



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

“DISTRIBUCION DE LOS MARCADORES
GENETICOS HLA-DQ α LDLR, GYPA, HBGG, D7S8,
GC Y SECRETORES DEL SISTEMA ABO EN LA
POBLACION DEL VALLE DE MEXICO”

BO 1408/98
E. 2

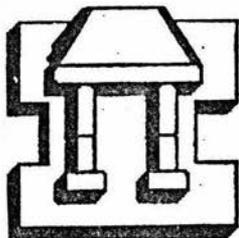
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

LUIS MANUEL NAVA HERNANDEZ



LOS REYES IZTACALA.

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Mi eterno agradecimiento a mis padres, la Señora Maria Luisa Hernández y el Sr. Simón Nava por su apoyo incondicional de siempre y que hoy se refleja en mi formación profesional.

Con todo mi amor a "Balby" y con dedicatoria especial a mi esposa por su ayuda y desvelo en los momentos mas duros de mi carrera.

A mis hermanos, Silvia, Yolanda, Gerardo, Graciela, "Guala", Carmen, Simón, Armando y Rigo quienes han aportado de diferentes maneras su granito de arena para poder realizar un estudio universitario y por su apoyo en la vida cotidiana.

A los Antropólogos físicos Jesus A. Luy y Luis Espinoza por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo que en conjunto ideamos y realizamos.

A Salvador Rodríguez Zaragoza e Irma Elena Dueñas, maestros, amigos, asesores, y directores de tesis, quien en todo momento ayudaron al diseño, realización, critica, análisis y apoyo en los momentos difíciles del desarrollo del presente trabajo. Mi agradecimiento sincero.

A los maestros Ramón y Elías por su apoyo en los momentos criticos y por sus sabios consejos.

Al Dr. Eduardo González Mata y Dr. Luis Miguel Rosas Barcenas por la confianza depositada desde mi ingreso a la Dirección de Servicios Periciales y quienes pueden estar seguros que jamás defraudaré.

A mi director de Tesis Químico. Alfonso Luna V. por su apoyo y dedicación en la dirección de la investigación.

A mis revisores por las críticas tan acertadas al presente trabajo.

A mis compañeros de trabajo: Arturo, Raúl, Erika, Gaby, Tere, Violeta y Rayo, por su apoyo continuo.

Por último un pequeño homenaje de agradecimiento a un gran maestro, hombre cuya ilusión era concluir la carrera de Biología y a quien debo la tendencia naturalista dentro de mi profesión. Juan Manuel Martínez Valero que como energía ,en algún lugar me escucha: " MISION CUMPLIDA ".

INDICE
CONTENIDO.

Indice	I
Resumen	II
Introducción	1
Breve historia de la población del Valle de México	3
Dinámica demográfica de la población	5
Antecedentes moleculares	7
Secuencias repetitivas del ADN	8
Polimorfismos del ADN	9
Marcadores genéticos	11
Sistema ABO, grupo secretor	13
Complejo mayor de histocompatibilidad	14
Receptores de lipoproteínas de baja densidad	17
Glicoforina "A"	18
Hemoglobinas Gammaglobinas	20
Locus D7S8 (cromosoma 7)	22
Componente de grupo específico	23
Locus D1S80	25
Justificación	26
Planteamiento del problema	28
Hipótesis	30
Objetivos	31
Metodología	32
Resultados	39
Discusión	59
Conclusión	69
Apéndice	71
Bibliografía	76

RESUMEN.

Se efectuó un muestreo en la población del Valle de México con la finalidad de observar la diversidad alélica que presentan los grupos humanos estudiados, en los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC incluidos en un sistema de prueba, así como un marcador VNTR-D1S80, incrementando el número de alelos tipificados en la población.

Los datos analizados mostraron que los alelos 3 y 4 del sistema HLA-DQ α son los más frecuentes en la población y en los grupos analizados en el Valle de México no se observaron diferencias que sugirieran heterogeneidad en la población para este locus. Sin embargo al comparar las poblaciones del sur de México con la población del Valle de México, los datos estadísticos arrojan diferencias notables, sucediendo lo mismo con poblaciones mundiales con las cuales estamos emparentados racialmente.

Se observaron diferencias significativas en los loci LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC denotando que los grupos representativos de las diferentes zonas que conforman el Valle de México, presentan gran heterogeneidad en este sistema de prueba y son considerados como subpoblaciones. Sucede lo mismo con la comparación de poblaciones mundiales en estos loci, sin embargo, se observa que en el locus D7S8 no hay diferencia con ningún grupo humano. Se presentan datos de frecuencia del locus D1S80 y son comparados sólo con poblaciones mundiales y cualitativamente con datos previos representativos del Distrito Federal. Se observan diferencias con las poblaciones mundiales y hay algunas discrepancias en cuanto a la direccionalidad y representación del muestreo.

Por último se hace un estudio acerca del estado secretor de antígenos de fluidos biológicos (saliva) del sistema A B O en la población del Valle de México, estableciendo una frecuencia mayor del gen secretor Se en la población analizada.

INTRODUCCION

La organización evolutiva de las especies, es el resultado de las interacciones entre los eventos genéticos y las propiedades de los ecosistemas. Dicha "Evolución", la cual ocurrió en un contexto de fluctuación de biomas, esta dada por dos procesos fundamentales, la adaptación y la especiación. (McNaughton 1979, Mettler 1978). Estos mecanismos han operado en el género humano diferenciandolo del resto de las especies animales y al mismo tiempo, debido a la enorme variabilidad politépica y polimórfica, han hecho que entre sí se observen notables diferencias. (Lisker 1981).

Estas diferencias intraespecie son observables sobre todo en la información genética, encontrando variaciones muy marcadas aún en miembros de una población geográficamente aislada. (Buettnner 1980)

En últimas fechas al estudio de las características y las variaciones en las frecuencias genéticas en grupos humanos se ha adicionado el empleo de marcadores genéticos para estudiar varios loci. Como consecuencia de ésto, un marcador puede demostrar que un locus en particular debe ser altamente polimórfico, posibilitando la identificación de individuos por sus características homocigotas y heterocigotas en el locus. (Reynolds et al 1991)

El término polimorfismo ha recibido un número especial de definiciones, el cual literalmente significa "muchas formas". Aprovechando estas características, un locus es polimórfico si se presentan dos o más alelos cada uno de los cuales puede presentarse con una frecuencia del 1% o más. Un sistema con dos alelos cuyas frecuencias sean del 99% y 1% respectivamente, puede considerarse como un locus polimórfico por definición. (McKonkey 1993).

La disponibilidad de marcadores altamente polimórficos, se vió incrementada a principios de los 80's con el descubrimiento y uso de los loci de números variables de repeticiones en tandem (VNTR por sus siglas en inglés). Estos loci, llamados hipervariables, presentan un gran número de alelos compuestos por distintas secuencias de pares de bases, distinguiendose ésto con enzimas de restricción y estimación de la longitud de los fragmentos, produciendose con ésto la enorme variación alélica. (Jeffreys et al. 1991, Nakamura et al. 1987, Li et al. 1992)

En México se han analizado las diferencias genéticas en los diversos grupos humanos para la identificación de alelos polimórficos contemporáneos, se han empleado la tipificación de grupos

sanguíneos, experimentación inmunológica, caracterización genética de los productos polimórficos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (HLA por sus siglas en inglés), tipificación directa de alelos de diversos cromosomas y en últimas fechas el estudio de marcadores de números variables en tandem conocidos como VNTR's (Saavedra 1995, Nakamura et al 1987a y b)

La información alélica y genotípica, así como la distribución y frecuencias de éstos marcadores, posibilitan una mejor interpretación de algunos fenómenos poblacionales, destacando entre otros el grado de consanguinidad entre los grupos, la migración y/o flujo génico.

BREVE HISTORIA DE LA POBLACION DEL VALLE DE MÉXICO.

La presencia del hombre en América no sólo se limitó a la región Norte del Continente, sino que desde Alaska tuvo que emigrar hasta el Sur, esto a través de muchas generaciones, lo que le permitió adecuarse a los diversos ambientes existentes a lo largo del Continente, suscitándose la explotación de diversos complejos ecológicos. Este proceso y la serie de adaptaciones menores que tuvieron lugar en tiempo y espacio, ha permitido observar la diversidad biológica y cultural de los grupos étnicos, además cabe remarcar que el poblamiento del nuevo continente no se debió a un solo grupo humano, sino que penetraron diferentes grupos y en diferentes tiempos (Comas 1969, Lorenzo 1981, William 1985).

El material cultural encontrado en los sitios de asentamiento (utensilios de caza, carbón, huesos de animales, herramientas, etc.) ha sido pieza fundamental para establecer el tiempo de ocupación humana, el cual se ha fechado utilizando marcadores radioactivos. Al respecto los estudios efectuados con Carbono 14 han indicado que el hombre apareció en América hace más de 30 000 años, unos 21 000 en México, 18 000 en Perú y 12 700 en la Patagonia (Lorenzo 1981).

La evidencia fósil marca un intervalo que separa al hombre antiguo de México, conocido por sus restos de Tepexpan de las herramientas de Iztapan del hombre formativo o preclásico el cual surgió aproximadamente en el año 10 000 a.C. (Matos 1982, Gibson 1991).

En Mesoamérica, el paso del nomadismo al sedentarismo tuvo como consecuencia el surgimiento de las primeras aldeas con lo cual se inició un desarrollo más complejo de las sociedades existentes, conduciendo a un aumento considerable en el número de pobladores. (Matos 1982).

Pedro Carrasco (1981) menciona: "La población y la cultura mesoamericanas fueron, por lo tanto, un antecedente y componente fundamental en el proceso de formación de la nación mexicana. Durante parte de la época colonial la población indígena fue la mayoría del país, principalmente de la masa campesina, y la cultura mesoamericana dejó su huella también en la cultura de mestizos y criollos", aun cuando en la segunda mitad del siglo XVI la mayoría de los pobladores en la Nueva España, era de origen negroide. Sin embargo, esto no demerita la importancia de la cultura mesoamericana.

Este pasaje tan breve hace mención de los periodos acontecidos en la población mexicana desde sus inicios, hasta lo que algunos autores consideran como época contemporánea.

Respecto al número demográfico en el Valle de México, existe en la actualidad gran controversia acerca del número real de habitantes antes del periodo cortesiano. Cook y Borah (1960) estiman que para el año 1519 había un número demográfico de aproximadamente 25'300,000 habitantes en el México central; otros autores consideran para el imperio mexicano una población de 6'000,000 y hay quienes hacen un cálculo mínimo de 12'000,000 de habitantes; algunos antropólogos han calculado cantidades menores entre los 1'500,000 y 5'000,000 de habitantes (Gibson 1991, Cook y Borah 1960, Nawotka 1982). Aguirre Beltrán (1989) toma como probable número 4'500,000 de habitantes, cantidad que se considera más real, al menos para el imperio Mexicano.

A partir de la Conquista y hasta el periodo Colonial, la población indígena vio diezmado su número, producto de las enfermedades que produjeron epidemias y la mortandad sufrida durante el proceso de sobreexplotación a la que se vieron sujetos los indígenas (Nawotka 1982, Aguirre Beltrán 1989). A pesar de la baja en el número de habitantes indígenas, su número representó la gran mayoría en comparación con los colonizadores europeos y esclavos africanos. Producto del mestizaje entre indígenas y negros son los individuos catalogados con una definición diferente (mulatos, zambos, etc.), lo que hace decrecer fenotípicamente el número de negros, pero a nivel genético el impacto es mayor que el reportado en los censos poblacionales.

Se menciona que para el siglo XVI de la población inmigrante el 71% era negra y 29% blanca, esto se mantuvo hasta el siguiente siglo. Sin embargo para el siglo XVIII el 65% lo constituía la población negra y el 35% la blanca. De esta manera se infiere que el número mayor de habitantes correspondía a los indígenas mestizos (concebidos en conjunto), seguido por los negros y finalmente los blancos (Aguirre Beltrán 1989).

En la Nueva España como en todas las colonias americanas, no sólo se consideraron los grupos mencionados anteriormente, pues debido a la condición social, se creó una serie de castas que describían las diferencias entre los extranjeros inmigrantes, los hijos de éstos nacidos en América, los indígenas y los productos de las mezclas entre todos los grupos.

Para el periodo postindependentista la Ciudad de México fue adquiriendo mayor fuerza económica y social, al igual que en otras ciudades, para este tiempo los grupos biológicos humanos estaban relativamente diferenciados, pues a pesar de la abolición del sistema de castas la discriminación racial siguió persistiendo. Sin embargo las poblaciones se constituyeron, se establecieron y sus flujos migratorios fueron muy reducidos y en ocasiones nulos. Fue hasta mediados del presente siglo, que se sucedieron grandes flujos migratorios del campo a la ciudad, como producto de la industrialización del país iniciada en el periodo Cardenista, los cuales representan diferentes momentos en la historia reciente de la Ciudad de México, los que se resumen a continuación.

DINAMICA DEMOGRAFICA DE LA POBLACION

Se tiene información acerca de los periodos de la dinámica demográfica que se han sucedido en la República Mexicana. El primer momento, de 1940 a 1970, se caracterizó por presentar tasas de natalidad a niveles muy altos y constantes lo mismo que la fecundidad, pero la mortalidad tuvo una disminución significativa.

A partir de la creación del Consejo Nacional de Población en 1974, se inicia otro periodo en el cual se puede observar un descenso en la tasa de natalidad de 44.2, en 1970 a 34.4 en 1980 (CONAPO 1984). De igual forma disminuye la tasa de fecundidad de 6.6 en 1970 a 4.4 en 1980 (CONAPO 1984). Se observó un leve descenso poco significativo en la tasa de crecimiento anual de 3.4 en 1970 a 3.3 en 1980 (CONAPO 1982).

Estos datos reflejan la demografía nacional en promedio, pues la población indígena no se comporta de la misma manera, esto es, la población indígena experimenta un incremento mayor o menor en comparación con la población total.

Los Estados con mayores índices de población indígena, para 1980, son Oaxaca, Veracruz, Chiapas, Yucatán y Puebla, en orden de importancia, y los Estados con mayor flujo migratorio de este tipo de población son Hidalgo, Oaxaca, Yucatán y Puebla.

La población amerindia que aporta mayor índice al flujo migratorio, está conformada por hombres y mujeres en edad productiva y reproductiva.

En las migraciones se pone de manifiesto, además de los movimientos hacia los grandes centros urbanos, que existen flujos migratorios temporales, siendo los principales focos de atracción el D.F, Guadalajara, Monterrey, las capitales de los Estados y las ciudades fronterizas del Norte.

ANTECEDENTES MOLECULARES

La transformación que se suscitó en el campo de la reproducción de los seres vivos y sus mecanismos de herencia de generación en generación, sentó las bases de lo que en la actualidad se conoce como la ciencia de la Genética Moderna (Guizar-Vazquez 1994).

En realidad la ciencia de la Genética Moderna dió principio con los trabajos de Gregorio Mendel; monje agustino quien en 1854 propone un trabajo cuyo objetivo era comprender las leyes de la hibridación de variedades vegetales. Dicho de otra forma, se pretendió determinar los principios que controlaban la transmisión de los caracteres hereditarios (Karp 1984, Blanc 1986).

De manera general, se concluyó que las características de los organismos se encuentran controladas por factores o unidades de la herencia que en la actualidad conocemos como genes. Estos caracteres están determinados a su vez por la presencia de dos factores independientes, derivados uno de cada padre. Se presentan características dominantes y recesivas, además de que cada uno de los gametos producidos tenía sólo uno de los factores para cada carácter. De ésta forma los organismos se forman por la unión de dos gametos de forma que cada individuo está representado genéticamente por la contribución igual proveniente de cada uno de los padres (Karp 1984, Blanc 1986).

Aún cuando estos descubrimientos realizados en organismos con características y/o variables fácilmente controlables significaron un notable avance en su tiempo, no fue sino hasta finales del siglo XIX cuando se comenzó a postular que eran los cromosomas las estructuras que controlaban las influencias hereditarias (Dobzhansky y Duun 1986, Karp 1984, Blanc 1986).

En la actualidad estas estructuras cromosómicas pueden ser diferenciadas y clasificadas de acuerdo a su longitud, posición del centrómero y características de tinción. Es así que podemos observar cromosomas metacéntricos, acrocéntrico, submetacéntricos cuando el centrómero se ubica en diferentes puntos a lo largo del cromosoma (Levitan 1988)

En un cromosoma, los brazos pequeños a partir del centrómero son denominados "p" y los brazos largos son denominados "q" (Levitan 1988, Mckonkey 1993).

Dentro de cada brazo del cromosoma se han señalado números para denominar áreas cromosómicas llamadas **regiones** y otro número se ha denominado para las **bandas** dentro de

las regiones. Una banda es una parte claramente distinguible en su parte adyacente y estas se ubican en varias regiones a lo largo del cromosoma y las regiones se limitan por marcas específicas (landmarks). Estas se definen por tener características consistentes y morfológicas distintas en la identificación de cada estructura cromosómica. Las marcas de las regiones (landmarks) incluyen las partes distales de los brazos, los centrómeros y ciertas bandas. Las bandas y regiones se numeran del centrómero hacia afuera. De esta manera una región se define como una área del cromosoma situado entre dos marcas (landmarks) adyacentes (Levitan 1988, Mckonkey 1993).

La importancia de esta clasificación ha permitido identificar sitios cromosómicos de traslocación o afección de un cromosoma, correlacionandolos con anomalías o deleciones de alguna región en el genoma (Karp 1984, levitan 1988, Mckonkey 1993).

El número de genes (unidades de herencia) y cromosomas presentes en un juego haploide de un gameto, es definido como **genoma**. Un factor importante en la evolución del gene es la duplicación de estos mismos. Las duplicaciones son repeticiones de las regiones del cromosoma, en general no son letales a menos que sean muy largas o se acerquen a la trisomía (Watson 1970, Levitan 1988).

El genoma, sin embargo, presenta secuencias repetidas en muchas de sus fracciones. Las secuencias repetidas en el Acido Desoxirribonucleico (ADN) se han puesto de manifiesto analizando las tasas de reasociación en pequeños fragmentos del ADN empleando la complementariedad de las hebras sencillas del ADN con su homólogo para formar la doble cadena. Los factores que intervienen en la tasa de renaturalización incluyen la temperatura, fuerza iónica de la solución, periodo de incubación, tamaño de las moléculas que interactúan y la concentración de cada secuencia en la mezcla (Karp 1984, Mckonkey 1993, Watson 1970).

El efecto de la concentración de la secuencia del ADN en la tasa de renaturalización, es pieza clave en la identificación de secuencias repetitivas (Mckonkey 1993).

SECUENCIAS REPETITIVAS DEL ADN.

De acuerdo al patrón de renaturalización del ADN se distinguen secuencias de dos tipos: las moderadamente repetitivas y las altamente repetitivas. Las primeras varían de 20 al 80% del

total del ADN e incluyen secuencias que se repiten en grado variable dentro del genoma, cuyas fracciones consisten en un número variable de secuencias íntimamente relacionadas.

Las secuencias de ADN altamente repetitivas se reasocian muy rápido. La longitud de éstas secuencias varía desde dos hasta varios miles de nucleótidos. Las secuencias más cortas se presentan de forma determinada repitiéndose sin interrupción. Esta secuencia dispuesta de extremo a extremo recibe el nombre *in Tandem* (Karp 1984, Mckonkey 1993, Vassart et al 1987, Cohen 1990).

POLIMORFISMOS DEL ADN

Dentro del ADN existen secuencias de función conocida (exones) que codifican para la secuencia de aminoácidos, sin embargo, existen secuencias cuya función no ha sido establecida (intrones). Tal ADN “no codificante” actúa como secuencia espaciadora entre regiones codificantes y constituye aproximadamente el 90 % del genoma humano, teniendo poca capacidad en la traducción o transcripción. Estas secuencias constituidas por fragmentos repetitivos son altamente polimórficas (Cohen 1990, Kazazian 1989, Nakamura et al 1987).

La identificación de los individuos a nivel molecular se basa en los análisis de fragmentos de restricción de longitud polimórfica. Estos fragmentos presentan una longitud variable debido a una mutación en la secuencia de las bases, la cual es reconocida por enzimas de restricción, estos son llamados polimorfismos de secuencia (Cohen 1990, Kazazian 1989, Nakamura et al 1987a y b).

Polimorfismo de longitud, puede presentarse en repeticiones múltiples de segmentos de corta longitud de ADN. La secuencia por inserción o delección de un número determinado de pares de bases es denominado polimorfismo de longitud o delección-inserción. En cada uno de los segmentos repetidos la secuencia es similar, pero el segmento de longitud varía (Kazazian 1989, Nakamura et al 1987a)

A manera de conclusión los polimorfismos del ADN pueden ser divididos en dos categorías: polimorfismos de secuencia como ocurre dentro de los genes del complejo HLA y polimorfismos de longitud, ejemplificados por los números variables de secuencias repetitivas en tandem (Variable Number Tandem Repeat, VNTR) . En ambos casos puede ser usado el análisis con fragmentos de restricción de longitud polimórfica (Restriction Fragment Length

Polymorphism, RFLP). Sin embargo, hay muchas regiones polimórficas del ADN humano que pueden ser analizados usando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Nakamura et al 1987).

La detección de las secuencias polimórficas se realizan usando productos de amplificación y/o procedimientos de secuenciación (Cohen 1990, Beroldingen y Blake 1989).

Los polimorfismos de secuencia pueden ser detectados de manera simple usando las pruebas con Oligonucleótidos Alelo-Específicos (ASO, en Inglés) en las cuales estas secuencias son hibridadas en sondas inmovilizadas en membranas de nylon y usadas para capturar los productos de PCR complementarios (Nakamura et al 1987b, Beroldingen y Blake 1989)

Los polimorfismos de longitud o la variación de longitud entre alelos de un locus VNTR puede ser analizada mediante la fragmentación o corrimiento de los productos de PCR en un gel analítico. Estos productos son hechos usando "primers" (secuencias de oligonucleótidos específicos) que flanquean la región repetitiva del locus. La especificidad es tan grande que se generan productos demasiado específicos y el tamaño de éstos mismos productos se reflejan en el número de repeticiones, denominados *in tandem*, contenidos en cada alelo (Nakamura et al 1987a y b, Beroldingen y Blake 1989, Jeffreys et al 1991).

Los primeros análisis con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) acerca de los polimorfismos del ADN fueron reportados por Mullis y Faloona (1985) y por Kogan y col. (1987) citados en Nakamura y col (1987a y b), abarcando campos de diagnóstico de hemofilia A, extendiéndose posteriormente a la diagnóstico prenatal de fibrósis quística y la enfermedad de Huntington.

Jeffreys (1985) como lo cita Nakamura y col (1987a y b) demostró con un juego de repeticiones en tandem, que el patrón de los fragmentos de restricción revelados por la suma de los loci de VNTR contenía tales secuencias dispersas a través del genoma, constituyendo una huella digital única para cada individuo, pudiendo ser útil en Medicina, identificación forense y otras aplicaciones .

La variación en la secuencia del ADN del genoma se debe aparentemente a un cambio en los pares de bases (bp) que crean o destruyen un sitio o corte para una enzima de restricción específica causando un cambio en la longitud en la secuencia del fragmento de ADN.

Un sistema de marcaje basado en éstos polimorfismos puede ser altamente informativo en análisis cuando se exhiben alelos múltiples.

MARCADORES GENETICOS.

