrial variants with lipidomic traits in a chinese cohort with coronary artery disease. *Frontiers in Genetics*, 12, 630359.

Wei, W., & Chinnery, P. F. (2020). Inheritance of mitochondrial DNA in humans: implications for rare and common diseases. *Journal of internal medicine*, 287(6), 634-644.

Wei, W., Tuna, S., Keogh, M. J., Smith, K. R., Aitman, T. J., Beales, P. L., ... & Chinnery, P. F. (2019). Germline selection shapes human mitochondrial DNA diversity. *Science*, 364(6442), eaau6520.

Zhao, X., Cui, L., Xiao, Y., Mao, Q., Aishanjiang, M., Kong, W., ... & Guan, M. X. (2019). Hypertension-associated mitochondrial DNA 4401A> G mutation caused the aberrant processing of tRNAMet, all 8 tRNAs and ND6 mRNA in the light-strand transcript. *Nucleic Acids Research*, 47(19), 10340-10356.

Zhu, L., Deng, J. W., Wang, P., Liu, J. H., & Wu, J. (2016). Mitochondrial damage induced by RNA binding proteins which are associated with neurodegenerative diseases. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 43(4), 374-382.

Ziada, A. S., Lu, M. Y., Ignas- Menzies, J., Paintsil, E., Li, M., Ogbuagu, O., ... & Macdonald, H. (2019). Mitochondrial DNA somatic mutation burden and heteroplasmy are associated with chronological age, smoking, and HIV infection. *Aging Cell*, 18(6), e13018.