Dentro de los grupos humanos hay ciertos tipos de moléculas bioquímicas que participan en gran número de reacciones metabólicas. Estas sustancias llamadas también marcadores genéticos, son moléculas que están diseñadas para permanecer invariables durante todo el ciclo de vida de un individuo. Debido a la combinación de los genes paternos y maternos en la conformación del individuo, estas moléculas sólo podrán variar en diferencias químicas menores, debido a mutaciones, recombinación, entrecruzamiento o algunos otros factores genéticos, pero su función será siempre la misma. Thompson y Thompson (1985) han descrito 4 condiciones para que un marcador génico sea considerado como tal:

- a) Debe ser un patrón o modelo sencillo de herencia. La mayoría de las variantes de los grupos sanguíneos y de las proteínas plasmáticas se hallan determinadas por genes codominantes, es decir, ambos alelos de los heterocigotos se expresan fenotípicamente, lo que permite inferir el genotipo directamente del fenotipo.
- b) Una clasificación exacta de los diferentes fenotipos debe poder verificarse según técnicas en las cuales cabe confiar.
- c) Una frecuencia relativamente alta de cada uno de los alelos comunes en el locus. Si el más raro de un par de alelos se encuentra en sólo un pequeño porcentaje de una población, probablemente no será muy útil para estudios familiares y análisis de unión. Lo ideal es la frecuencia similar de ambos alelos, situación que proporciona las mejores condiciones para observar una segregación en el locus.
- d) La ausencia de efectos sobre la expresión del carácter de los factores ambientales de la edad o de la interacción con otros genes .

Actualmente se reconocen diversos marcadores genéticos los cuales se pueden encontrar en eritrocitos, en plasma o suero sanguíneo (extraeritrocitarios), en linfocitos, algunos llamados misceláneos; también han sido utilizados los cromosomas así como en errores congénitos del metabolismo (Lisker 1981, Thompson y Thompson 1985).

La mayoría de las investigaciones sobre marcadores genéticos se ha realizado en sangre y suero, sin embargo la presencia de marcadores no es exclusiva de los elementos encontrados en sangre, como ya antes se hizo mención, pues su presencia puede detectarse en algunos otros fluidos biológicos, a considerar el semen, saliva, células epiteliales, cabello, secreciones vaginales, leche, órganos y aún en hueso. Por ejemplo el antígeno específico prostático llamado p30 es una proteína encontrada en las células epiteliales de los ductos prostáticos en los humanos y en primates. Esta sustancia generalmente es indicativa de presencia de semen, específicamente de semen humano (Buro Federal de Investigación 1989, Garg 1983).

De la misma manera, se puede detectar la presencia de elementos como la enzima llamada amilasa en saliva, la urea en la orina y elementos de secreción en diferentes fluidos, al igual que la presencia de antígenos del sistema A B O en estos mismos fluidos (Buro Federal de Investigación 1989).

Estos datos sobre la estructura de los sistemas genéticos, como en su tiempo fue el caso del sistema ABO, pueden ser comparados con los datos obtenidos acerca de las frecuencias genéticas de los mismos sistemas genéticos analizados en diferentes grupos humanos, en los cuales se observa que la mezcla genica se presenta con los mismos patrones ancestrales, incluyendo el aporte mayoritario, el cual lo constituyen los grupos autóctonos (Garg 1983, Lisker et al 1990, Helmuth et al 1990, Reynolds y Sensabaugh 1991).

De esta forma con la tecnología de secuenciación y clonación del DNA se ha revelado nuestra herencia genética común y se ha detectado la variación entre individuos hasta su nivel más fundamental: la variación en las secuencias de las bases del Acido Desoxirribonucleico (Erlich 1989, Frederick 1989). Esta descripción completa de la anatomía del genoma humano se empezó a desarrollar por medio del mapeo genético un gran número de genes causantes de enfermedades (Lisker 1981, Reynolds y Sensabaugh 1991).

El desarrollo de la tecnología ha favorecido grandemente el avance en la investigación genética, en este campo el empleo de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), se ha utilizado para amplificar fragmentos específicos de ADN de regiones altamente Polimórficas, con lo cual se han desarrollado diversos sistemas genéticos, destacando en pruebas de identificación forense los sistemas HLA-DQ α en el cual se determinan los 6 alelos del dominio α en esta región del cromosoma 6; el sistema Polymarker incluidos 5 marcadores independientes de los

cromosomas 4, 11, 19 y 7; el sistema D1S80 con la identificación de alelos del cromosoma 1 y recientemente el empleo en identificación, los VNTR's el cual comprende varios sistemas génicos y varios cromosomas (Cohen 1990, Nakamura et al 1987).

SISTEMA A B O (GRUPO SECRETOR)

Los antígenos del sistema A B O están presentes en el plasma sanguíneo de cada individuo.

Los antígenos de los grupos sanguíneos también están presentes en la superficie de las otras células del organismo. esto explica su importancia en los trasplantes de órganos, como se demostró por primera vez en 1960 por Ceppellini . Los antígenos de los grupos sanguíneos son moléculas resultantes del encadenamiento de varios azúcares llamados oligosacáridos, los que se construyen por adiciones sucesivas de una unidad de azúcar que se fijan al azúcar precedente por medio de un enlace llamado glucosídico. Estos pueden formar estructuras muy complejas, susceptibles de ser reconocidas por anticuerpos específicos.(Engelhard 1994)

La mayoría de los individuos son capaces de segregar los antígenos de los grupos sanguíneos, en contraste con esta estructura glicolipídica que presentan las sustancias ABH presentes en las membranas eritrocitarias, los fluidos biológicos como el semen, saliva y aún material orgánico (pared estomacal, bilis, músculo, etc.) presentan estas sustancias ABH cuya naturaleza glicoprotéica las hace solubles en agua (Buro Federal de Investigación 1989, Engelhard 1994).

Los componentes protéicos están conformados principalmente por la serina y la prolina, las que conforman el 50% del total de los aminoácidos presentes. En los fluidos biológicos, la presencia de estas sustancias, determinan el grupo sanguíneo de los individuos (Buro Federal de Investigación 1989, Garg 1983).

De acuerdo con ésto, se pueden encontrar las tres diferentes sustancias ABH en fluidos biológicos no relacionados con sangre, si es el caso que la persona sea secretora de estos antígenos, encontrándose individuos secretores de sustancias A, B y O en cada caso:

La presencia de estos antígenos en los fluidos biológicos y tejidos, es una característica inherente y ésta controlada por un par de genes: el gen *Se* ejerce una función secretora, siendo dominante sobre el gen *se*. Así que las personas con el genotipo *SeSe* o *Sese* son secretoras de

los antígenos en los fluidos y las personas que tienen el genotipo *se/se* no secretan estos antígenos (Engelhard 1994, Harening D. 1989).

Como característica, las personas que presentan estas sustancias son llamadas "secretoras" y las personas que no las presentan, son llamadas "no secretoras".

La mayoría de los individuos son capaces de segregar los antígenos de los grupos sanguíneos, alrededor del 75% excretan los antígenos A, B y H en la leche, la saliva, el jugo gástrico, el semen, etc. En los sujetos secretores el gen *Se* dominante es la forma activa en los epitelios glandulares, donde estimularía la producción de antígeno H por el tejido, lo que sería incapaz de hacer la forma *se* recesiva, el estado secretor también modifica la producción de antígeno H en otros tejidos (Buro Federal de Investigación 1989, Ashton y Braden 1961).

En la mayoría de las poblaciones se determina la distribución del sistema ABO, pero aún cuando se han reportado las frecuencias genéticas de grupos urbanos mestizados, existe muy poca información acerca del status secretor de la población mexicana. Con estos estudios se puede calcular el grado de mezcla génica que presenta esta población. (Lisker 1981, Buro Federal de Investigación 1989).

COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

La definición de los genes y antígenos HLA se originan de los estudios clásicos en Hematología, siendo Dauset (1958) y Trowsdale (1958) quienes ponen de manifiesto la presencia de este sistema.

Los genes estructurales del complejo HLA (cerca de 50 genes) están controlados por toda una región genética, localizada en el brazo corto del cromosoma número 6. Esta región genética, que ocupa alrededor de cuatro millones de pares de bases (4000 kb) presenta funciones variables, las que se resumen básicamente en la codificación para la síntesis de antígenos (HLA-A, B, C) antígenos de diferenciación (HLA-E, F, G, H, X), genes con funciones desconocidas (Gorodezky 1992, Rudert y Trucco 1992, Brown et al 1993, Gorodezky 1994).

Estas características que presentan los genes del sistema HLA (genes estrechamente relacionados) ha permitido agruparlos en tres regiones principales denominados clase I, II y III.

La región clase II llamada anteriormente región "D", esta compuesta por una familia de genes funcionales: DR, DQ y DP los cuales codifican para proteínas membranales heterodiméricas, mostrando dos dominios extracelulares, una porción transmembranal y una pequeña cola citoplasmática para cada una de las dos cadenas: la más pesada es llamada α (33 KD) y la más ligera denominada β (28 KD). (Rudert y Trucco 1992, Lawlor et al 1991. Brown et al 1993, Arguello et al 1992, Klein et al 1993, Lawlor et al 1991) . Estos dominios son muy polimórficos y los residuos que generan los polimorfismos se ubican en regiones discretas hipervariables (Rudert y Trucco 1992, Huguet et al 1993, Lawlor 1991).

Como se ve, los genes HLA clase II son polimórficos en las poblaciones humanas. Las moléculas DQ tienen cierto grado de variabilidad destacando este en el dominio α . (Huguet et al 1993, Klein et al 1993, Lawlor 1991).

El uso de técnicas moleculares, empleando el análisis de fragmentos polimórficos de longitud variable (RFLP, por sus siglas en inglés) o la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) o aún la secuenciación directa de genes HLA, han demostrado la presencia de micropolimorfismo hasta de un par de bases entre un alelo y otro (Lawlor 1991, Gorodezky et al 1994). Estos micropolimorfismos, han hecho posible el avance en la tipificación y/o nomenclatura del sistema HLA. Concretamente para el locus HLA-DQ alfa, el sistema de nomenclatura de la Organización Mundial de Salud y el comité de Nomenclatura del HLA, lo han denominado como DQA1 (Bodmer et al 1992). La importancia de éste locus esta basada en los estudios poblacionales derivados de él y de sus aplicaciones en las Ciencias Biomédicas.

Basados en estudios de secuenciación en ésta región polimórfica, se han identificado ocho alelos DQ α (Helmuth et al 1990, Reynolds y Sensabaugh 1991, Klein et al 1993, Gyllensten y Erlich 1989). Estos alelos se han dividido en 4 tipos principales: A1, A2, A3 y A4. Con A1 y A4 se han reconocido además algunos subtipos: A1.1, A1.2, A1.3, A4.1, A4.2 y A4.3. Hay nueve posiciones ocupadas por diferentes "sondas" que determinan los alelos. Los cuatro tipos principales, A1, A2, A3 y A4 se distinguen por cuatro "sondas", sin embargo, en éstas no se pueden distinguir los subtipos A1 de los A4. Los tipos A1, A2 y A3 se diferencian por "sondas" adicionales. Una prueba es específica para los alelos A1.1 y otra para los alelos A1.3. La tercera prueba es complementaria para determinar los tipos A1.2, A1.3 y A4. La cuarta prueba, puede determinar todos los tipos DQ α , excepto el A1.3. Esta "sonda" se requiere tan sólo para distinguir el genotipo 1.2, 1.3 del genotipo 1.3, 1.3, ya que los demás genotipos se distinguen sin

tomar en cuenta ésta "sonda" Hay una última "sonda", en el cual los productos de amplificación de todos los alelos se fijan, indicándonos de igual forma una adecuada amplificación de todos los alelos DQ α y también de errores en la hibridación. De esta forma los veintinueve genotipos que se pueden determinar con éste sistema, se identifican por la intensidad y patrón de los puntos azules en las bandas de nylon (Erlich et al 1989, Gyllensten y Erlich 1989, Cetus Corp. 1990).

Estos sistemas comerciales de identificación para éste locus, están diseñados para diferenciar tan solo seis de los ocho alelos: A1.1, A1.2, A1.3, A2 y A3; los subtipos A4.1, A4.2 y A4.3 se agrupan como A4. Estos seis alelos se han identificado con el Kit comercial HLA-DQ α , lográndose determinar veintinueve genotipos (Saiki et al 1989).

Hasta 1990 con este método de identificación, basado en este marcador genético comercial, se habían clasificado cerca de 1400 individuos para el locus DQ α , usando este método en 11 poblaciones caucásicas, sin embargo su empleo en diferentes poblaciones se ha extendido. (Klein et al 1993, Comey et al 1993, Ambach et al 1996, Belich et al 1992, Carballo et al 1992). En Latinoamérica los estudios pioneros, con este sistema de prueba, son realizados en poblaciones con un alto porcentaje de mestizaje, observándose la presencia de la mayoría de los genotipos descritos para este sistema. Como se puede ver, la distribución de los alelos A2, A3 y A4 del HLA-DQ α varía notablemente en estas poblaciones y aún de un grupo a otro (Carballo et al 1992, Budowle et al 1995).

En México, aún cuando la frecuencia de estos alelos guarda una relación muy estrecha con la población latinoamericana, difiere en tanto que la población mestiza de México, presenta los alelos A3 y A4 con mayor frecuencia (Gorodezky et al 1994).

Budowle et al (1995) muestran diferencias respecto a estas mismas frecuencias alélicas en estos grupos llamados mestizos y mexicanos. La pregunta a responder es si estas muestras fueron tomadas al azar o representan a un sector en particular.

En la actualidad, los estudios en la estructura genética de la población mexicana analizan la frecuencia de los antígenos del sistema HLA y hacen mención en primera instancia que racial y culturalmente, la población analizada presenta una mezcla indígena y europea, no refiriendo si esta mezcla biológico-cultural representa a un sector social en particular, tan sólo se habla de la frecuencia y composición de la población mestiza estudiada (Gorodezky et al 1994, Budowle et al 1995, Helmuth et al 1990)

RECEPTORES DE LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD

Las lipoproteínas de baja densidad o lipoproteínas β , están presentes en dos variantes genéticas la Ag y Lp. La Ag, y han sido empleadas en estudios de población, ya que presentan 2 alelos Ag^x Ag^y , debido a que son altamente segregados y sus frecuencias varían de una población a otra ($\Delta g^x=0,23$ en la población sueca y 0,73 en la japonesa). También esta lipoproteína se encuentra asociada a un trastorno autosómico, al que se denomina hiperbetalipoproteinemia, en el cual los homocigotos desarrollan tumores de lípidos e insuficiencia coronaria lo que puede provocar la muerte en edades muy tempranas (Thompson y Thompson 1983, Shaw et al 1987).

Empleando el análisis de unión de multipuntos descritos por Shaw y col. (1987) se ha sugerido el orden de estos marcadores, ubicando al gen de los receptores de lipoproteínas de baja densidad como sigue:

pter--LRLD--C3--INSR--(D19S7,cen)--D19S9--DM--APOC2--D19S8--APOE--qter

Por medio de la secuenciación de aminoácidos se presume que el receptor puede estar dividido en estructuras dominantes o dominios .

El primer dominio está constituido de NH_2 terminal con 322 aminoácidos de los cuales el 15% son de Cistina (47 residuos) y sus secuencias aminoácídicas son altamente repetitivas (40 residuos repetidos 8 veces).

Este dominio presenta dos uniones para el receptor de lipoproteínas: apoproteína B y E, las que contienen carga positiva de residuos de Lisina y Arginina, si estos son modificados el receptor es dañado para su función. Los más importantes residuos para la unión son Arg 142, Arg 145 y Lis 146.

El segundo dominio consiste en aproximadamente 350 restos de aminoácidos y al igual que el primero, también, contiene secuencias repetitivas, las cuales consisten de 5 repeticiones de 50 aminoácidos aproximadamente por cada uno.

El tercero esta formado de 48 aminoacidos, de los cuales 18 son Serinas o residuos de Treonina. Este dominio se encuentra localizado inmediatamente fuera de la región de entrada de la membrana.

El cuarto es una secuenciación de 22 aminoacidos hidrofóbicos y se encuentra localizado más allá de la región de entrada de la membrana de la zona receptora.

Por último el quinto dominio consiste de 50 aminoacidos para el COOH terminal de la proteína que esta localizada sobre el sitio citoplasmático de la membrana. Su secuencia es altamente homogénea (Lehninger 1988, Blanco 1988, DeMeester et al 1995, Yamamoto et al 1984, Vohl et al 1985).

Así como las lipoproteínas, los receptores también se encuentran asociados a trastornos, de los cuales se han detectado numerosas mutaciones, las que provocan Hipercolesterolemia familiar, así lo demuestra un estudio realizado en una población canadiense de ascendencia francesa. En esta población se detectaron 5 mutaciones puntuales responsables de esta enfermedad, 2 grandes deleciones y 3 mutaciones erróneas. Además, se detectó que la frecuencia de la Hipercolesterolemia familiar es más alta en la población canadiense en comparación con la frecuencia para las poblaciones del resto del mundo (1:154 en canadienses y 1:500 en el resto del mundo) (Vohl et al 1985, Cetus Corp. 1990).

Con el desarrollo de las técnicas de Secuencia Específica de Oligonucleótidos y RCP, se han identificado los alelos A y B de los Receptores de Lipoproteínas de Baja Densidad, mostrándose las frecuencias en poblaciones europeas, africanas, mongólicas e hispánicas. La determinación de estos alelos sigue el proceso de Dot-blot semejante al empleado en las determinaciones alélicas del sistema HLA-DQ α (Cetus Corp. 1990).

GLICOFORINA "A"

Existen dos proteínas integrales importantes del eritrocito, la banda 3 y la PAS-1 o glicoforina y otras proteínas menores cuya estructura y función no esta todavía bien definidas.. La banda 3 y la glicoforina son proteínas transmembranales; es decir, son aquellas que se extienden a lo ancho de la doble capa y como tales estan diseñadas de manera que pueden transportar sustancias o información de un lado a otro de la membrana.(Karp 1984, Mckonkey 1993). Estas

proteínas transmembranales tienen un pequeño dominio C-terminal por el lado citoplasmático de la membrana plasmática, una breve secuencia de aminoácidos hidrofóbicos presentes en donde los polipéptidos abarcan la membrana y una porción N-terminal más larga en la molécula proyectándose hacia el espacio extracelular.(Mckonkey 1993)

De la glicoproteína, la PAS-1 o glicoforina se conocen algunas propiedades, siendo la primera cuya secuencia de aminoácidos se conoce.(Mconkey 1993, Siebert y Fokuda 1987). La determinación de las secuencias de los 131 aminoácidos que forman la cadena sencilla del polipéptido de la glicoforina ha revelado aspectos muy importantes de su estructura anfipática.

De todas las proteínas estudiadas, la glicoforina es de las más simples contenidas en la membrana. Los sistemas ABO y el MN se originaron de los estudios de esta proteína ya que los carbohidratos de la glicoforina determinan los antígenos de los grupos sanguíneos.(Mconkey 1993, Buro Federal de Investigación 1989)

Se han categorizado tres tipos importantes de glicoforinas: glicoforina "A", glicoforina "B" y glicoforina "C". Estas constituyen la principales sialoglicoproteínas de las membranas eritrocíticas de esta familia de glicoproteínas.(Siebert y Fokuda 1987)

La secuencia de los aminoácidos muestran una gran homología entre las glicoforinas "A" y "B", particularmente en su región NH₂terminal.

Al comparar las secuencias de aminoácidos y los nucleótidos de las glicoforinas "A" y "B" puede verse que casi son idénticos tanto en nucleótidos como en aminoácidos en el péptido líder así como en el residuo terminal amino 26 codificados para los DNA's complementarios de glicoforina "A" y "B". La única diferencia en la región iniciadora amino es el residuo -7 en el cual un cambio sencillo presenta alanina en glicoforina "A" y un ácido glutámico en la glicoforina "B". Los polimorfismos mostrados por el DNA complementario de glicoforina "A" en las regiones 1 a 5 en la secuencia de aminoácidos da lugar a los antígenos de grupo sanguíneo M y N, del cual la clona pHGpA-3 es la clona de glicoforina "A" que codifica el antígeno de grupo "M". (Mckonkey 1993, Siebert y Fokuda 1987)

La compleja organización en los genes de las glicoforinas suponen un paso evolutivo mediante una duplicación de uno de estos genes, seguido por su divergencia, sugiriendo con esto un tipo más complejo de evolución del gene .(Mckonkey 1993, Siebert y Fokuda 1987)

De acuerdo con estas últimas consideraciones, la glicoforina "A" se ha empleado para poner en evidencia la gran cantidad de aberraciones cromosómicas observadas en personas con

enfermedades asociadas con este gen, siendo un ejemplo el ensayo con glicoforina "A" para las mutaciones que se acumulan *in vivo* en líneas celulares humanas para estudiar muestras sanguíneas poblacionales con síndrome de Bloom's, en el cual se incluyen los grupos MN. Este ensayo midió la frecuencia de variables eritrocíticas que carecen de expresión de una forma alélica de glicoforina "A" o al menos no puede ser evaluada como son los tipos -M- o MN o tipo N o NN, presumiblemente debido a los efectos mutacionales o recombinantes en las células precursoras eritrocíticas. Estas frecuencias de variantes contemplan la pérdida parcial del fenotipo y algunas con fenotipo homocigoto y otros con fenotipo hemicigoto. Esta elevada generación de homocigocidad y hemicigocidad funcional altera no tan sólo el locus de glicoforina "A", presumiblemente una región del genoma, poniendo en juego una alta incidencia de enfermedades que han sido asociadas a éste locus (Siebert y Fokuda 1987, Borot et al 1988, Langlois et al 1988).

Los entrecruzamientos (fold) en glicoforina "A", marcan la pauta de variantes recombinantes que pueden llegar a producir alteraciones como en las observadas en la anemia de Fanconi, síndrome de Bloom, y cáncer respectivamente. La incidencia de un cáncer esporádico puede servir para identificar a un sujeto de una población normal con un fenotipo intermedio con respecto a una línea de referencia de los niveles de mutación somática y de segregación (Bigbee y Grant 1991, Grant y Bigbee 1991).

HEMOGLOBINAS GAMMAGLOBINAS (HBGG)

En la localización cromosómica de los genes de la globina de humanos se han utilizado ensayos de hibridación molecular tan específicos y sensibles que se pueden determinar las secuencias de los genes intimamente ligados a este locus. Se destacan entre los genes ligados a este locus, los genes α -globina, β -globina, δ -globina y γ -globina de los cuales se diferencian los γ^A y γ^G (Bernards et al 1979, Studentcki et al 1985).

Los estudios de caracterización en familias con anomalías en hemoglobinas, y los trabajos realizados con células híbridas de ratón han permitido llegar a la conclusión de que están más ligados los genes de β -globina y γ -globina, los cuales presentan una semejanza notable. Estos mismos estudios han permitido establecer su ubicación cromosómica, concluyendo con base en

estos datos, que la estructura genética de éstos genes. α , β , δ y γ -globina residen en el cromosoma numero 11 (Bernards et al 1979, Studencki et al 1985, Deisseroth et al 1978).

Los loci que especifican las secuencias de aminoácidos de las cadenas de globinas de las hemoglobinas de mamíferos se presentan en condiciones de pares no alélicos duplicados y en la mayoría de los grupos humanos se presenta un par de genes α , dos genes adultos tipo δ y β así como dos genes fetales tipo β , $G\gamma$ y $A\gamma$ (Deisseroth et al 1978, Slightom et al 1980).

Es sabido que se presentan al menos dos genes de γ -globina no alélicos, uno de los cuales codifica para una cadena de γ -globina con glicina y el otro con alanina en las posiciones 136 para $A\gamma$ y 146 para $G\gamma$ en la cadena de aminoácidos (Bernards et al 1979, Slightom et al 1980).

Aún cuando se tuvo evidencia molecular de la presencia de dos genes γ -globina por genoma haploide, se sugirió la presencia de tres o cuatro genes de γ -globina por genoma haploide (Bernards et al 1979, Deisseroth et al 1978, Slightom et al 1980, Little et al 1979).

Se ha sugerido de igual forma, que un tercer gene γ -globina se puede presentar y éste es llamado $T\gamma$ la cual codifica para la HbF_{sardinia} con una sustitución de treonina en la posición 75 en lugar de la isoleucina. La expresión de $T\gamma$ varía grandemente entre los individuos y representa el tercer gene no alélico del grupo de las γ -globinas (Papadakis et al 1979, Little et al 1979, Schroeder et al 1979).

Con el desarrollo de técnicas de mapeo, se ha hecho posible la construcción de mapas de enzimas de restricción y sitios alrededor de los genes γ -globina (Bernards et al 1979, Little et al 1979, Schroeder et al 1979). Con los fragmentos separados por electroforesis, seguido de una hibridación y autoradiografía, se han podido revelar la posición de los fragmentos que contienen las secuencias de los genes γ -globinas (Bernards et al 1979, Little et al 1979). Las características principales en éstos mapeos se refieren a la presencia de intrones en ambas globinas: $G\gamma$ y $A\gamma$, estos intrones tienen una longitud aproximada de 800-1000 pares de bases, muy similares a los reportados en los genes β y δ -globinas. La distancia entre los genes: $G\gamma$ y $A\gamma$ es de 5 Kb. (Mckonkey 1993, Bernards et al 1979, Little 1979).

Si bien la frecuencia de los genes $G\gamma$ y $A\gamma$ es mayor, en poblaciones como Inglaterra y Holanda es difícil demostrar la presencia del tercer gen $T\gamma$, considerandolo también como un polimorfismo de uno de los genes γ descritos anteriormente (Schroeder et al 1979).

Esta variante se ha reportado en pacientes italianos con β -talasemia (cerca del 90% del total de pacientes) y en algunas poblaciones en el cordón umbilical fetal. Sin embargo las frecuencias reportadas en éste marcador son múltiples y han sido analizadas por separado.

LOCUS D7S8 (CROMOSOMA 7)

En el caso del cromosoma 7, se han reportado la localización de 6 clonas de éste mismo cromosoma, de los cuales algunos están asociados con uno de los desordenes genéticos más comunes que se ha observado en niños caucásicos: la fibrósis quística (Tsui et al 1985, Beaudet et al 1986).

Hasta la fecha se han aislado marcadores polimórficos en los loci D7S399 (pMP6d-9), D7S8 (jP. 3.11), y D7S23 (KM. 19). El D7S8 está localizado a menos de 1000 kb de D7S23. Estos datos suponen la hipótesis de que el gene de la fibrósis quística está localizado en el intervalo entre los loci D7S8 y D7S399, reducida a una distancia de 160 kb de D7S23 en dirección a D7S8, intervalo en el cual se puede causar la mutación del gen de fibrósis quística (Esticill et al 1989).

En este sentido el uso de la amplificación *in vitro* y el análisis con oligonucleótidos sintéticos, proveen una alternativa a los ensayos con RFLP. Así con el empleo de PCR/ASO para el ensayo de hibridación del locus D7S8 se han obtenido estudios con resultados acerca de las frecuencias poblacionales de los alelos se expresan en términos de homocigocidad y heterocigocidad descrita por 2 alelos: A y B. La presencia de cada alelo para éste locus puede estar combinada para conformar un genotipo, destacando 3 combinaciones genotípicas en éste sistema de prueba: AA, AB y BB (Beaudet et al 1986, Huth et al 1989, Hum et al 1990, Budowle et al 1995).

Las frecuencias descritas en poblaciones europeas (caucásicas) para el locus D7S8 en donde se emplean enzimas de restricción denotan los alelos con números: 1 y 2. observandose igualmente una conformación genotípica con 3 posibles combinaciones, obteniéndose los siguientes genotipos: 1-1, 1-2 y 2-2. (Bartels et al 1986).

Rodríguez-Calvo et al. (1996) reportan frecuencias alélicas y genotípicas para el locus D7S8 descritas para España y Portugal. Esta información tiene trascendencia para el análisis de algunas poblaciones de Latinoamérica. Asimismo se hace una comparación de las frecuencias poblacionales obtenidas por Budowle et al (1995) incluyendo poblaciones de origen hispánico negroides y caucasoideas residentes en los Estados Unidos.

Como se puede ver, se han ampliado los sistemas de prueba del D7S8 hacia Norteamérica, destacando los estudios de Scholl et al. (1996) al hacer el análisis de este locus en comunidades indígenas y urbanizadas.

Al comparar las frecuencias del genotipo BB del locus D7S8, en las poblaciones europeas, comparadas con las poblaciones de Indios Navajo y Pueblo en los E.U.A. se notan diferencias notables. Así también de los pueblos Navajo y Pueblo, se guarda una relación inversa con la comunidad Sioux, con una alta frecuencia alélica B y en consecuencia alta proporción del genotipo BB y baja frecuencia del genotipo AA (Budowle et al 1995, Rodríguez-Calvo et al 1996, Scholl et al 1996).

COMPONENTE DE GRUPO ESPECÍFICO (Gc)

Los genes de la familia de la albúmina los cuales codifican para la α -fetoproteína albúmina, Gc y , están localizados en el cromosoma 4 dentro de la región 4q11-q22. Estudios posteriores demostraron que el gene del sistema alélico Gc esta localizado en el brazo largo del mismo cromosoma 4 específicamente en la región q11-q13 (Guizar-Vazquez 1994, Yang et al 1985).

El componente de grupo específico (Gc) es un α -2-globulina sérica con un peso aproximado de 52 000 Daltons, cuya función principal es la unión y transportación de la vitamina D y de sus metabolitos. También es conocida como alfa-globulina iniciadora de vitamina D. (VDBG), ya que una vez hidroxilada la vitamina en C_{25} , se une a esta molécula de α -globulina (Guizar-Vazquez 1994).

No obstante la homología entre estas moléculas es muy grande, Gc es más pequeña que la albúmina y la α -fetoproteína las cuales contienen 585 y 590 aminoácidos respectivamente, mostrando 458 aminoácidos para Gc (Yang et al 1985).

Después de observar las estructuras observadas de Gc, albúmina y α -fetoproteína se nota que Gc ha perdido las dos terceras partes de la secuencia de codificación en el dominio 3 y aún cuando en el dominio 1 internamente son homólogos, las uniones Cistina-Cistina que se observan en la posición 58-59 en éste primer dominio de Gc no están presentes en la albúmina y α -fetoproteína (Yang et al 1985).

En cuanto a los genotipos observados para Gc estos fueron determinados usando métodos de inmunoelectroforénesis los cuales se manifiestan en las poblaciones humanas en tres fenotipos comunes: GC1, GC2 y GC2-1 de los cuales Gc1 y Gc2 difieren por dos péptidos relacionados con diferencias estructurales, envolviendo al menos tres residuos de aminoácidos (Guizar-Vazquez 1994, Yang et al 1985, Constans y Viau 1977).

Gc2 se diferencia de Gc1 por su estructura básica, la secuencia de DNA complementario de Gc confirma que los dos péptidos de Gc2 son contiguos (residuos 414-424) y contienen una cadena de tripsina envolviendo a un grupo carboxilo en la lisina 420, el cual es sustituido por una treonina en Gc1 (Yang 1985).

Hasta la fecha se han podido identificar mas de 90 variantes de Gc, adoptando una nomenclatura nueva tomando como base una doble banda de Gc1S y una sencilla de Gc2. Si las variantes son catiónicas o aniónicas se diferencian con las letras "C" y "A" respectivamente, después de Gc y agregando un número inmediatamente después según la distancia que se separa del original (Guizar-Vazquez 1994, Lisker et al 1994).

Gc migra electroforéticamente en dos bandas y se subdivide en Gc1S y Gc1F. La secuencia N-terminal deducida del DNA complementario de Gc fue idéntica a los residuos 1-25 de Gc1S y Gc1F y los residuos 1-20 de Gc1S. La diferencia entre Gc1S y Gc1F se encuentra en la adición de un residuo de ácido siálico postraducciona l a la molécula de Gc para dar la variante 1F (Guizar-Vazquez 1994, Yang et al 1985).

Gracias a su gran polimorfismo este marcador ha sido ampliamente utilizado en estudios de población. Los resultados obtenidos no han sido estadísticamente significativas como otros marcadores (Lisker et al 1994).

LOCUS D1S80

En el caso del locus D1S80, la tipificación en éste sistema consiste en la detección de las secuencias repetitivas denominadas VNTR's o minisatélites que se ubican en el cromosoma 1, específicamente el locus D1S80. Este locus identificado por la sonda pMCT118 contiene como secuencia base un segmento de ADN constituido de 16 pb que repiten de 14 a 41 veces. Los alelos obtenidos para este locus han sido designados del 1 al 17 de acuerdo a la longitud que presenten (el alelo 14 no ha sido observado), de esta forma el alelo 1 es el más pequeño en longitud y el 17 de los más largos (Jeffreys et al 1991, Budowle et al 1991). Cada alelo esta determinado por el número de veces en que se repite la secuencia de base (core) esto es el alelo 14 se define así porque la secuencia base se repite 14 veces, siendo igual para los demas alelos. En esta región del D1S80 se han identificado hasta el momento 29 alelos, cuya combinación definen 435 genotipos (Saavedra 1995, Cetus Corp. 1994).

Los estudios de este locus en poblaciones humanas son escasos debido a su reciente implementación. Al respecto el número de alelos identificados en diferentes poblaciones han variado observandose en primera instancia que el número de posibles fenotipos en ocasiones no llega ni al 50% el total de genotipos esperados observando una tasa de heterocigocidad baja sobre todo en poblaciones caucásicas (Sajantila et al 1992). Los reportes sobre esta marcador se han extendido a poblaciones europeas, norte y sudamericanas, incluyendo un primer análisis de las frecuencias de este marcador en la población de la Ciudad de México (Saavedra 1995, Sajantila et al 1992, Heidrich et al 1995).

JUSTIFICACION

A partir de la aplicación de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (1987) en diversos campos de la investigación, aunado a las técnicas de secuenciación e hibridación de alelos, se inicia un nueva era en la obtención de alelos altamente polimorficos (Klein et al 1993, Kocora et al 1995, Gyllensten y Erlich 1989, Budowle et al 1995).

La información alélica se ha aplicado en los últimos años como una herramienta en el área de la genética de poblaciones, utilizandolos como marcadores genéticos con el fin de obtener y observar las frecuencias de éstos.

La utilización de "nuevos marcadores" ha significado una nueva tipificación del DNA proporcionando una mejor información acerca de la estructura genética de las poblaciones humanas en comparación con los "sistemas genéticos tradicionales" (Lisker 1981, Thompson y Thompson 1983, Lisker et al 1990).

La información alélica y genotípica obtenida con estos marcadores, ha proporcionado resultados que indican con base en la distribución y frecuencia de los diferentes alelos, la variabilidad en las secuencias de los genes contenidos en el genoma de las poblaciones humanas estudiadas, ésto de acuerdo con el número de marcadores utilizados en los estudios genéticos (Helmuth et al 1990, Huguet et al 1993, Ambach et al 1996).

Recientemente el empleo de marcadores múltiples que identifican simultáneamente los loci genéticos que incluyen los sistemas HLA DQ α , los Receptores de Lipoproteínas (LDLR), Glicoforina A (GYPA), Hemoglobina G Gamaglobina (HBGG), el Gen D7S8, el Componente de Grupo Específico (GC) y un VNTR (D1S80), han demostrado su eficacia en diferentes estudios llevados a cabo en diferentes países. Tales estudios de población utilizando estos marcadores reportan diferencias significativas en la distribución y frecuencia de estos alelos. El fundamento de estas variaciones está enmarcado en antecedentes de evolución biológica e histórico-social.

Si tomamos en cuenta los antecedentes históricos de México, desde la invasión europea y la presencia de esclavos africanos, esto nos indica que la población mexicana es una población mestiza (aproximadamente el 85%) con un componente trihíbrido, con un gran porcentaje de características genéticas indígenas.

De acuerdo a lo antes mencionado y tomando en cuenta los movimientos migratorios que se han sucedido hacia la Ciudad de México, así como la segregación social que ha existido, se puede inferir que los marcadores genéticos ya descritos, pueden sufrir variaciones significativas en su distribución y frecuencia en esta ciudad.

Esta información resultaría valiosa como una base de datos útiles para el rastreo de enfermedades asociadas con algunos de los loci de estos marcadores y para la identificación de individuos sujetos a procesos penales o civiles.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diversidad genética es el producto de los distintos mecanismos evolutivos que actúan sobre la estructura genética, provocando una diversidad en las poblaciones biológicas. La especie humana, al igual que otros organismos, es una especie politética y polimorfa producto de la acción de dichos mecanismos.

Como ya se ha anotado, el origen de la especie humana ha sido radicado en el continente Africano y los restos de los primeros grupos de diferenciación han sido localizados en el continente Europeo y Asiático, pero en América, cuyo poblamiento es principalmente mongoloide, sus poblaciones autóctonas presentan una gran variabilidad, producto de la conquista por parte del continente Europeo, representado básicamente por Inglaterra, España, Portugal, Francia y Alemania, además de los grupos del continente Africano que arribaron. Antropológicamente se ha definido a nuestras poblaciones con un origen trihíbrido pero las repercusiones sobre la estructura genética que se puedan encontrar en las poblaciones contemporáneas a cinco siglos de haberse producido dicho contacto, siguen sin conocerse.

Ahora bien, considerando todo lo anterior, la población del Valle de México es un mosaico de grupos humanos desde la época prehispánica, lo cual se ha acentuado en nuestros días como consecuencia del desarrollo industrial, de las comunicaciones y de la desintegración social del campo, lo que ha hecho de la zona conurbada de la Ciudad de México desde la década de los 50's un centro urbano con una alta tasa de inmigración, no solo del proceso campo-ciudad sino de otros centros urbanos, así como de otros países, lo cual ha dado lugar a una concentración cosmopolita.

La problemática de mestizaje en poblaciones mexicanas ha sido abordada empleando tanto el análisis de características fenotípicas como el empleo de diversos marcadores genéticos. Por un lado, existe una homogeneidad en los grupos indígenas acompañada por una heterogeneidad al comparar grupos de diferentes regiones, además de que en los grupos mestizos existen distintos gradientes de expresividad.

Ante el problema de tipificar a una población, como es la del Valle de México, utilizando los marcadores genéticos "nuevos" HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBG, D7S8, GC Y D1S80, así

como los marcadores tradicionales de grupo sanguíneo, se pueden plantear algunos cuestionamientos ¿Qué características de distribución genotípica podemos encontrar con éstos últimos marcadores, tomando como base a las poblaciones "originales" y comparando dichos resultados con otros reportes de poblaciones extranjeras (negroides, asiáticos, indígenas, españoles etc.)? y ¿Cuál sería el resultado del proceso de mestizaje en las distribuciones alélicas obtenidas observables en el Valle de México?.

HIPOTESIS

Desde los años 50's y hasta la actualidad, las migraciones campo-ciudad experimentadas por algunos grupos humanos han tenido al Distrito Federal y la zona conurbada como un punto de convergencia. La falta de recursos, factor común de la mayoría de los migrantes, no les permitió establecerse en zonas habitacionales que contaran con los servicios necesarios y propios de una gran ciudad formándose con esto franjas o cinturones urbanos cuya característica es una extremada pobreza. Es de gran importancia el mencionar que los grupos humanos establecidos en estas zonas provinieron de diversos puntos de la República, así como de distintos grupos indígenas. La información genética que poseen estos grupos humanos, manifestada en las distintas características fenotípicas se mezcló entre sí, dando lugar a los habitantes actuales que conforman el D.F. y zona conurbada. Sin embargo, la mezcla originada entre éstos grupos, no fue extendida a los grupos ya establecidos en el D.F, restringiéndose la mezcla hacia ciertos grupos.

De acuerdo con esto, en el D.F. y la zona conurbada de la Ciudad de México, el comportamiento de las distribuciones alélicas y genotípicas de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, HBGG, GYPA, D7S8, Gc y D1S80, determina zonas específicas de distribución alélica con características propias.

OBJETIVO GENERAL

Determinar las frecuencias y las diferencias en la distribución de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, HBG α , GYPA, D7S8, GC, D1S80 y estado secretor de antígenos ABO en una muestra poblacional de residentes de la zona conurbada de la Ciudad de México con la finalidad de contar con datos suficientes que ayuden a identificar si estas diferencias caracterizan a grupos humanos con frecuencias alélicas o genotípicas propias de una región.

OBJETIVOS PARTICULARES

I.- Determinar el estado secretor de antígenos ABO en una muestra poblacional del Valle de México.

II.- Establecer las frecuencias alélicas de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, HBG α , GYPA, D7S8, GC y D1S80, en los residentes que habitan el Valle de México.

III.- Establecer si existen diferencias en las frecuencias de éstos marcadores genéticos al comparar la población general.

IV.- Establecer si existen diferencias en las frecuencias de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, HBG α , GYPA, D7S8, GC y D1S80, de los residentes que habitan las zonas Noroeste, Noreste, Sureste y Suroeste de la población del Valle de México con otras poblaciones mundiales.

V.- Explicar desde una perspectiva histórico-social la dinámica poblacional de las diferencias encontradas en la distribución de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, HBG α , GYPA, D7S8, GC y D1S80, en los residentes que habitan las zonas Noroeste, Noreste, Sureste y Suroeste de la población del Valle de México.

METODOLOGÍA

La metodología aplicada en el presente trabajo de investigación se dividió en diferentes fases considerando los puntos importantes para la división y el muestreo de la población así como la colecta de las muestras, los tratamientos a los que se sometieron las muestras colectadas durante el muestreo y los análisis a los que fueron sometidos los resultados obtenidos de éstas mismas. Por tanto la metodología fue dividida de la siguiente manera:

- I) metodología aplicada al trabajo de campo
- II) metodología aplicada en el laboratorio
- III) análisis de resultados.

I) Metodología aplicada en el trabajo de campo.

Se efectuó un muestreo en la población del Valle de México que consistió de un total de 444 individuos cuya edad fluctuó entre los 15 y 40 años de edad. El muestreo se realizó de manera aleatoria en escuelas de nivel medio superior y superior sin considerar el nivel socioeconómico. De la misma manera se aplicó en cada una de las escuelas una encuesta a cada uno de los individuos, en las cuales se investigó sobre todo su domicilio actual y algunos datos de origen familiar y económicos. (APENDICE)

De acuerdo con los datos obtenidos en las encuestas aplicadas acerca del domicilio actual de cada uno de los sujetos, éstos fueron ubicados en un principio en planos en los que se divide el D.F. y Area Metropolitana, éste es, en 44 áreas representativas de la Zona Metropolitana, incluyendo algunos municipios del Estado de México y las 16 delegaciones políticas del D.F. (Guía roji de la Ciudad de México)

Una vez ubicados en los planos, se agruparon en 5 zonas de estudio: zona Centro comprendida en un plano y con 36 individuos muestreados; zona Noreste comprendida en 5 planos y con 97 individuos muestreados; zona Noroeste comprendida en 5 planos y con 71 individuos muestreados; zona Suroeste comprendida en 14 planos y con 87 individuos muestreados; zona Sureste comprendida en 19 planos y con 153 individuos muestreados. En esta división se incluyeron individuos de las 16 delegaciones políticas del Distrito Federal así como de los municipios de

Ecatepec, Nezahualcoyotl, Chimalhuacan, Ozumba, Ixtapaluca, Naucalpan, Los Reyes, Villa de las Flores, Coacalco, Tlalnepantla entre otros. (FIGURA 1)

Los individuos agrupados fueron seleccionados de acuerdo al correcto llenado de las encuestas, no incluyendo a individuos que no las completaron o no refirieron su domicilio; de igual forma se excluyeron los individuos cuya residencia era transitoria o en algún estado de la república. También fueron excluidos del estudio, hermanos o individuos con algún grado de parentesco familiar.

Una vez agrupados en zonas generales de estudio, se procedió a dividirlos en 8 grupos de estudio, 5 grupos representativos del Distrito Federal y 3 del Estado de México. La clasificación quedó integrada de la siguiente manera: Centro con 36 individuos, Xochimilco con 44 individuos, Iztapalapa con 51 individuos, Tlalpan con 41 individuos, G.A.M. con 41 individuos, Nezahualcoyotl con 30 individuos, Ecatepec con 35 individuos y Tlalnepantla con 32 individuos. En las zonas donde el número de individuos fué menor a 30, incluyendo las delegaciones políticas del Distrito Federal y algunos municipios no fueron incluidos en la ésta división, en virtud de las condiciones del estadístico de prueba.

Toma de Muestra. A los individuos sometidos a estudio se les tomó una muestra de saliva los cuales donaron un volumen de 300-1000 μ l. (en la saliva se encontraron suspendidas células epiteliales). A la muestra de saliva contenida en tubos estériles de 50 ml. se le agregó un volumen igual de etanol al 70%, utilizandose como conservador en tanto se procedió al estudio de laboratorio. Durante la toma de la muestra se evitó el contacto oral con otras personas, hablar y la ingesta de alimentos. Las personas que no pudieron donar un volumen mayor de 300 μ l se les tomó un volumen de 3 ml. de sangre periférica en tubos estériles, EDTA (0.5 M, pH 8.2.) como anticoagulante.

A los individuos que donaron muestra de saliva se les determinó de manera directa el grupo sanguíneo, utilizando antisueros específicos del sistema ABO: Anti-A, Anti-A₁ (Dolichos biflorus), Anti-B, Anti-AB y Anti-D para determinación de Rh.

II) Metodología de laboratorio

El procesamiento de las muestras se efectuó en el Laboratorio de Genética Forense de la Dirección General de Servicios Periciales de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, la cual consistió básicamente de los siguientes puntos:

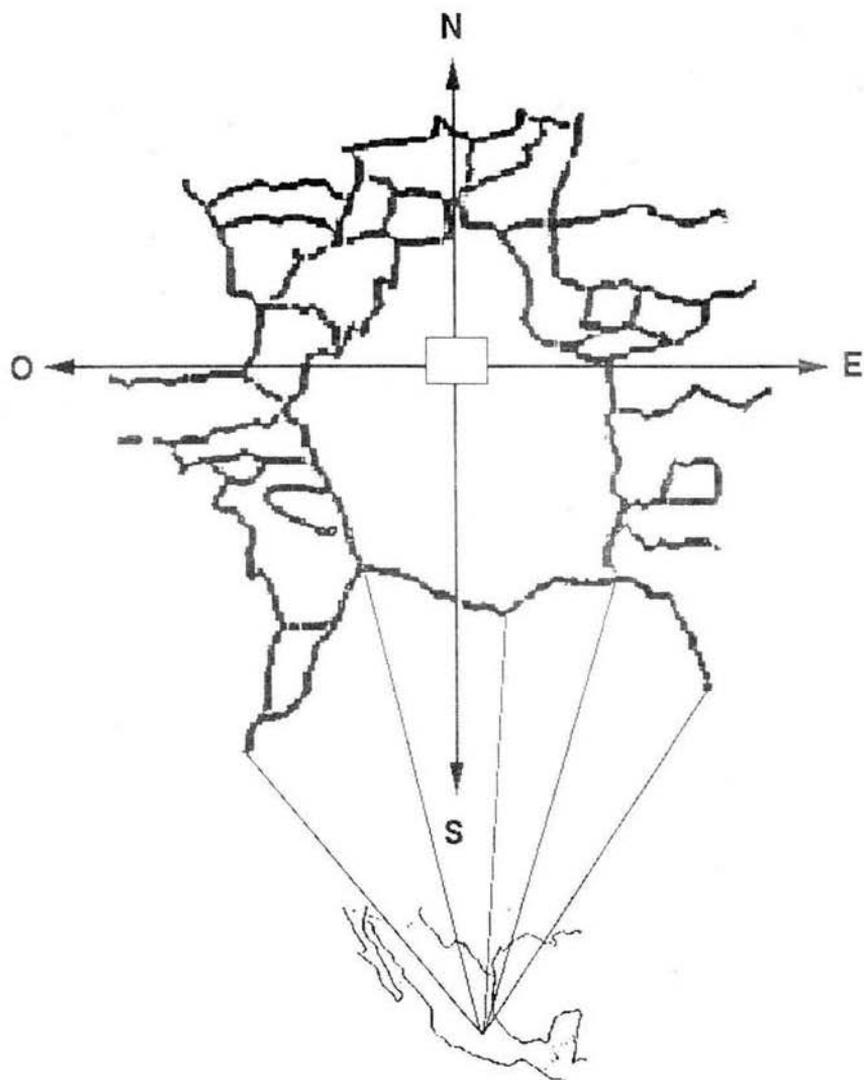


FIGURA 1.- Diseño de la división efectuada durante el muestreo en la población del Valle de México. Se incluyen los municipios cercanos al Distrito Federal en la franja considerada como zona conurbada. La división incluye diversas zonas de muestreo, divididas en 5 zonas generales de estudio: Centro, Noroeste, Noreste, Suroeste y Sureste, considerando un total de 444 individuos muestreados en las diferentes zonas de estudio

Determinación de grupo secretor de antígenos del sistema ABO. Se efectuó en los individuos de la población de la Zona Metropolitana obtenido de las muestras de saliva recolectada durante el muestreo. Para la determinación del estado secretor se empleó el método de Adsorción-Inhibición descrito por Garg (1983) empleando 40 µl. de saliva y haciéndolo reaccionar con antisueros específicos A, B y Anti-H (lectina de *Ulex europaeus*, sigma). En la reacción se empleó una dilución de eritrocitos de cada uno de los grupos sanguíneos. La tipificación directa en la toma de muestra se cotejó con los datos obtenidos. No fueron incluidas en los datos finales las muestras en las cuales la aglutinación no se mostró franca.

Extracción de ADN de células epiteliales. Se emplearon las técnicas descritas por el Buró Federal de Investigación de los Estados Unidos (FBI), para la obtención del ADN genómico de células de descamación de la mucosa bucal suspendidas en la saliva. Las variaciones consistieron en emplear etanol absoluto frío para la precipitación del ADN y la centrifugación a 12000 rpm para llevar al fondo el ADN. El pellet o pastilla se solubilizó en buffer Tris-EDTA estéril pH 8.

Extracción de ADN de sangre. Se siguió el método descrito en los manuales de Perkin-Elmer, variando la purificación al final con fenol-cloroformo y alcohol isoamílico (24:1) y con etanol absoluto frío. Una vez obtenido y purificado el ADN se solubilizó en buffer Tris-EDTA estéril pH 8 a temperatura superior a 45° por 3 horas y en ocasiones a temperatura ambiente toda la noche..

Cuantificación de ADN. Las muestras con el ADN solubilizadas en buffer Tris-EDTA se sometieron a un corrimiento electroforético en geles de agarosa (BRL grado electroforésis) al 0.8% en buffer TAE 1X, de acuerdo con los protocolos descritos en los manuales de Perkin-Elmer y Lifecodes en geles largos de 12.5 x 20 cm (4.5 volts/cm) durante 1 hora en buffer TAE 1X. Las muestras fueron corridas junto a controles de ADN de 1, 5, 10 y 15 ng/µl.. Los geles se tiñieron con bromuro de etidio (1µl/ml) por 15 minutos. Una vez reveladas las bandas de ADN se cuantificó al espectro UV con los controles conocidos que se corrieron bajo las mismas condiciones. Adicionalmente se hicieron lecturas con el espectrofotómetro para corroborar el rendimiento o las cantidades de ADN obtenidas.

Amplificación de ADN. La amplificación del ADN genómico se realizó con los Kits de amplificación forense *HLA-DQα Amplification and Typing Kit, Polymarker* y *DIS80*. Se emplearon para la serie de amplificaciones termocicladores 4500 (Perkin-Elmer). De acuerdo con los manuales del fabricante se usaron cantidades de 1 a 10 ng de ADN genómico para llevar a cabo la reacción de amplificación, se incluyeron controles positivos y negativos para la reacción en cada

uno de los análisis. La reacción consistió de 32 ciclos de amplificación para ambos sistemas genéticos, HLA-DQ α y Polymarker y para todas las muestras, considerando las temperaturas de a)desnaturalización a 90° por 30 segundos, b)temperatura de alineación a 60° por 30 segundos y c)temperatura de extensión a 72° durante 30 segundos, después de los 32 ciclos de amplificación se programó un último ciclo de extensión por 10 minutos a 72°. El producto de amplificación para cada una de las muestras se verificó con un corrimiento de las muestras amplificadas en geles de agarosa al 4% en buffer TAE 1X (agarosa para separación de productos de PCR), corrimiento durante 1 hora y tñido con bromuro de etidio (1 μ l/ml), valorando al espectro ultravioleta y comparación con controles positivos y negativos de amplificación.

Para el sistema DIS80 la reacción de amplificación constó de 29 ciclos , en cada ciclo se consideraron las etapas de a)desnaturalización a 94° por 60° segundos, b) etapa de alineación a 65 por 60 segundos y c) etapa de extensión a 72° por 60 segundos. Después de finalizados los 29 ciclos, se programó un último ciclo de extensión a 72° por 10 minutos.(APENDICE)

Obtención de alelos y genotipos. Para la tipificación de la región DQA1 y los 5 marcadores del sistema polymarker se empleó la técnica con Sondas Específicas de Oligonucleótidos (SSOP) fijadas en membranas de nylon complementarias de las secuencias amplificadas. En éstas sondas inmovilizadas se detectaron los alelos de acuerdo al color desarrollado en las diferentes sondas (probe) contenidas en las tiras, identificandose de acuerdo al color desarrollado la presencia de los alelos 1.1, 1.2, 1.3, 2, 3, 4 e interpretando la combinación de éstos alelos en genotipos del locus HLA-DQ α .Para el sistema polymarker de acuerdo al desarrollo de color se identificaron 2 alelos (A y B) para el marcador LDLR, 2 alelos para GYPA (A y B), 3 alelos para el marcador HBGG (A, B, C), 2 alelos para el marcador D7S8 (A, B) y 3 alelos para GC (A, B, C) (**FIGURA 2, APENDICE**).

Para interpretar las tiras fue necesario examinar los puntos denominados "C" y "S" en las membranas de nylon aquellos puntos que aparecieron más oscuros o iguales a "C" y "S" fueron considerados como positivos y los puntos más claros no se interpretaron. De acuerdo con el desarrollo de color, cuando sólo se presentó un punto, se consideraron como genotipos homocigotos y heterocigotos cuando aparecieron 2 puntos en alelos diferentes. Fueron excluidos del estudio las tiras que no desarrollaron color en los puntos "C" y "S", sucediendo lo mismo cuando se presentaron más de dos alelos en las tiras de nylon. Las temperaturas y tiempos de

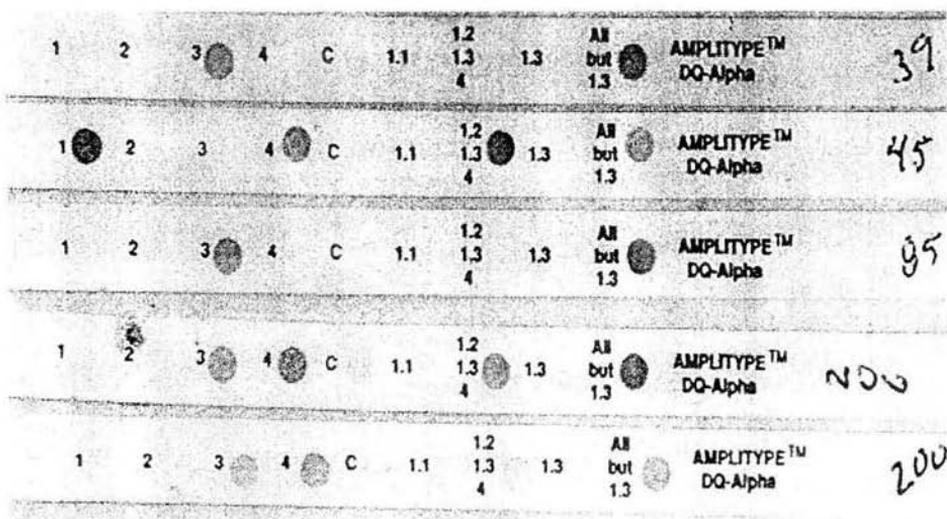


Fig. 2. La lectura de las sondas del sistema HLADQ ALFA, examinan en primer término el punto "C" el cual es un patrón de amplificación detectando todos los alelos de este sistema. La interpretación adecuada depende de la presencia de este punto y es comparado con la intensidad que indica la presencia de los todos los alelos. Los puntos que indican la hibridación de los alelos correspondientes en cada zona se describen de la siguiente forma:

El punto 1 es positivo en la presencia de los alelos 1.1, 1.2 y 1.3.

El punto 2 es positivo en la presencia solo del alelo 2.

El punto 3 es positivo en la presencia solo del alelo 3.

El punto 4 es positivo en la presencia de los alelos 4.1, 4.2 y 4.3.

Se diferencian los siguientes subtipos:

El 1.1 es positivo en la presencia del subtipo 1.1.

El 1.3 es positivo en la presencia del alelo 1.3.

Los subtipos 1.2, 1.3 y 4 son positivos en la presencia de los alelos 1.2, 1.3 y los subtipos del alelo 4.

Cuando se marcan todos los alelos menos el 1.3 indica la presencia de los alelos excepto el subtipo

1.3, esta sonda es necesaria para diferenciar el genotipo 1.2,1.2 del genotipo 1.2,1.3.

En la figura 2 se pueden observar los genotipos de este sistema genético, en el cual se muestran los genotipos 3,3, 1,2,4, 3,3 y 3,4 respectivamente.

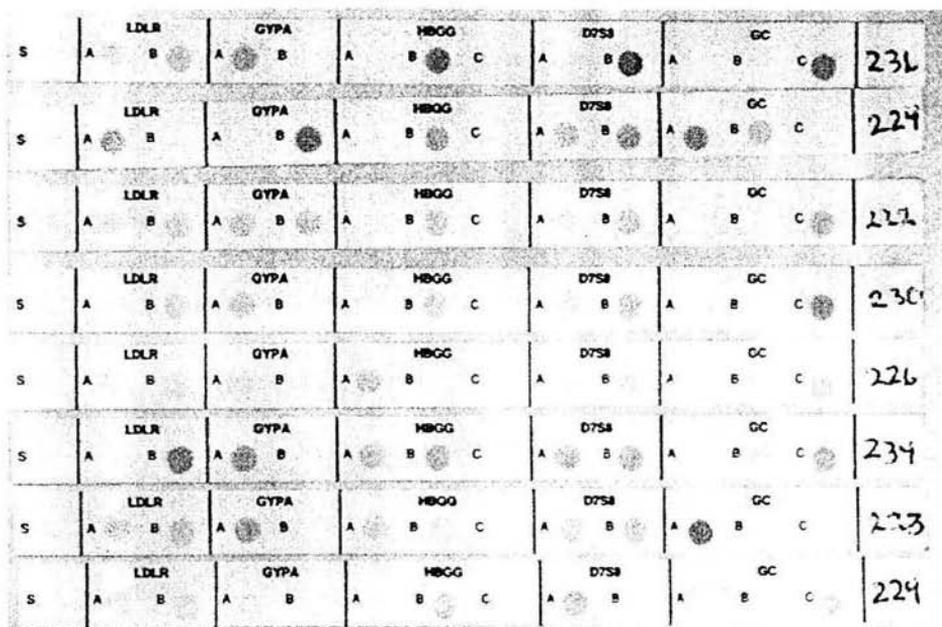


FIGURA 2A.- Para interpretar las pruebas del sistema genético Polymarker se examina en primer término el punto "S" y luego cada locus por separado. El estándar "S" es idéntico en secuencia al control "C" del sistema HLA. El punto "S" se distingue por ser el más ligero en cuanto a coloración de los puntos que definen los alelos de cada locus. Se recomienda que una prueba de ADN en donde no está visible el punto "S" no sea interpretada y amplificarse nuevamente.

Los puntos del sistema genético Polymarker corresponden a los siguientes alelos:

El punto "A" para cada locus es positivo en presencia del alelo "A".

El punto "B" para cada locus es positivo en presencia del alelo "B".

El punto "C" para cada locus es positivo en presencia del alelo "C".

Para los marcadores LDLR, GYPA y D7S8 es posible identificar los genotipos AA, BB y AB.

Para los marcadores HBGG y GC es posible identificar los genotipos AA, BB, CC, AB, AC y BC.

lavado de las sondas para la tipificación de los sistemas HLA-DQ α y Polymarker fueron controladas conforme a las especificaciones del fabricante.

Para determinar los alelos del sistema D1S80, se procedió a correrlos los productos de amplificación en un gel vertical de poliacrilamida (4%) alternados con un marcador (bandas de VNTR conocido como ladder) cada dos pozos, dispensando en cada pozo del gel 8 μ l de muestra de ADN amplificado. El corrimiento se efectuó en una cámara de electroforesis vertical durante 1 ½ horas a 300 volts hasta haber recorrido las ¾ partes del gel. Una vez finalizado el corrimiento, el gel se tiñó con bromuro de etidio (1 μ l/ml) en un agitador orbital durante 10 minutos y enjuagado con agua corriente. El gel se visualizó con luz Ultravioleta y se determinaron los alelos por comparación con el marcador (ladder). Los alelos se presentaron en forma de bandas las cuales cuando se presentaron en doble número fueron considerados como genotipos heterocigotos y cuando sólo se presentó una sola banda se consideró genotipo homocigoto. (FIGURA 3)

III) Análisis estadístico.

La frecuencia de grupo secretor de antígenos del sistema ABO y las frecuencias de alelos y genotipos de los sistemas HLA-DQ α , Polymarker y D1S80 se calcularon de acuerdo con el método descrito por Guizar-Vazquez (1994) y Rodríguez N (1995), tomando en cuenta el número de alelos y genotipos observados en la población muestreada. Se aplicó una prueba de χ^2 (α 0.05 n-1 g.l.) convencional para el total de la población y para cada uno de los sistemas genéticos.

De acuerdo con la división de zonas geográficas establecidas en el muestreo de campo, se compararon éstas zonas para tratar de probar si las subpoblaciones incluidas en cada zona son homogéneas respecto a las frecuencias alélicas y genotípicas, por tal motivo se aplicó para los sistemas HLA-DQ α y Polymarker una prueba de χ^2 de doble entrada $r \times c$ (r = zonas de estudio y c = alelos), comparando sólo 4 zonas de estudio: Noroeste, Noreste, Suroeste y Sureste de acuerdo con el número de individuos muestreados. Se hicieron las comparaciones tanto de alelos como de genotipos observados. Se aplicó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis para determinar diferencias entre los grupos poblacionales divididos en la segunda fase del muestreo. Se compararon los individuos de Ecatepec, Centro, G.A.M., Tlalpan, Nezahualcoyotl, Tlalnepantla, Iztapalapa y Xochimilco, considerando los alelos y genotipos del sistema HLA-DQ α y Polymarker. El análisis de varianza se aplicó de acuerdo a las fórmulas descritas en Sokal y Rohlf (1992) y Zar

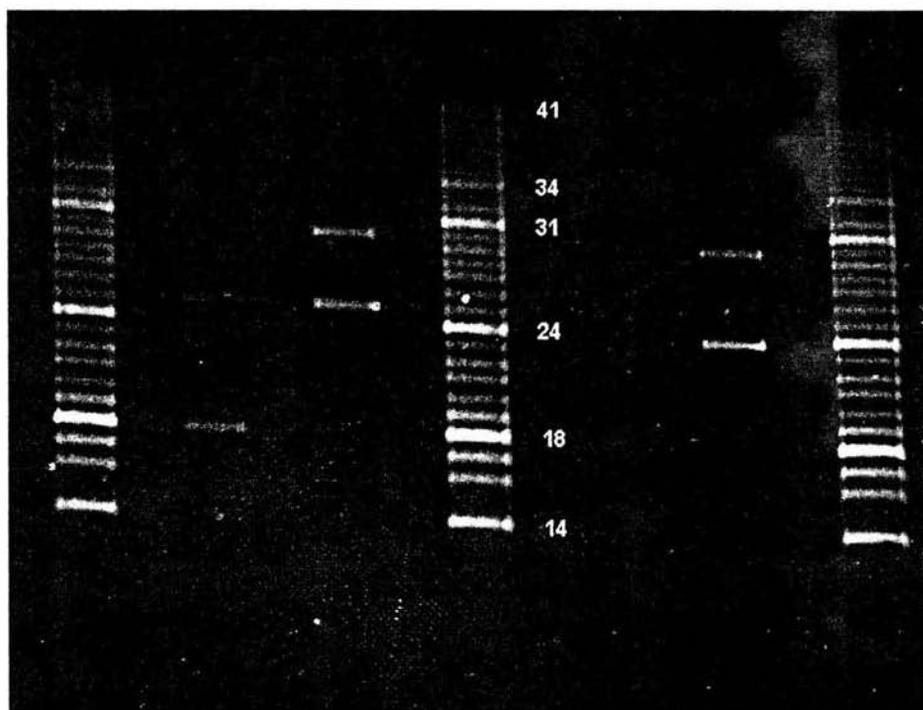


Figura 3.- En la figura se aprecia el corrimiento electroforético en el gel de poliacrilamida de los productos de amplificación del sistema D1S80. La interpretación de las muestras a comparar se hace mediante la visualización de estas con un patrón alélico (ladder) de bandas con un peso molecular conocido, este patrón presenta 29 bandas y son interpretadas a partir del alelo marcado como número 14, cuyo peso molecular es menor que el alelo 41, alelo al principio del corrimiento, el cual presenta un peso molecular mayor. Los productos inespecíficos o dímeros, no son interpretados, ya que estos no se encuentran dentro del rango de interpretación del ladder. De acuerdo con los patrones, en la figura se identificaron los genotipos 18,25 25,30 y 24,30.

J. (1984) para comparación de más de 5 grupos, en donde la varianza representada por H se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$H = [12/Nt(Nt+1)] / [\sum R^2 / N_{i,j} - 3(Nt+1)]$$

En donde Nt = número de observaciones totales de los alelos y genotipos; $\sum R$ = sumatoria de los rangos asociados a cada valor observado de alelos y genotipos y N_{ij} = número de alelos y genotipos observados por grupo humano.

Se aplicó el valor corregido de H con la siguiente fórmula

$$H/FC$$

donde $FC = 1 - \text{No. EMPATES} / Nt^3 - Nt$

Empates quedan definidos por el número de repeticiones observados en los rangos y elevados al cubo; Nt = número de observaciones totales de alelos y genotipos.

Se aplicó de forma adicional, el mismo análisis de varianza considerando sólo 3 grupos humanos.

En los análisis de Kruskal-Wallis, en donde se rechazó la hipótesis de homogeneidad, se aplicó, el análisis de varianza para verificar cual o cuales grupos de estudio presentaron diferencias, aplicando el análisis de comparación mutiple, analizando la diferencia de medias entre los grupos dividida entre su error estándar, de acuerdo con la formula descrita en Dunn (1964) de la siguiente forma:

$$Q = R_B - R_A / SE$$

En donde R indica el valor medio de los rangos obtenidos de los genotipos de cada grupo poblaciones y el valor de SE (error estándar) se obtuvo de la siguiente forma:

$$SE = S^2 / 2(1/na + 1/nb)$$

En donde S^2 es igual al error estándar de varianza y na y nb es la media de los grupos comparados. De igual forma se obtuvieron las frecuencias alélicas del locus HLA-DQ α , los loci del sistema Polymarker y el locus DIS80 de poblaciones europeas y caucásicas de Norteamérica y se compararon cada una con la población estudiada en la Zona Metropolitana, se aplicó la prueba de χ^2 de doble entrada ($r \times c$) con la finalidad de observar si se presentaban diferencias de la población de México respecto a los marcadores tipificados en las poblaciones extranjeras.

Se obtuvieron otros parámetros estadísticos útiles en aplicaciones forenses . Se obtuvo el grado de heterocigotos por alelos y genotipos, definidos por la siguiente fórmula

$$h=2n(1-\sum x_i^2)/(2n-1)$$

donde n = número total de individuos muestreados y x_i = frecuencias alélicas

De la misma manera se obtuvo el poder de discriminación (PD) definido como la probabilidad de que dos individuos al azar posean diferentes genotipos para los marcadores genéticos aplicados en la población. El poder de discriminación PD, en la población del Valle de México se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$PD = 1 - \sum P_i^2$$

Donde $\sum P_i^2$ es la sumatoria de los cuadrados de las frecuencias relativas de los alelos o genotipos encontrados.

Realizadas todas las pruebas estadísticas , se procedió a analizar los datos.

RESULTADOS

Se tipificaron un total de 444 individuos, a cada una de los sujetos se les aplicó una encuesta en la que aportaron sus datos generales, así como datos del lugar de origen de sus padres, abuelos y bisabuelos. De los 444 individuos tipificados solo 344 contestaron completa o parcialmente la encuesta. Los datos sobre el lugar de origen de los bisabuelos no se contabilizaron, debido a que la gran mayoría no aportó este dato.

De 444 encuestados 343 proporcionaron datos sobre su lugar de nacimiento. Un gran porcentaje dio el lugar de origen de sus padres, no siendo así para sus abuelos, aunque la diferencia entre estos dos no fue muy significativa.

El lugar de nacimiento de los padres y abuelos, en su gran mayoría, solo fue proporcionado a nivel de entidad federativa, debido a que los sujetos encuestados no recordaban los datos completos o simplemente lo desconocían (Tabla 1).

Como se observa en las 27 entidades federativas, el Distrito Federal (D. F.) y cinco países extranjeros fueron los lugares de nacimiento de los encuestados y/o sus familiares. Los Estados de los cuales no se obtuvo información fueron Aguascalientes, Baja California Sur, Colima y Durango.

El D. F. fue el lugar con mayor porcentaje de nacimientos, tanto para los encuestados como para padres y abuelos, seguido por el Estado de México en el que se observó que el 8.16% de los encuestados nacieron en esta entidad.

En el caso de los encuestados cuyo origen es el Estado de México, se pudo apreciar que el origen de los abuelos son los estados de Hidalgo y Michoacán.

De igual forma de los resultados de las encuestas se desprende que las familias de algunos de los encuestados, todos sus integrantes nacieron en el D.F., seguidos de Oaxaca, Estado de México, Hidalgo y Puebla, siendo un 22.74% del total de los encuestados. (Tabla 2).

Como se pudo observar en las encuestas y citarse en la tabla 1, los datos sobre migración de los encuestados, así como de su padres y abuelos se corrobora que los Estado con mayor flujo migratorio son Michoacan, Hidalgo, Estado de México, Puebla, Guanajuato, Guerrero, Oaxaca y Veracruz, entre otros. Algunos abuelos su origen corresponde a los siguientes países: China, España, Estados Unidos, Francia y Cuba.

Tabla 1.-Porcentaje de individuos nacidos en el Distrito Federal y en interior de la República. Se marca el origen de sus padres madres y abuelos en ambas líneas

Estado	Encuestado %	Madres %	Padres%	Abuelos Paternos		Abuelos Maternos	
				Abuelas %	Abuelos %	Abuelas %	Abuelos %
D. F.	80.5	47.96	46	26.8	26.8	28.02	28.86
Edo de Méx.	8.16	6.897	9.52	10.1	9.2	11.28	9.35
Hidalgo	0.58	5.643	5.4	10.5	10.4	8.171	8.537
Michoacan		6.27	6.35	11.7	10	8.171	9.35
Oaxaca	0.87	3.762	6.03	7	7.6	6.226	6.504
Puebla	0.87	5.956	6.03	7.78	6.4	7.393	6.504
Veracruz	2.04	4.389	3.17	3.11	3.6	3.502	3.659
Guanajuato		2.194	3.81	6.61	6.4	5.837	5.285
Guadalajara		0.627	0.32	1.95	1.2	0.778	2.846
Zacatecas		1.254	0.63	0.39	0.8	0.778	1.22
Chihuahua	0.58	0.313	0.63	0.39	0.4	1.167	0.407
Campeche	0.29	0.313		0.39		0.778	0.407
Sn. Luis P.	0.58	1.567	1.59	1.95	1.6	2.335	2.033
Guerrero	1.75	4.389	4.76	5.84	6	6.615	6.504
Quintana Roo	0.29	0.313				0.389	
Morelos	0.87	2.194	0.63	0.39	1.6	3.113	1.22
Nayarit	0.29						
Tlaxcala	0.29	1.881	0.32	1.17	0.4	1.556	2.033
Monterrey	0.29	0.313			0.4		
Coahuila	0.29	0.313		0.39		0.778	1.22
Queretaro	0.29	0.94	1.9	1.95	2.4	0.389	0.813
Chiapas	0.29	1.567	0.95	0.78	1.6	1.556	1.626
B. C. N.	0.29						
Sinaloa	0.58	0.627		0.39			
Yucatan			0.63		0.4	1.167	
Tamaulipas			0.95	0.39	0.8		
Sonora		0.313			0.4		
Tabasco			0.32		0.4		
China					0.4		
España					0.4		0.813
E. U.					0.4		
Francia							0.407
Cuba							0.407

Tabla 2.- En la tabla se muestra el porcentaje correspondiente a cada una de las entidades federativas, cuyas familias completas, incluyendo al propio encuestado nacieron en ese sitio. Aquí es importante mencionar que el Distrito Federal ocupa el primer lugar en éste rubro, seguido de los estados con un alto índice de personas migrantes.

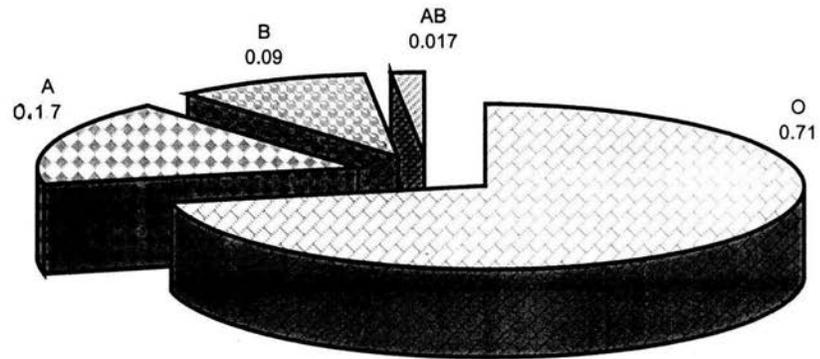
Entidad Federativa	%
D. F.	9.32
EDO. MEX	2.04
HIDALGO	1.74
MICHOACAN	0.58
OAXACA	2.33
PUEBLA	1.74
VERACRUZ	0.58
GUANAJUATO	0.58
ZACATECAS	0.29
S.L.P.	0.87
GUERRERO	2.04
MORELOS	0.29
CHIAPAS	0.29

SISTEMA AB0.

En los resultados que se presentan puede observarse la frecuencia de los fenotipos del sistema AB0 de 398 individuos de la población muestreada en el Valle de México; de los 444 individuos muestreados 46 de ellos fueron descartados en virtud de no contar con la tipificación directa de grupo sanguíneo. Como puede verse en la **gráfica 1** el grupo sanguíneo 0 se presenta con mayor frecuencia en la población estudiada (0.7110), comparada con las frecuencias en diferentes poblaciones de la República mexicana se corrobora que el fenotipo 0 es el más común, comportándose los fenotipos A, B y AB de la misma forma a las observadas en otras poblaciones. Estos resultados indican que las frecuencias de los grupos sanguíneos del sistema AB0 son representativos de la población mestiza de la población del Valle de México.

En la tabla 3 se presentan los datos de proporción de contribución de genes ancestrales de los tres grupos raciales que poblaron México: negroides, indígenas mexicanos y blancos europeos (Lisker, 1986). Al respecto los grupos indígenas han aportado en mayor proporción los genes ancestrales

GRAFICA 1.-FRECUENCIAS DE LOS FENOTIPOS DEL SISTEMA ABO OBSERVADOS EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO.



“0”, careciendo de los genes A y B, estos últimos aportados tanto por grupos negroides como caucasoides.

Tabla 3. Proporción en que han contribuido los genes ancestrales de los tres grupos que poblaron México. De igual forma en la parte de abajo de la tabla se presentan datos obtenidos

Contribución de proporción de genes en población mexicana.			
	Negros	Indios	Blancos
O	0.693	1.00	0.630 (Tomado de Lisker et al 1986)
A	0.157	0.00	0.304
B	0.150	0.00	0.066

De acuerdo al modelo trihíbrido se reportan en la Ciudad de México, las frecuencias fenotípicas observadas por 2 autores, en la parte de abajo se incluyen los datos observados en la población analizada en el Valle de México.

		GRUPO SANGUINEO B	GRUPO SANGUÍNEO 0	GRUPO SANGUÍNEO A
Modelo	Cd. de Méx.	0.029	0.40	0.56 **
trihíbrido	Cd. de Méx.	0.025	0.60	0.37 ***
en México.	Valle Méx	0.014	0.70	0.27

*** Datos tomados de Lisker et al 1986, Lisker et al 1996, ** Tiburcio et al 1978

La proporción de los genes AB0 varía hacia las costas, sobre todo en la costa Este de la República en donde se incrementa la contribución de los genes de grupos negroides. (Lisker et al 1986)

Acerca de la determinación del estado secretor de antígenos AB0 en los fluidos de la población estudiada, los criterios para determinar el grupo sanguíneo en saliva se basaron en la aglutinación observada de las muestras problema conteniendo los eritrocitos del grupo sanguíneo AB0; se considero el grupo sanguíneo en las muestras en donde se inhibió esta aglutinación, siendo el resultado del grupo sanguíneo como se puede apreciar en la tabla 4.

Tabla 4. Estado secretor de antígenos del sistema AB0 en la población del Valle de México.

Status Secretor	Frecuencia
Secretores	0.97
No Secretores	0.024

Esta técnica de adsorción -inhibición ha sido ampliamente usada en el área forense en la identificación de grupos sanguíneos en fluidos biológicos (saliva, semen, secreción vaginal, leche, etc.) y las complicaciones en las determinaciones sólo se han presentado cuando las muestras se encuentran contaminadas o cuando no contiene cantidad suficiente para determinarla. Para el muestreo de la población estudiada se contó con cantidad suficiente para realizar más de dos determinaciones.

Los resultados obtenidos nos indican que de los 398 individuos muestreados 391 presentan el gen Se el cual ejerce una función secretora de los antígenos ABH y siete individuos no tiene función secretora de estos antígenos. Las frecuencias de individuos secretores y los no secretores de sustancias de antígenos ABH de la población del Valle de México son 0.97 y 0.024 respectivamente (tabla 4)

Los resultados aquí presentados fueron cotejados con las determinaciones de grupo sanguíneo efectuados durante el muestreo de campo y las pruebas en las que hubo indeterminación en la aglutinación y por lo tanto en su tipificación, al igual que los individuos que se negaron a la tipificación directa fueron excluidos del estudio.

SISTEMA HLA-DQ α .

De los 444 individuos distribuidos en las 16 delegaciones políticas y los municipios descritos del Estado de México, sólo se analizaron 426 muestras para el locus HLA-DQ α , esto en virtud de que no fueron incluidos resultados en cuya hibridación se identificaron más de dos alelos. En la tabla 5 se muestran las frecuencias genotípicas de éste locus en la población estudiada. De acuerdo con los resultados se pudo establecer la presencia de los 6 alelos HLA-DQ α . posibles de identificar con éste sistema genético, siendo más frecuentes en la población los alelos 4 y 3 con una frecuencia de 0.43 y 0.30 respectivamente (**gráfica no. 2**)

GRAFICA 2.-FRECUENCIA DE LOS ALELOS HLA-DQ ALFA EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO

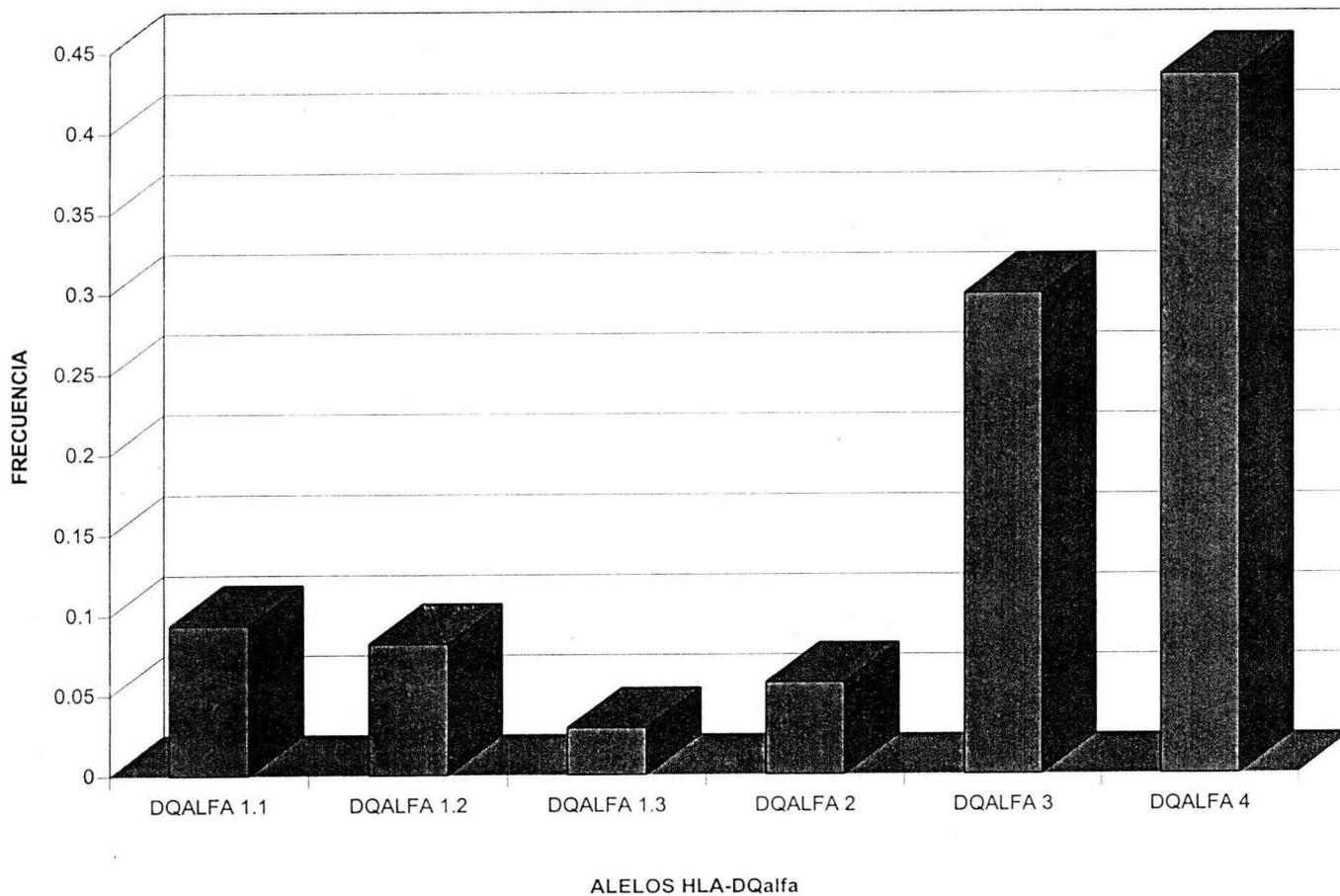


Tabla 5. Frecuencias observadas de los genotipos HLA-DQ α (DQA1), identificados en una muestra de la población del Valle de México. Se puede notar la ausencia del genotipo 1.3,1.3.

Genotipo	Frecuencia	Genotipo	Frecuencia	Genotipo	Frecuencia
1.1,1.1	0.016	1.2,1.3	0.004	1.3,4	0.025
1.1,1.2	0.009	1.2,2	0.004	2,2	0.007
1.1,1.3	0.002	1.2,3	0.046	2,3	0.037
1.1,2	0.009	1.2,4	0.089	2,4	0.044
1.1,3	0.056	1.3,1.3	0	3,3	0.084
1.1,4	0.077	1.3,2	0.004	3,4	0.269
1.2,1.2	0.004	1.3,3	0.021	4,4	0.183

La combinación (segregación) de los 6 alelos HLA-DQ α da como resultado la presencia de 21 genotipos. Acorde a la metodología empleada, se pudo observar que de los 21 genotipos posibles de identificar, sólo se pudieron observar 20 genotipos del locus HLA-DQ α en la población estudiada, no observandose la presencia del genotipo 1.3,1.3.

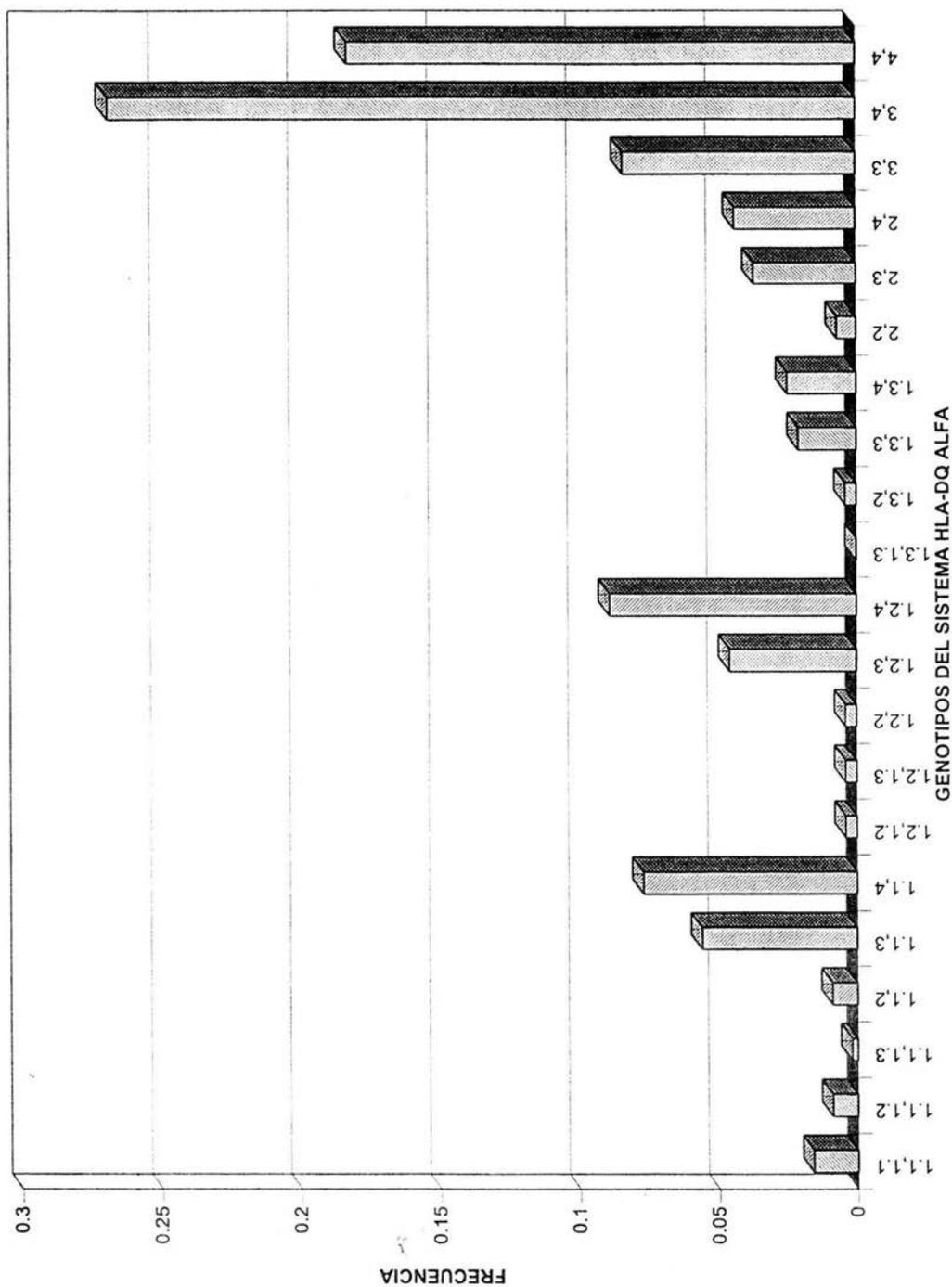
En el **gráfico 3** puede observarse la distribución y comportamiento de los genotipos del locus HLA-DQ α , siendo los genotipos más frecuentes en la población los siguientes: 3,4 con una frecuencia de 0.269, el genotipo 4,4 con una frecuencia de 0.183, el genotipo 1.2,4 con una frecuencia de 0.089, genotipo 3,3 con una frecuencia de 0.084, el genotipo 1.1,4 con frecuencia de 0.077, el genotipo 1.1,3 con una frecuencia de 0.056 y en orden decreciente el resto de los genotipos con frecuencias menores de 0.05 (distribuidos en las 16 delegaciones políticas del D. F. y 8 municipios del Estado de México). De la misma manera se puede observar la ausencia del genotipo 1.3,1.3.

El análisis de los valores esperados y observados de los genotipos HLA-DQ α de la población estudiada no mostraron una diferencia significativa, basada en la prueba χ^2 (19.84) contra el valor crítico de tablas $\chi^2_{\alpha=0.05, 20 g. l.} = 31.41$, indicando en principio que la población no se desvía de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg para este locus.

El valor de heterocigotos determinado por $h = 2n(1 - \sum x_i^2)/(2n-1)$, para el locus HLA-DQ α en los 426 individuos muestreados es de $h=0.70$.

El poder de discriminación "PD", esto es la probabilidad de que dos individuos al azar de una población determinada tengan diferentes genotipos, el valor del poder de discriminación fue $PD=0.86$.

MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO



Los valores de PD y h fueron comparados con los mismos valores observados en poblaciones europeas y caucasicas de Estados Unidos (tabla 6).

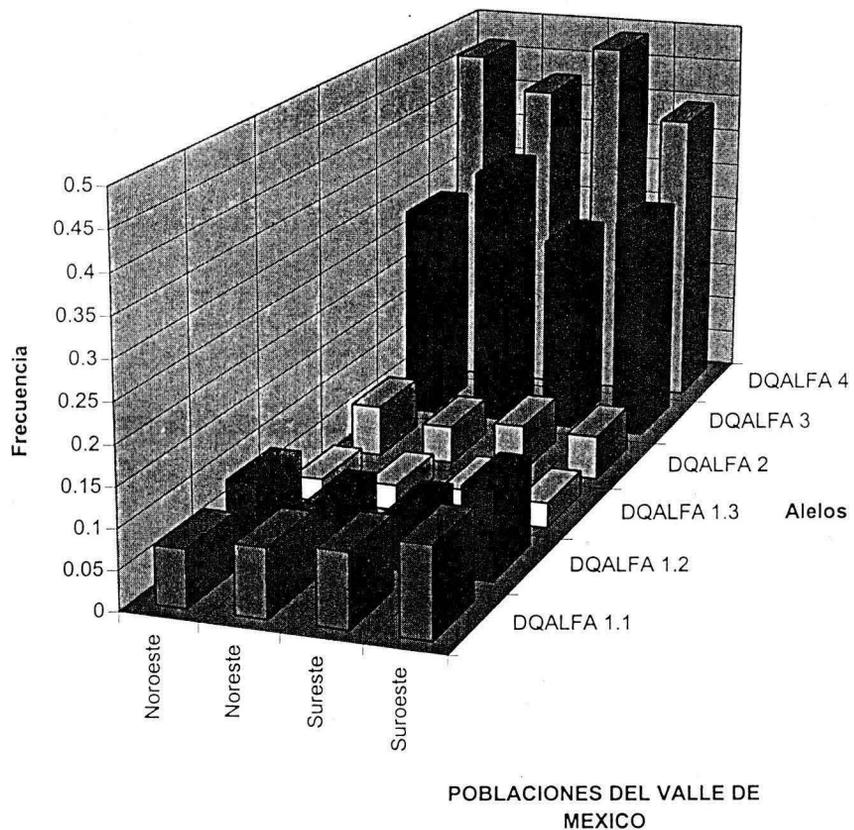
Tabla 6. Comparación de los valores de homocigidad y heterocigidad obseados en el locus $HLADQ-\alpha$ en la población del Valle de México. Se pueden observar los valores de estos mismos estadísticos en diferentes poblaciones mundiales.

Población	n	PD	Rango de Homocigidad	h
Alemanes	159	0.81	0.19	0.80
Daneses	112	0.92	0.19	0.78
Austriacos	157	0.94	0.18	0.81
Británicos	402	0.93	0.12	0.81
Italianos	103	0.91	0.17	0.78
Caucasicos/E. U.	826	0.94	0.21	0.81
Australianos	170	0.93	0.18	0.82
Valle de México	426	0.86	0.29	0.70

Al comparar las cuatro zonas geográficas en las cuales fue dividida la zona general de estudio, esto es, el Distrito Federal y los municipios del Estado de México, se aplicó la prueba de χ^2 considerando muestras independientes a las zonas Noreste, Sureste, Noroeste y Suroeste, del Valle de México donde r = poblaciones estudiadas y c = alelos y genotipos observados, se obtuvo una tabla de contingencia de $r \times c$; el valor obtenido de $\chi^2 = 65.49$, no mostró diferencia significativa en la comparación de las poblaciones, de acuerdo con el del valor crítico de tablas (67.50 p 0.05, 50 g.l.). Esta prueba también nos indicó que las muestras pertenecientes a los individuos de las cuatro poblaciones comparadas no se desviaron del equilibrio Hardy-Weinberg para este locus, mostrando una homogeneidad aparente en las frecuencias alélicas y genotípicas en las cuatro poblaciones. En la **gráfica 4** se aprecia la comparación de los alelos observados en cada zona geográfica.

De la subdivisión hecha durante el análisis de datos, se compararon 8 grupos poblacionales elegidos del D. F. y Estado de México. El valor de H corregido del análisis de varianza de Kruskal-Wallis de los alelos ($H=0.25$) y genotipos ($H=5.40$) del locus $HLA-DQ\alpha$ no mostró una diferencia significativa respecto al valor crítico de $H\alpha 0.05$, 7 g. l. = 14.067, no rechazando la hipótesis de homogeneidad entre los grupos.

GRAFICA 4.- COMPARACION GRAFICA DE LOS ALELOS OBSERVADOS EN EL LOCUS HLA-DQ alfa EN LOS GRUPOS GENERALES EN QUE FUE DIVIDIDA LA MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO.



Al comparar tan solo tres grupos poblacionales, los valores corregidos de H no rechazaron los supuestos de homogeneidad entre los grupos, aún cuando el valor de $H=10.31$ de los genotipos de los grupos del Centro, Tlalpan y Xochimilco, se encontro en el limite de rechazo de la hipótesis de homogeneidad intergrupar, del valor crítico de $H_{\alpha}0.05, 2 \text{ g.l.} = 10.597$. Con éstos valores se establece que los 8 grupos poblacionales del D.F. y Estado de México no presentan gran variación en el locus HLA-DQ α , no existiendo diferencias intergrupales. Sin embargo es importante señalar que en el grupo del Centro, aún cuando su número fue muy reducido, no fue posible identificar la presencia del alelo 1.3 y por ende no se observaron los genotipos asociados a este alelo como son los genotipos 1.2, 1.3; 1.3, 1.3; 1.3, 2; 1.3, 3 y 1.3, 4. Las frecuencias de los alelos restantes en todos los grupos estudiados se comportan en proporción, de una manera similar a la distribución observada en la población general.

Las frecuencias alélicas de la población de Tabasco (Gorodezky, 1990) fueron comparadas con los datos observados en las poblaciones de las cuatro zonas del Valle de México. De acuerdo al valor de $\chi^2 = 120.39$, denota una diferencia notable entre la población de Tabasco y las poblaciones en las que fue dividida el Valle México.

Las frecuencias alélicas de la población total del Valle de México fueron comparadas con las frecuencias alélicas y genotípicas observadas en diferentes poblaciones (**tabla 7**). Estas comparaciones muestran una notable diferencia en las frecuencias alélicas de los países europeos y grupos caucasoides de Estados Unidos respecto a la población del Valle de México. (**gráfico 5**). Sin embargo entre los grupos europeos así como los grupos caucasicos americanos presentan una gran similitud respecto a este locus. Al respecto es de importancia señalar que las frecuencias presentadas en los grupos tanto europeos y caucásicos de Estados Unidos son representativas de poblaciones totales en las cuales no se considera la distribución y el origen de las poblaciones. La comparación de las frecuencias alélicas HLA-DQ α entre la población del Valle de México y de otros países, son analizadas en la **tabla 8**, notandose diferencias en las frecuencias de estos alelos entre las poblaciones mundiales.

GRAFICA 5.-COMPARACION DE LAS FRECUENCIAS DE LOS ALELOS HLADQ ALFA ENTRE DIFERENTES GRUPOS POBLACIONALES.

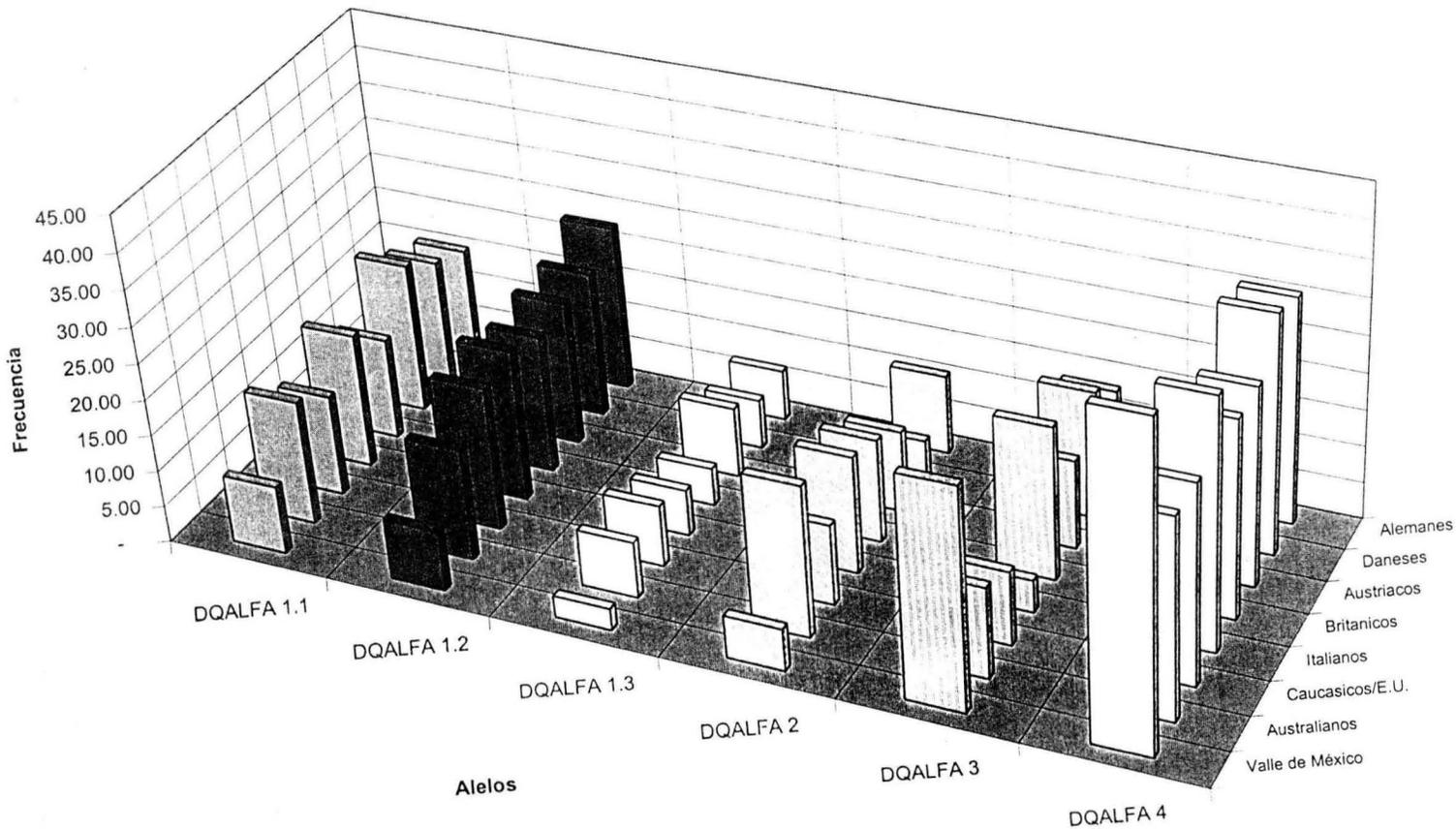


TABLA 7. Valor obtenido de las pruebas de χ^2 al analizar los alelos HLADQ- α identificados en la población del Valle de México y comparados con diferentes grupos poblacionales del mundo.

Población	χ^2
México/Alemania	52.86
México/Filandia	29.32
México/Daneses	63.19
México/G. B	157.49
México/Caucasicos E. U.	86.15
México/Austria	69.78
México/Barcelona	154.72

χ^2 0.01; 5 g. l.=15.19

*** Valores tomados de Ambach et al 1996, Huguet et al 1993.

Tabla 8. Valores reportados de las frecuencias de los alelos HLADQ- α en diferentes poblaciones. Se incluyen los valores observados en la población del Valle de México. Puede observarse que los grupos de Alaska, presentan frecuencias muy similares de algunos alelos observados en la población del Valle de México.

Poblacion	Allelos HLADQ alfa						n
	1.1	1.2	1.3	2	3	4	
Alemanes	0.1541	0.2296	0.0920	0.1085	0.1352	0.3082	159
Daneses	0.1740	0.2010	0.0670	0.0580	0.1740	0.3260	157
Barcelona Esp.	0.1432	0.1657	0.0983	0.1235	0.1235	0.3455	356
Inupiaq	0.1470	0.0490	0.0150	0.0150	0.3380	0.4860	
Yupik	0.0300	0.0090	0.0000	0.0000	0.3830	0.5780	
Caucasicos/E.U.	0.1378	0.1975	0.0837	0.1095	0.1000	0.2702	826
Austriacos	0.1706	0.1529	0.0765	0.2059	0.1235	0.2706	170
Filandeses	0.2070	0.1980	0.0960	0.1120	0.1210	0.2700	112
Afroamericanos	0.1170	0.3140	0.0550	0.0970	0.0790	0.3380	145
Britanicos	0.1390	0.1890	0.0520	0.1420	0.2090	0.2690	402
Italianos	0.1845	0.2087	0.0631	0.1602	0.0437	0.3398	113
Caucasicos	0.1220	0.1760	0.0410	0.1180	0.2160	0.3280	148
Hispanos se	0.1810	0.1540	0.0800	0.1600	0.1910	0.2340	94
Hispanos so	0.1410	0.1350	0.0310	0.0940	0.2290	0.3700	96
Valle de México	0.0938	0.0821	0.0293	0.0575	0.3000	0.4366	444

*** Valores tomados de Ambach et al 1996, Budowle et al 1995, Huguet et al 1993

SISTEMA POLYMARKER.

Los resultados en el sistema Polymarker fueron obtenidos por la hibridación de los productos amplificados con los 5 marcadores genéticos: Receptores de Lipoproteínas de Baja Densidad (LDLR) presentando los alelos A y B e identificando 3 genotipos; Glicoforina "A" presentando los alelos A y B e identificando 3 genotipos; Hemoglobina Gammaglobinas presentando los alelos A, B y C e identificándose 5 genotipos; D7S8 presentando los alelos A y B e identificando 3 genotipos y por último el marcador GC con 3 alelos, A, B y C y observando la presencia de 6 genotipos.

Con éstos 5 marcadores independientes de éste sistema de prueba, se identifican 12 alelos y 21 genotipos, de los cuales fueron plenamente identificados en una población de 422 residentes de la población del Valle de México, 12 alelos pero sólo se observaron 20 genotipos, no pudiéndose observar el genotipo CC del marcador HBGG. (Tabla 9, Gráficas 6 y 7)

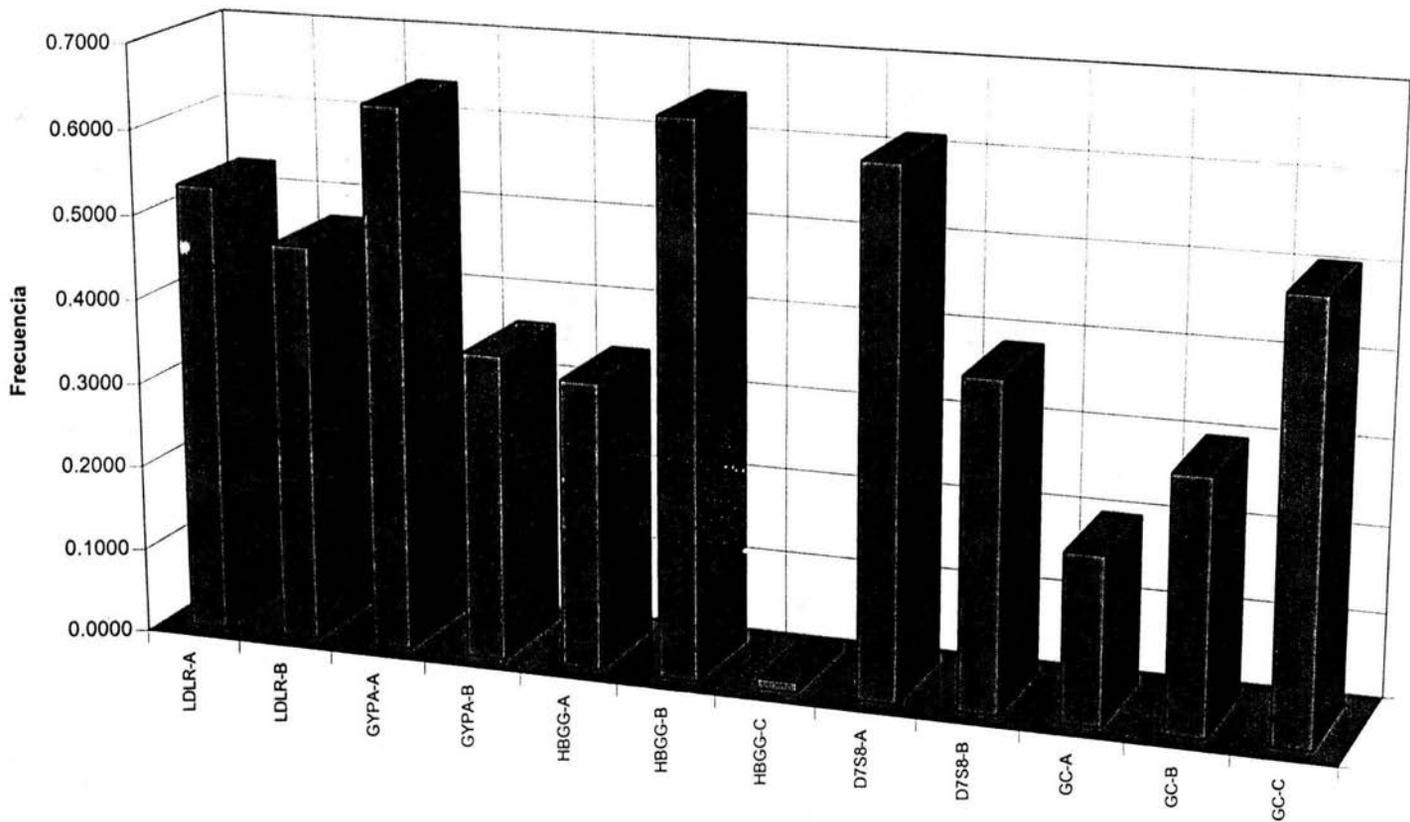
Tabla 9. Frecuencia de los genotipos observados de los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, del sistema POLYMARKER en la población del Valle de México. No se observó el genotipo CC del marcador HBGG.

Genotipo	Frecuencia	Genotipo	Frecuencia	Genotipo	Frecuencia
LDLR-AA	0.292	HBGG-AB	0.442	D7S8-BB	0.144
LDLR-AB	0.497	HBGG-BB	0.423	GC-AA	0.040
LDLR-BB	0.212	HBGG-AC	0.007	GC-AB	0.120
GYPA-AA	0.436	HBGG-BC	0.013	GC-BB	0.090
GYPA-AB	0.449	HBGG-CC	0.000	GC-AC	0.200
GYPA-BB	0.116	D7S8-AA	0.384	GC-BC	0.300
HBGG-AA	0.116	D7S8-AB	0.471	GC-CC	0.250

Como puede verse para el marcador genético LDLR los alelos A y B se observan con frecuencias muy similares, no obstante para los marcadores GYPA y D7S8 la frecuencia del alelo A es mayor (≥ 0.6) que el alelo B (< 0.4). Respecto al marcador genético HBGG, la frecuencia mayor es observada para el alelo B (0.64) y el alelo C apenas llega a presentar una frecuencia de 0.01. El genotipo HBGG-CC no fue observado en la población estudiada y el alelo C se identificó asociado a los alelos A y B. Para el marcador genético GC se puede visualizar una mayor variabilidad, pues los tres alelos se observan en frecuencias superiores a 0.2. (Gráficas 6 y 7)

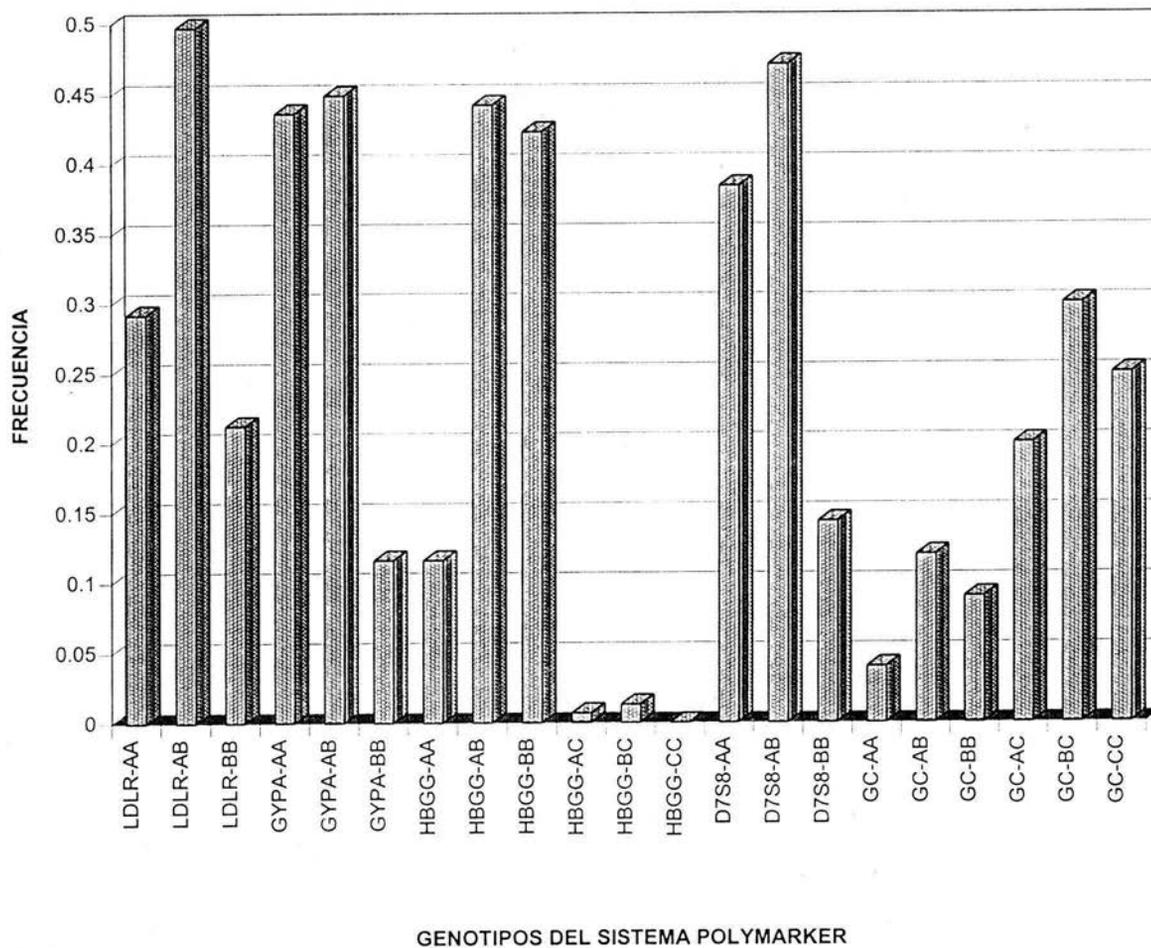
Al observar la distribución de los 20 genotipos identificados con los 5 marcadores en la población del Valle de México se puede notar que la aparición de genotipos heterocigotos fue mayor a la

GRAFICA 6. DISTRIBUCION DE LAS FRECUENCIAS ALElicas DE LOS CINCO MARCADORES DEL SISTEMA POLYMARKER EN LA POBLACION DEL VALLE DE MEXICO.



Marcadores alélicos del sistema POLYMARKER.

GRAFICA 7.- FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS DE LOS MARCADORES DEL SISTEMA POLYMARKER OBSERVADOS EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO.



observada en los homocigotos. En el caso de los marcadores GYPA y D7S8 los heterocigotos AB observados fueron aproximadamente igual a los homocigotos AA (**gráfica 6**). Con relación al marcador HBGG los genotipos AB y BB son observados con una frecuencia superior al 0.4; los genotipos AC y BC los cuales están asociados al alelo C, se observaron con una frecuencia muy baja, 0.007 y 0.013 respectivamente; como se ha mencionado el genotipo CC no se identificó. Del marcador GC se pudieron identificar los 6 genotipos cuyas frecuencias oscilan entre 0.04 para GC-AA que es la frecuencia más baja, hasta 0.3 que es la frecuencia que presenta el genotipo GC-BC. (**Tabla 9**)

Al realizar la prueba de χ^2 a cada uno de los marcadores genéticos en la población general y comparado con los valores críticos de $\chi^2_{\alpha_{0.05}}$ g.l. se observó que éstos se mantienen en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg, éste es, la hipótesis de homogeneidad en la población no fue rechazada. (**tabla 10**)

Tabla 10. Valores obtenidos de la prueba de χ^2 en los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, del sistema POLYMARKER, en la población del Valle de México.

Marcador	χ^2 Población General	$\chi^2_{\alpha_{0.05}}$ g.l
LDLR	1.61	5.99 $\alpha_{0.05}$ 2 g.l
GYPA	2.91	5.99 $\alpha_{0.05}$ 2 g.l
HBGG	7.12	11.07 $\alpha_{0.05}$ 5 g.l
D7S8	0.03	5.99 $\alpha_{0.05}$ 2 g.l
GC	7.12	11.07 $\alpha_{0.05}$ 5 g.l

El valor de heterocigotos determinado por $h=2n(1-\sum x_i^2)/(2n-1)$, para cada uno de los loci del sistema polymarker en los 422 individuos se muestra en la **tabla 11**.

El poder de discriminación "PD", esto es la probabilidad de que dos individuos al azar de una población dada tengan diferentes genotipos se calculo usando la formula $PD=1-\sum_{i=1}^n p_i^2$, el valor de la PD para los loci estudiados puede apreciarse en la **tabla 12**.

Los valores de PD y h fueron comparados con los mismos valores observados en poblaciones europeas y caucasicas de Estados Unidos (**tabla 12**).

Tabla 11. Valores de Poder de Discriminación, Rango de Homocigocidad y Homocigocidad obtenidos de los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC del sistema POLYMARKER, en una muestra de la población del Valle de México.

Marcador	PD	Rango de Homocigocidad	h
LDLR	0.6235	0.50	0.49
GYP A	0.5956	0.55	0.44
HBGG	0.6126	0.53	0.46
D7S8	0.6095	0.52	0.47
GC	0.7834	0.37	0.62

Tabla 12. Comparación de los valores de Poder de discriminación determinado en distintas poblaciones en los marcadores genéticos del sistema POLYMARKER. Se incluyen los valores observados en la población del Valle de México.

Población	POLYMARKER				
	LDLR	GYP A	HBGG	D7S8	GC
	Poder de Discriminación (PD)				
Hispano Suroeste	0.491	0.451	0.508	0.432	0.612
Hispano Sureste	0.485	0.498	0.517	0.484	0.623
Cucasicos	0.495	0.486	0.504	0.473	0.578
Afroamericanos	0.347	0.499	0.616	0.474	0.533
Coimbra	0.620	0.621	0.649	0.620	0.765
España	0.621	0.625	0.613	0.619	0.752
Galicia	0.614	0.625	0.631	0.21	0.764
Valle de México	0.623	0.595	0.612	0.609	0.783

*** Datos tomados de Budowle et al 1995, Rodriguez-Calvo et al 1996

Al hacer las comparaciones de las 4 zonas de estudio en las que fue dividida la población del Valle de México, considerando muestras poblacionales independientes, las zonas Noroeste, Noreste, Suroeste y Sureste, los valores observados de χ^2 para cada uno de los marcadores genéticos independientes, no mostraron diferencias significativas entre las poblaciones (Tabla 13). En el gráfico 8 se observa la distribución alélica de éstos marcadores en las cuatro zonas geográficas del Valle de México. En los resultados de la tabla 13 nos indican que la población se encuentra en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg, por lo que no se rechaza la hipótesis de homogeneidad entre las poblaciones analizadas

ESTADÍSTICA DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS ALLOS DEL SISTEMA POLYMARKER EN LA POBLACION DEL VALLE DE MEXICO.
 FUE DIVIDIDA LA POBLACION DEL VALLE DE MEXICO.

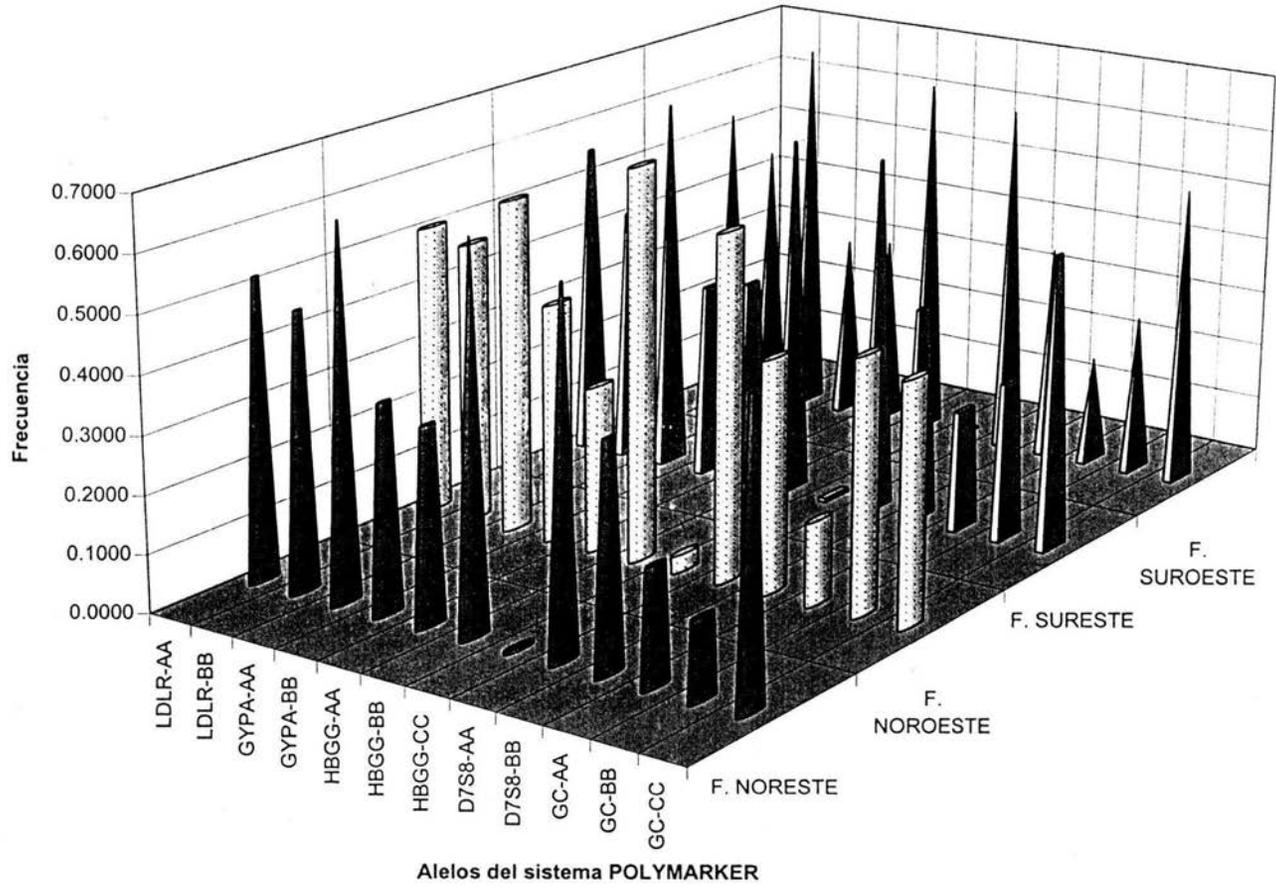


Tabla 13. Valores obtenidos de la prueba de χ^2 de los genotipos de los marcadores del sistema POLYMARKER, en las cuatro poblaciones en que fue dividida la población del Valle de México.

Población	POLYMARKER				
	LDLR	GYPA	HBGG	D7S8	GC
Valle de México	χ^2	χ^2	χ^2	χ^2	χ^2
NE, NO, SE, SO, C*	6.52	3.76	14.568	2.68	23.02
	$\chi^2=12.592$; p0.05, 6 g.l.	$\chi^2=12.592$; p0.05, 6 g.l.	$\chi^2=24.966$; p0.05, 15 g.l.	$\chi^2=12.592$; p0.05, 6 g.l.	$\chi^2=24.966$; p0.05, 15 g.l.

NOTA (*) Los símbolos representan las ubicaciones Noreste, Noroeste, Sureste, Suroeste y Centro.

De la subdivisión hecha durante el análisis de datos, se compararon 7 grupos poblacionales del D.F. y del Estado de México. El valor corregido de H del análisis de varianza de Kruskal-Wallis de los genotipos observados ($h=16.658$) en el sistema de prueba, mostró una diferencia significativa del valor crítico de $H=14.067$ $\alpha_{0.05}$ 7 g.l., y aún con un nivel de significancia de $\alpha_{0.025}$ 7g.l.= 16.013, se rechaza el supuesto de homogeneidad entre los genotipos de los grupos comparados, estableciendo diferencias entre éstos para éstos sistemas de prueba.

Aquí se puede hacer mención que los genotipos HBGG-BC y HBGG-AC sólo se observaron en los grupos de Tlalpan, Xochimilco y Gustavo A. Madero determinándose en éste último grupo, el genotipo HBGG-AC. Así mismo el genotipo GC-AA no fue observado en éstos mismos grupos. El genotipo GC-BB tampoco se identificó en el grupo del Centro.

Si bien el primer análisis de varianza aplicado en éste sistema de prueba puso de manifiesto diferencias entre los 7 grupos humanos comparados, el análisis de comparación múltiple, nos indicó diferencias entre las medias de éstos grupos. Después de aplicar la prueba de Kruskal-Wallis, el procedimiento de Dunn (1964), para observar en que grupos se presentaban diferencias en las medias de los grupos, los datos arrojaron los siguientes resultados:

De las comparaciones del grupo de Tlalpan con los grupos restantes, se comprobó que no existen diferencias entre Tlalpan y Xochimilco, Tlalpan y GAM así como Tlalpan e Iztapalapa, mostrando diferencias Tlalpan con los grupos del Centro, Ecatepec y Nezahualcoyotl.

De las comparaciones del grupo del Centro no exhibió diferencia con el grupo de GAM, si mostrándose éstas con los grupos de Xochimilco, Ecatepec, Nezahualcoyotl e Iztapalapa

De las comparaciones del grupo de Xochimilco, no se observaron diferencias con los grupos de Tlalpan y GAM, si mostrandolas con los grupos del Centro, Ecatepec, Nezahualcoyotl e Iztapalapa.

De las comparaciones del grupo de **Ecatepec**, sólo con el grupo de Nezahualcoyotl no se observaron diferencias, sin embargo sí se observan con los grupos restantes.

De las comparaciones del grupo de **Gustavo A. Madero** si se observaron diferencias con los grupos de Ecatepec, Nezahualcoyotl e Iztapalapa, no mostrándose éstas con los grupos de Xochimilco, Tlalpan y del Centro

De las comparaciones del grupo de **Nezahualcoyotl**, no se observaron diferencias con el grupo de Ecatepec si observándose ésta con los grupos restantes.

De la comparación del grupo de **Iztapalapa**, sólo con el grupo de Tlalpan no mostró diferencias, observándose éstas con los grupos restantes. (Tabla 14 y fig. 4)

Tabla 14. Comparación de medias de los subgrupos analizados en la población del Valle de México. Se analizaron los genotipos de los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, presentes en cada uno de los grupos poblacionales.

Comparación	Error Estandar	$Q = R_B - R_A / SE$	$Q_{0.05, 7 g.l}$	Observaciones
Tlal/Centro	12.24	3.094	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Tlal/Xochimilco	12.075	1.798	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Tlal/Ecatepec	12.075	7.885	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Tlal/GAM	12.075	0.279	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Tlal/Neza	12.075	10.438	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Tlal/Iztapalapa	12.075	9.593	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Cto/Xochimilco	12.24	1.295	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Cto/Ecatepec	12.24	4.716	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Cto/GAM	12.24	2.817	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Cto/Neza	12.24	7.31	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Cto/Iztapalapa	12.24	12.71	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Xochi/Ecatepec	12.075	6.012	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Xochi/GAM	12.075	1.522	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Xochi/Neza	12.075	8.540	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Xochi/Iztapalapa	12.075	11.300	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Ecatepec/GAM	12.075	7.606	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Ecatepec/Neza	12.075	2.55	3.038	No se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Ecatepec/Iztap	12.075	17.479	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
GAM/Neza	12.075	10.158	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
GAM/Iztapalapa	12.075	9.87	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad
Neza/ Iztapalapa	12.075	20.031	3.038	Se rechaza Hipotesis de Homogeneidad

Regla de decisión: $H_0 = H_A$ cuando $Q = R_B - R_A / SE$ (Dif. de medias) $\leq Q_{0.05, 7 g.l}$

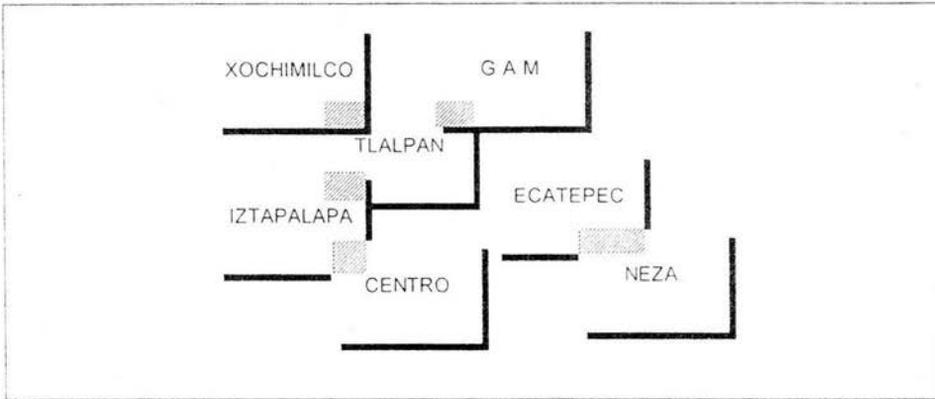


Figura 4. Representación gráfica de la interacción de los genotipos del sistema POLYMARKER observada en siete grupos pertenecientes al Valle de México. Las barras diagonales esquematizan la homogeneidad aparente entre los grupos humanos representativos de cada zona de acuerdo a los genotipos observados en este sistema de prueba.

Una vez analizadas las diferencias entre los grupos que componen una parte del Valle de México, se procedió a analizar una porción de ésta con poblaciones extranjeras, aplicando la prueba de χ^2 entre la población del Valle de México con las poblaciones de España, Hispanos del Sureste, Suroeste, Caucásicos y Afroamericanos de Estados Unidos. Los resultados se presentan en la **tabla 15**.

Tabla 15. Comparación de los valores obtenidos de los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC en la población del Valle de México (VM) con poblaciones mundiales.

Poblaciones	LDLR	GYPA	HBGG	D7S8	GC
	χ^2	χ^2	χ^2	χ^2	χ^2
VM/Afroamericanos	55.77	19.62	124.62	0.678	96.01
VM/Caucasicos	10.27	4.68	11.30	0.073	15.07
VM/Hisp. sureste	7.63	12.00	8.83*	1.03	7.96
VM/Hisp. Suroeste	1.65	4.00	8.57*	1.89	7.22
VM España	8.059	13.81	16.99*	1.59	60.30
χ^2	5.99 $\alpha_{0.05} 2 g.l$	5.99 $\alpha_{0.05} 2 g.l$	11.07 $\alpha_{0.05} 5 g.l$	5.99 $\alpha_{0.05} 2 g.l$	11.07 $\alpha_{0.05} 5 g.l$
			*9.48 $\alpha_{0.05} 4 g.l$		

*** Los valores de poblaciones mundiales fueron tomados de Rodríguez-Calvo et al 1996, Budowle et al 1995

De éstos resultados se desprende lo siguiente:

Para el marcador **LDLR** se rechaza la hipótesis de homogeneidad entre Zona Metropolitana con las poblaciones de Afroamericanos, Caucásicos, Hispanos del Sureste y la población española. Para la población del Valle de México y los hispanos del Suroeste, no se observaron diferencias, aceptandose la hipótesis de poblaciones homogéneas.

Para el marcador **GYPA**, se rechaza la hipótesis de homogeneidad entre las poblaciones del Valle de México y Afroamericanos, Hispanos del Sureste y población española.

Los valores de χ^2 obtenidos en las poblaciones con Caucásicos e hispanos del Suroeste de los Estados Unidos, no rechazan la hipótesis de homogeneidad, encontrándose que éstas poblaciones para éste marcador, no son distintas a las observadas en la población del Valle de México.

Para el marcador **HBGG**, las poblaciones Afroamericanas, Caucásicas y población española, muestran diferencias, sin embargo la hipótesis de homogeneidad no pudo rechazarse con las poblaciones de Hispanos del Sureste y Suroeste de Estados Unidos respecto a la población del Valle de México.

En cuanto al marcador **D7S8** ninguno de los valores obtenidos de χ^2 fueron rechazados, aceptándose la hipótesis de homogeneidad en todas las poblaciones comparadas para éste marcador. En el marcador GC nuevamente se rechazó la hipótesis de homogeneidad con las poblaciones de Afroamericanos, Caucásicos y españoles. Los valores obtenidos de la prueba de χ^2 en las poblaciones del Sureste y Suroeste de Estados Unidos, no rechazaron la hipótesis de Homogeneidad, considerándose homogéneas con la población del Valle de México.

La comparación de las frecuencias de los alelos de los marcadores de la población estudiada del Valle de México y la observada en otros países, son analizadas en la **tabla 16**, notándose diferencias en las frecuencias establecidas anteriormente (los grupos de Inupiaq y Yupik no fueron considerados para la prueba de χ^2).

Tabla 16. Comparación de las frecuencias de los alelos de los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, del sistema POLYMARKER, de distintas poblaciones mundiales. Se incluyen los valores obtenidos de la población del Valle de México.

Alelos	Valle México	Inupiaq	Yupik	Afroamer.	Caucasicos	Hisp. SE	Hisp. SO	Galici	España	Combra
LDLR-AA	0.5308	0.5520	0.616	0.224	0.453	0.415	0.563	0.399	0.439	0.433
LDLR-BB	0.4691	0.4480	0.384	0.776	0.547	0.583	0.438	0.601	0.561	0.567
GYPA-AA	0.6398	0.7920	0.629	0.479	0.584	0.532	0.656	0.483	0.508	0.559
GYPA-BB	0.3601	0.2080	0.371	0.521	0.416	0.468	0.344	0.517	0.492	0.441
HBGG-AA	0.3388	0.1770	0.156	0.507	0.470	0.426	0.344	0.519	0.477	0.479
HBGG-BB	0.6492	0.8230	0.844	0.197	0.524	0.548	0.609	0.399	0.519	0.504
HBGG-CC	0.0118	0.0000	0.000	0.297	0.007	0.027	0.047	0.010	0.004	0.017
D7S8-AA	0.6149	0.5680	0.558	0.614	0.615	0.585	0.682	0.559	0.576	0.571
D7S8-BB	0.3850	0.4320	0.442	0.386	0.385	0.415	0.318	0.441	0.424	0.429
GC-AA	0.1978	0.2810	0.299	0.103	0.257	0.277	0.271	0.276	0.277	0.353
GC-BB	0.2973	0.2810	0.326	0.707	0.172	0.223	0.208	0.175	0.155	0.147
GC-CC	0.5047	0.4380	0.375	0.190	0.571	0.500	0.521	0.549	0.568	0.500

*** Datos tomados de Rodriguez-Calvo et al 1996, Ambach et al 1996, Scholl et al 1996

SISTEMA D1S80

Para la determinación de las bandas de amplificación del locus D1S80, se aplicó la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), con la finalidad de visualizar los alelos con mayor nitidez. La designación de los alelos se hizo por comparación de las muestras con un control conocido como *ladder* el cual presenta un patrón de 27 alelos conocidos. De acuerdo al desarrollo de la electroforesis, hubo ocasiones en que se apreciaron bandas adicionales a los productos de amplificación (bandas inespecíficas ocasionadas por formación de dímeros de los iniciadores o productos heterogéneos), los cuales fueron de baja nitidez y un peso molecular más alto que el de los fragmentos amplificados del locus, esto es, se observaron fuera del rango de corrimiento del patrón o *ladder*. (Figura 3)

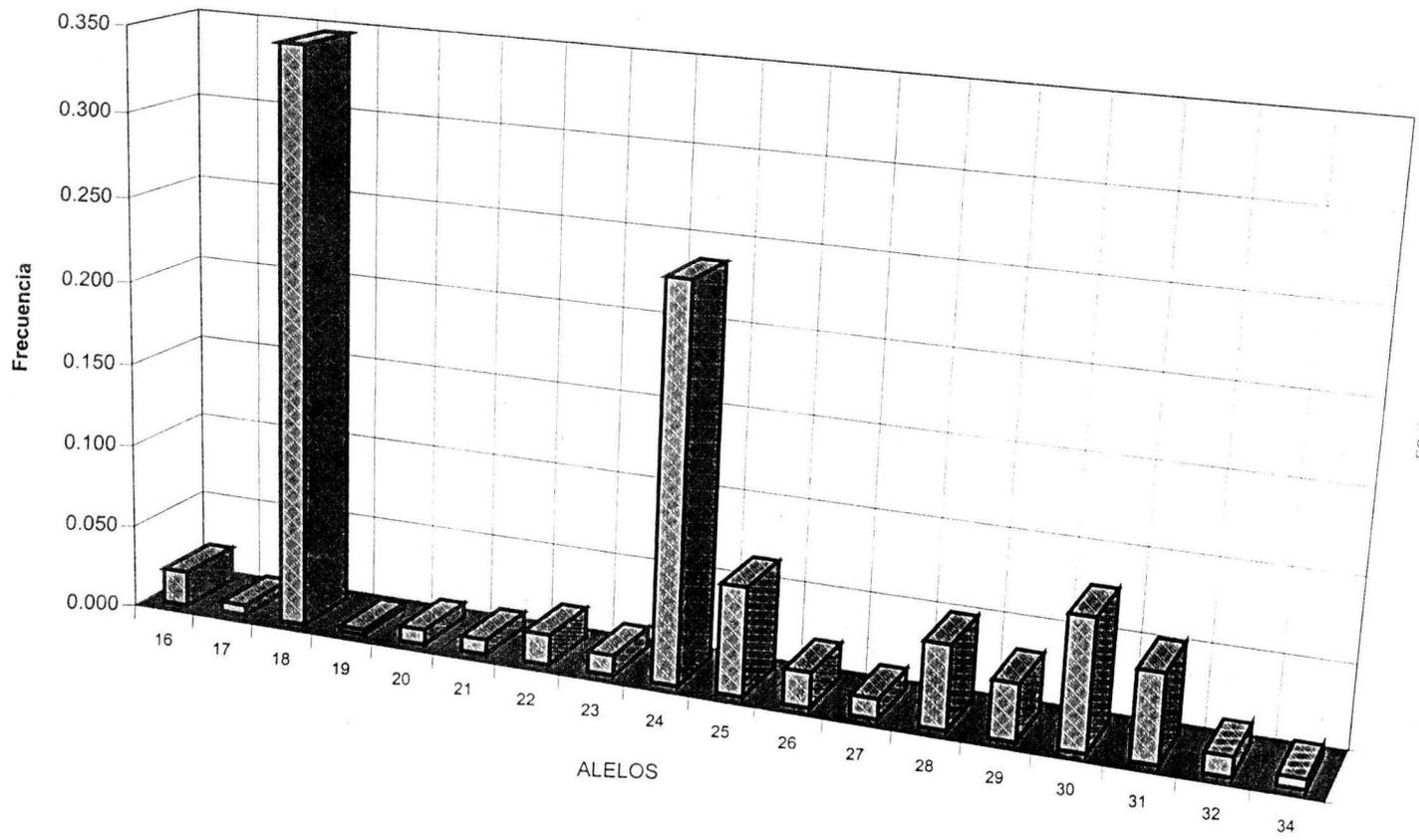
El proceso de amplificación se vió inhibido cuando no se manejó una concentración adecuada de ADN, observándose éste fenómeno como una banda al principio de la zona de aplicación del gel, cuando la cantidad supero los rangos indicados, o en ocasiones no se observaron bandas, cuando la cantidad de ADN fue menor que la requerida para la amplificación.

Con éste sistema de prueba se han reportado 29 alelos en diversos estudios poblacionales, identificándose en muy baja frecuencia el alelo 14 y en pocas poblaciones. En el presente estudio para la población del Valle de México sólo se reportan los genotipos de 160 individuos en los cuales se pudieron identificar 19 de los 29 alelos posibles para éste sistema de prueba, representativos de toda la población estudiada (**gráfica 9**)

De la tipificación hecha se desprende que los alelos más frecuentes en el locus D1S80 de la población del Valle de México son los siguientes alelos: 18, 24 y 30, siendo los menos frecuentes los alelos: 19, 34 y 35, y por otro lado los alelos 14, 36, 37, 38, 39, 40, 41 y mayor de 41 no fueron observados en la población estudiada del Valle de México.

En teoría las combinaciones de éstos 19 alelos observados darían un total de 190 genotipos: 171 heterocigotos y 19 homocigotos. Sin embargo en los 160 individuos tipificados en la población del Valle de México, se observaron 49 genotipos, de los cuales 39 genotipos son heterocigotos y 10 genotipos son homocigotos. (**Tabla 17**). De éstos los genotipos más frecuentes en la población estudiada son los siguientes: 18,18, 18,24 y 24,24.

GRAFICA 9.- FRECUENCIAS ALElicas DEL MARCADOR D1S80 EN UNA MUESTRA POBLACIONAL DEL VALLE DE MEXICO.



56,2

Tabla 17. Frecuencias observadas de los genotipos del locus *DIS80* en la población del Valle de México.

Genotipos	Frecuencia n=160	Genotipos	Frecuencia n=160
16,16	0.006	24,24	0.620
16,18	0.025	24,25	0.032
16,28	0.006	24,26	0.006
17,17	0.006	24,27	0.012
18,18	0.168	24,28	0.025
18,20	0.018	24,29	0.018
18,21	0.006	24,30	0.037
18,23	0.006	24,31	0.025
18,24	0.137	24,32	0.012
18,25	0.025	24,35	0.006
18,27	0.012	25,25	0.012
18,28	0.012	25,28	0.006
18,29	0.006	25,30	0.019
18,30	0.056	25,31	0.025
18,31	0.025	26,26	0.012
18,32	0.012	26,30	0.012
19,29	0.006	28,29	0.012
21,24	0.012	28,30	0.012
21,31	0.000	28,31	0.006
22,24	0.025	28,34	0.006
22,28	0.006	29,29	0.006
22,31	0.006	29,31	0.006
23,23	0.006	30,30	0.006
23,29	0.006	30,34	0.006
		31,31	0.006

Para el análisis del sistema *DIS80* sólo se aplicó el estadístico de χ^2 , en este marcador no se compararon poblaciones debido al número reducido de muestras tipificadas, los análisis de varianza se han dejado de lado programandolo para posteriores estudios. Sin embargo, si se pudo establecer las frecuencias alélicas y genotípicas observadas en la población estudiada. El valor obtenido de χ^2 (16.38) vs χ^2 p 0.05 18 g.l.(28.87) nos indica que la población del Valle de México se encuentra en equilibrio genético, de acuerdo a la ley Hardy-Weinberg.

Aún cuando no se realizaron comparaciones entre grupos representativos del Valle de México, sí es pertinente mencionar que de los alelos identificados en éste sistema de prueba en ésta población, la aparición de algunos de ellos se limitó a ciertas regiones, a manera de ejemplo el alelo 26 se identificó en la zona Norte del Valle de México, aclarando que éstas cifras no las hace representativa para una zona en particular ya que el número reducido de individuos y la falta de un análisis apropiado son una limitante para aseverar esta conclusión.

El Poder de Discriminación (PD) obtenido para este locus en la población del Valle de México es de PD=0.80 y el valor obtenido de heterocigotos (h) es h=0.80.

Se aplicó la prueba de χ^2 comparando la población del Valle de México con poblaciones Orientales, Hispanos del Sureste, Suroeste de Estados Unidos, Daneses así como un grupo poblacional de Brasil. Los valores obtenidos de χ^2 nos indicaron que la población estudiada en el Valle de México para el marcador D1S80, presenta diferencias con todas las poblaciones comparadas. (Tabla 18).

Tabla 18. Comparación de los valores obtenidos en el marcador D1S80 en la población del Valle de México contra diversas poblaciones mundiales.

Poblaciones	D1S80	
	Valor de χ^2	Valor crítico de χ^2
México/población Oriental	121.44	$\chi^2 = p0.05; 24 \text{ g. l.}$
México/Hispanos del Suroeste	102.34	$\chi^2 = p0.05; 25 \text{ g. l.}$
México/Hispanos del Sureste	123.41	$\chi^2 = p0.05; 25 \text{ g. l.}$
México/Brasil (Blancos)	74.90	$\chi^2 = p0.05; 21 \text{ g. l.}$
México/Daneses	86.23	$\chi^2 = p0.05; 21 \text{ g. l.}$

*** Datos tomados de Budowle et al 1996

DISCUSION .

GRUPO SANGUINEO Y ESTADO SECRETOR.

El análisis de los datos observados en la población del Valle de México, acerca de las frecuencias de grupos sanguíneos del sistema AB0, muestra que el grupo sanguíneo 0 es el más representativo de la población estudiada (78%), concordando con los datos previos obtenidos en este sistema para la ciudad de México (Lisker 1986). Sin embargo difieren de los datos obtenidos por Tiburcio et al. (1978) en los cuales el grupo sanguíneo A es el que se presenta con mayor frecuencia.

De acuerdo a los datos obtenidos en el Valle de México y tomando como referencia la tabla 5 en donde se marca la proporción de contribución de genes ancestrales AB0, el grupo indígena presenta una mayor contribución a la población mexicana del gen 0, con esto se explicaría la frecuencia tan elevada del fenotipo 0 en la población mexicana.

Como se reportó en las tablas 1 y 2 acerca de los individuos analizados en la población del Valle de México, el porcentaje de individuos que nacieron en el Distrito federal, así como sus padres, es muy elevado, y los individuos nacidos en alguna entidad federativa, es muy bajo, éstas entidades federativas son las mismas que han presentado la mayor tasa de migrantes hacia el D.F., y que en su mayoría, aún cuando no se presentan los datos obtenidos, pertenecen a un nivel socioeconómico de vida media.

Teniendo en cuenta que la población del Valle de México cuenta con aproximadamente 20 millones de habitantes y que esta población está socialmente estratificada, se puede pensar que los estudios efectuados por Tiburcio et al. (1978) fueron dirigidos hacia un sector representativo del grupo racial caucasoide, población no representativa de la media poblacional de la Ciudad de México.

Con los antecedentes descritos se pueden reafirmar dos cosas: en principio se reafirma lo propuesto por Lisker et al. (1985) acerca de las características del probable sector en donde fué dirigido el análisis de grupo sanguíneo, el cual pertenece a un número privilegiado de individuos de un sector económicamente alto, en cuyo sector se pueden encontrar ancestros caucásicos, y por otro lado de acuerdo a Lisker et al. (1996) los resultados obtenidos indican que las frecuencias de los grupos sanguíneos en el sistema ABO identificados en el Valle de México: A (17%), B (9%), O (71%) y AB (1.7%) son representativos de la población mestiza del Valle de México.

Respecto al análisis de antígenos ABO presentes en saliva (fluido biológico), se pudo determinar que en esta fuente de análisis fué posible establecer el estado secretor de antígenos ABO en la población del Valle de México. Así se observó que el 97.6 % de los individuos analizados son secretores de estos antígenos en sus fluidos corporales, y el 2.4% no son secretores de éstas sustancias.

Estos mismos datos significan que aproximadamente el 98% de la población estudiada presenta el gen **Se**, ya sea en su forma de genotipo **SeSe** o **Sese**, el cual ejerce una función secretora de los antígenos en los fluidos, y el 2% de la población, presenta el gen **se** solo en la forma del genotipo **sese**, el cual no ejerce función secretora.

Aún cuando son pocos los datos acerca del estado secretor reportado en las poblaciones mundiales, los estudios piloto en análisis forense demuestran que la fuente para determinar el estado secretor es muy variado y en casi el 100% de las muestras analizadas, se presenta el estado secretor (**gen Se**).(Garg 1983)

Así tenemos que la determinación hecha en el Valle de México acerca del estado secretor de antígenos ABO en fluidos (97.8% secretores), no varía con las determinaciones hechas en el Distrito Federal (98% secretores) y con algunas poblaciones extranjeras (100% secretores) (Garg 1983)

SISTEMA GENÉTICO HLA-DQ α .

De acuerdo con la nomenclatura adoptada por la OMS y el Comité de Nomenclatura del HLA, (Bodmer et al 1990), el locus HLA-DQ α se debe denominar HLA-DQ1, y por tanto la nomenclatura de los alelos, sigue las mismas bases establecidas por el Comité. Sin embargo por razones de simplicidad y entendimiento, los alelos manejados en el presente estudio, sólo se describen de acuerdo con las denominaciones alélicas sugeridas por Helmuth et al (1990).

Como se observó en los datos de la distribución y comportamiento de los alelos y genotipos HLA-DQ α ; los alelos más frecuentes en la población estudiada del Valle de México son los alelos 3 y 4, y por lo tanto se observó en mayor número los genotipos 3,4 (0.26), 4,4 (0.18), 3,3 (0.084) y la combinación de estos con los alelos menos frecuentes como son el genotipo 1,2,4, (0.089), 1,1,4 (0.077) y el 1,1,3 (0.056). Como ya se indicó el genotipo 1,3,1,3 no pudo ser detectado en la

población del Valle de México, aún así el repertorio que presenta esta población en el HLA-DQ α es muy variado pues se identificaron todos los alelos y un total de 20 genotipos.

Como se mencionó en el apartado de resultados, el valor de heterocigotos h observado en la población fue de $h=0.70$ y el valor del poder de discriminación fue de $PD=0.86$, estos valores demuestran la diversidad alélica que presenta la población para este sistema.

En cuanto a la variabilidad genética observada en algunos grupos poblacionales, ésta se ve incrementada de acuerdo al valor de heterocigotos obtenida en la población, cuanto más alto es un valor de h más variación alélica se presenta en un marcador (Ambach et al 1996, Nakamura et al 1987).

El análisis de comparación de alelos y genotipos nos indica que la población se encuentra en equilibrio genético de acuerdo a la ley de Hardy Weinberg, existiendo variación poco significativa en este locus para la población en general.

Para las divisiones poblacionales en las que fue fraccionada la población (Noreste, Sureste, Noroeste y Suroeste) y se compararon como grupos independientes, se observó que no hubo variación en alelos y genotipos observándose una homogeneidad poblacional para este locus. De aquí se desprenden dos consideraciones, por un lado las poblaciones se encuentran en equilibrio genético y la más importante de ellas, que la población del Valle de México no puede ser considerada como un conjunto de poblaciones genéticamente diferentes de acuerdo a los análisis de comparación y de varianza efectuado en este sistema genético. Estas aseveraciones están fundamentadas en los análisis de varianza efectuados en este locus comparando ocho subgrupos (Tlalpan, Iztapalapa, Centro, Xochimilco, GAM, Nezahualcoyotl, Ecatepec y Tlalnepantla) en los cuales no fue rechazada la hipótesis de homogeneidad y por lo tanto no se aplicó un estadístico que nos reportara diferencias entre estos subgrupos.

A pesar del gran flujo migratorio por parte de individuos de las entidades federativas del país hacia el Valle de México (Flores 1980) y el fenómeno que esto representaría en el grado de mezcla génica, aunado a la diferenciación socioeconómica que existe en una población cosmopolita como lo es el Valle de México, estas diferencias genéticas no son detectables con el marcador genético HLA-DQ α , de acuerdo al valor obtenido de Heterocigocidad, reafirmando que los grupos que conforman el Valle de México son considerados como una sola población en su sentido genético.

Si bien no son detectables las diferencias genéticas para el locus HLA-DQ α en la población que conforma el Valle de México, sí pudieron ser observadas al compararse la población del estado de

Tabasco (Erlich et al 1989) con la población del Valle de México. Cabe aclarar que la composición genética de la población de Tabasco presenta una gran influencia de grupos negroides (Lisker et al 1996), sin olvidar el predominio de la información genética indígena; estas características propias de los Estados cercanos a las costas así como Estados mineros en la época colonial, son las que repercuten en las variaciones genéticas de las poblaciones.

De esta forma surge la necesidad de tipificar el locus HLADQ α para cada uno de las poblaciones que conforman los estados de la República Mexicana, con la finalidad de caracterizar a las poblaciones y marcar las diferencias en el HLA-DQ α .

Ya que se pudieron detectar diferencias entre la población del Valle de México y la de Tabasco, es muy probable que se presenten diferencias y similitudes en el locus HLADQ α entre los diferentes grupos poblacionales del país. Este comportamiento en las diferencias de las frecuencias son analizados en este locus en poblaciones mundiales.

De esta manera en el análisis de los resultados se pudo identificar la presencia de los seis alelos HLADQ α en la población del Valle de México, encontrándose con mayor frecuencia los alelos 3 y 4.

Los trabajos mundiales en diferentes poblaciones nos reportan que los alelos 3 y 4 se encuentra presentes en todas ellas y las frecuencias de estos mismos varían notablemente entre grupos que aparentemente no se encuentran emparentados racialmente. Al respecto las frecuencias del alelo 4 observadas en las poblaciones de Yupik (0.578) e Inupiaq (0.486) en Alaska son mayores a las frecuencias observadas en este mismo alelo en los grupos caucásicos europeos (0.328) y americanos de Estados Unidos (0.27). También puede observarse que la frecuencia del alelo 4 observada en la población del Valle de México (0.436) es mayor a la observada en los grupos caucásicos y muy similar a las observadas en los grupos Afroamericanos(0.338) y a los Yupik (0.578) e Inupiaq (0.486) de Alaska.

En cuanto al alelo 3 se pudo observar que también está presente en todas las poblaciones detectándose un comportamiento similar al observado con el alelo 4. La frecuencia observada en el alelo 3 (0.30) en el Valle de México, es muy similar a las frecuencias observadas en los grupos de Alaska (0.33 y 0.38 respectivamente) y por el contrario contrasta con las bajas frecuencias de este mismo alelo en poblaciones caucásicas (0.1) y negroides (0.07). Es importante señalar que aún en los Hispanos del Suroeste de los Estados Unidos, el alelo 3 se presenta en una frecuencia de 0.229, siendo menor a la observada en la población del Valle de México, pudiéndose especular que la

población Hispana en Estados Unidos tiene un gran porcentaje de población mexicana que podría ser la que representa en su mayoría la frecuencia de este alelo en este grupo poblacional, sin considerar la presencia de diversos grupos latinos emigrados hacia ese país.

Para los alelos 1.1, 1.2, 1.3 y 2, los cuales fueron determinados en la población del Valle de México con frecuencia menor del 0.01, se puede observar que presentan semejanzas en las frecuencias observadas en otras poblaciones mundiales, al respecto las frecuencias observadas en el alelo 2, mayor del 0.01 en grupos caucasicos contrastan con la frecuencia de 0.05 detectada en el Valle de México y es muy similar con la frecuencia de 0.05 de este alelo en la población Danesa (Thymann et al 1993)

El mismo comportamiento se pudo observar para el alelo 1.1 y 1.2 en los cuales se observa una mayor semejanza de sus frecuencias con la población del Valle de México y los grupos de Alaska . En la población del Valle de México el alelo 1.3 se observo con una frecuencia del 0.02, proporción muy baja comparada con grupos Británicos (0.052), Finlandeses (0.096) y aún con Hispanos del Sureste de Estados Unidos (0.080). Aquí es importante señalar que la frecuencia del alelo 1.3 no fue identificado en la población de Yupik, en el grupo de Inupiaq la frecuencia de este alelo solo alcanza el 0.015. La frecuencia de presencia tan baja de este alelo nos podría explicar la ausencia del genotipo 1.3, 1.3 en algunas poblaciones mundiales, fenómeno que se observa en la población del Valle de México.

Los estudios realizados en grupos poblacionales españoles reportan diferencias alélicas y genotípicas entre los diversos grupos de ese país y aún con otras poblaciones extranjeras (Rodríguez-Calvo 1996). No debemos olvidar que la población española estuvo bajo el dominio de los moros (árabes) por mas de 4 siglos , aunado a este fenómeno también los conflictos presentes en ese país "aislaron" a algunos grupos poblacionales, estos factores evidentemente influyeron en el comportamiento genético poblacional.

Los datos tomados de Rodríguez et al (1996), representativos de la población española, no especifican qué porcentaje de individuos corresponden a cada región, en particular de este país europeo, asimismo no se indica el origen de los ancestros de la población analizada como se realizo en la población del Valle de México

Recordemos que la migración de la población española hacia América fue en su mayoría de la región de Andalucía, población que no ha sido estudiada genéticamente. Cabría esperar que al realizar un análisis de comparación del HLA-DQ α de esta población con la población mexicana las

diferencias podrían ser menores o no presentarse diferencia alguna. Al observarse las diferencias en las frecuencias del HLA-DQ α de las población española y del Valle de México, estas no están cercanamente emparentadas para este locus.

En cuanto a la breve comparación de las frecuencias observadas en el locus HLA-DQ α de los grupos de Alaska, con respecto a las del Valle de México se puede notar aún cuando no se realizo un analisis estadístico de homogeneidad que las frecuencias observadas en los alelos que conforman este locus son muy similares entre sí, no variando notablemente las frecuencias observadas en los alelos de este locus en estas poblaciones.

Tomando en cuenta este análisis, es pertinente destacar que es necesario realizar pruebas de comparación entre poblaciones orientales con las poblaciones de Alaska y del Valle de México, incluyendo a diferentes grupos poblacionales, con el fin de establecer si existe un parentesco con grupos mongoloides.

SISTEMA POLYMARKER.

El sistema POLYMARKER consta de cinco marcadores genéticos en los cuales es posible identificar 12 alelos y 21 genotipos. En la población del Valle de México se identificaron los 12 alelos y solo 20 genotipos, y como se ha reiterado, no se detectó la presencia del genotipo HBGG-CC.

En este sistema genético se pudieron observar ciertas variaciones desde la frecuencia de aparición de los alelos y genotipos en la población en general, hasta las diferencias observadas entre grupos poblacionales.

La presencia de estos 12 alelos distribuidos en la población nos marcan el alto polimorfismo que presenta la población cuando es analizada con este sistema de prueba.

La posible divergencia de acuerdo a la ley Hardy-Weinberg no fue probada cuando se aplico el estadístico de X^2 al comparar las cuatro poblaciones en las que fue dividido el Valle de México, con ésto se llega a una conclusión parcial respecto a la aparente homogeneidad entre los cuatro grupos poblacionales comparados. Sin embargo esta prueba no es muy útil cuando el número de poblaciones a comparar es mayor de 2, debido a la fuente de variación en el error asociado con la prueba, el cual aumenta de manera exponencial cuando se aumenta el número de poblaciones (Zar 1984).

Como el propósito inicial del presente trabajo se centró en la investigación de las posibles diferencias genéticas existentes en la población del Valle de México, una de las pruebas apropiadas para lograr tal propósito fue el análisis de varianza. Las divergencias genéticas en la población del Valle de México fueron probadas al realizar dicho análisis de varianza de los genotipos observados en los 7 grupos en los que fue dividido el Valle de México, encontrando diferencias muy marcadas entre estos grupos al rechazar la prueba de varianza, una posible homogeneidad entre los grupos poblacionales.

Aquí es importante mencionar que estas diferencias se encuentran marcadas entre casi todos los grupos .

La diversidad genética dentro de una región dada es consecuencia de la historia demográfica de la región incluyendo los efectos de localización geográfica, fluctuaciones en el número de pobladores y estructura social. Algunos estudios han revelado que las poblaciones son genéticamente más similares a otras, aún cuando morfológicamente no lo sean (Heidrich 1995, Chakraborty et al 1988).

En el caso de la población de México se citan como antecedentes lo siguiente:

Es en el periodo Cardenista (1934-1940) cuya política de recampesinización e impulso a la industrialización, promovieron la reconcentración de tierra en minifundios y la migración a las ciudades debido a la baja productividad del campo.

Hacia la decada de los 60's se registro un incremento considerable de la población migrante. En cuanto a la industrialización, ésta se concentró en algunos Estados de la República.

El D.F. y el Estado de México se vieron afectados por esta acelerada industrialización, aunado a este factor en el D. F. se concentra los principales centros de administración gubernamental y cultural, haciendolo más atractivo como centro de concentración urbana. Las principales oleadas de migrantes estaban compuestas de gente campesina que llegaba a la ciudad en busca de mejoras económicas, por lo cual se asentaron principalmente en los alrededores de las zonas industriales (Flores 1980,)

Para el Estado de México las principales zonas industriales, así como las más densamente pobladas a partir de los 60's fueron Nezahualcoyotl, Tultitlán, Toluca, Naucalpan, Cuautitlán, Ecatepec, entre otros, algunos de estos municipios cercanos al D. F. conforman lo que se ha denominado zona conurbada y se considera dentro del Valle de México (Flores 1980).

Lo anteriormente expuesto ha puesto de manifiesto que la población del Valle de México esta compuesta por un mosaico de individuos que han migrado de diferentes entidades federativas estableciéndose de acuerdo a sus posibilidades económica en diversos puntos acorde a sus actividades. Esta distribución condicionada por estos factores puede ser una fuente de variación genética observada en los grupos analizados del Valle de México y explicaría en parte la diversidad alélica que presenta la población al menos son observables en la frecuencia de los marcadores del sistema Polymarker.

Aún cuando estos datos podrían ser insuficientes para soportar las semejanzas y diferencias genéticas entre los grupos estudiados, éstas pueden ser particularmente explicadas por medio de los datos de migración descritas en la literatura así como los datos obtenidos a partir de las encuestas aplicadas, como se muestra en las tablas 1 y 2 .

Tomando en cuenta los datos de las encuestas se puede ver que la información genética de los abuelos nacidos en D. F. solo representa el 27% de la posible información genética transmitida a sus descendientes, la información genética de los abuelos de los encuestados que representa a los estados del interior de la República es del 73% de acuerdo al lugar de origen.

El 80.5 % de los encuestados nacieron en el D. F., esto significa que el 19.5% son originarios del interior de la República y que su información genética podría no corresponder a la información de los sujetos autóctonos del D. F. Sin embargo el 80.5% de los individuos nacidos en el Valle de México no representan a la población autóctona, debido a que sus padres (46%) nacieron en una entidad diferente a la del Valle de México y de estos el 73% de los abuelos nacieron fuera del Valle de México. Además la familia del 10% del total de los encuestados , incluyendo padres y abuelos en ambas líneas nacieron en el D. F. Estos correspondieron con cerca del 90% de la información genética proveniente de ancestros nacidos en diferentes entidades federativas.

Este breve análisis refuerza la teoría de variabilidad genética presente en los grupos estudiados de acuerdo a la dinámica demográfica y migración como lo expuesto por Chakraborty et al 1988 , siendo tan solo algunas de las posibles explicaciones de las diferencias genotípicas encontradas en la población del Valle de México para este sistema genético.

Respecto a las diferencias encontradas en algunos loci, al comparar la población del Valle de México con poblaciones mundiales, se observó que genéticamente no existe diferencia entre los hispanos de Suroeste de Estados Unidos y la población del Valle de México, mismo fenómeno detectado en el marcador HLA-DQ α en estas poblaciones.

En cuanto a las poblaciones restantes, se observa que para el marcador GYPA no existe diferencia de los grupos caucasicos con la población del Valle de México; para los marcadores HBGG y GC no existe diferencia con los hispanos del Suroeste. Para la población española las diferencias estan marcadas en cuatro de los marcadores siendo la excepción el marcador D7S8, para el cual no existe diferencia con ninguna de las poblaciones.

La homogenidad de la población del Valle de México con el resto de las poblaciones, para el marcador D7S8, nos podría sugerir que se trata de un locus poco variable en las poblaciones, el cual probablemente ha sufrido pocos cambios, no alterando su frecuencia poblacional y pudiendose considerar como un locus parental radiado a las poblaciones con muy poca variación molecular, esta se puede establecer a reserva de que posteriores estudios rechacen o confirmen lo anterior.

Al igual que los trabajos de distribución de alelos HLA-DQ en poblaciones mundiales, los datos no reflejan el origen de la población estudiada, reflejandose en datos parciales que subestiman una estructura genetica poblaciones.

SISTEMA DIS80.

El análisis de el marcador genético VNTR D1S80, en el cual se pueden encontrar diferencias genéticas mayores en una población, al observarse un número mayor de alelos en este locus, nos puede ofrecer un mayor polimorfismo en la población del Valle de México, a diferencia de los marcadores anteriores en donde el número de alelos es menor.

El estudio poblacional de este marcador en el Valle de México, representa las frecuencias alélicas encontradas en 160 individuos tanto del D.F. como de algunos municipios del Estado de México.

En México existe un estudio previo con este sistema genético (Saavedra, 1996) en el cual se analizaron 116 individuos de la zona metropolitana de la ciudad de México, aunque no se especificó el lugar de origen de las muestras. En este estudio se encontraron 18 alelos y 47 genotipos, muy similar a los resultados obtenidos en el estudio del Valle de México, en el cual se identificaron 19 alelos y 49 genotipos. En ambos estudios se encontró una frecuencia mayor de los alelos 18 y 24, aunque en el presente estudio la frecuencia fue mayor. En cuanto al alelo 30 se encontraron grandes discrepancias entre ambos estudios siendo su frecuencia mucho menor que en el nuestro. El resto de los alelos se comportan de manera semejante en ambos estudios.

Es importante señalar que el número de muestras obtenidas en ambas investigaciones fue muy limitado y aún cuando en ambos se podría señalar que se realizó un muestreo en una "misma zona

geográfica", la discrepancia de los resultados puede deberse a la dirección del muestreo y la representatividad de la población, pues si bien los estudios de Saavedra (1996) reflejan la frecuencia de estos alelos en la Zona Metropolitana, su diseño de muestreo se restringe en mayor número a pobladores del D.F. en contraste con el presente estudio en el que se incluyen sujetos residentes en el D.F., así como en algunos municipios del Estado de México. Debido a esto, las frecuencias observadas por Saavedra (1996) podrían reflejar una distribución alélica de este marcador sólo para el Distrito Federal, en el cual se concentran alelos representativos de este locus, aumentando sus frecuencias. En el presente muestreo, aún cuando el número muestral es reducido, podría representar dicha distribución alélica para la población del Valle de México, en donde la representatividad incluye individuos tanto del Distrito Federal como zonas aledañas, y en donde el fenómeno de las bajas frecuencias observadas en alelos como el 24, sea producto de lo expuesto anteriormente.

Al hacer las comparaciones de los alelos del locus D1S80 con poblaciones mundiales, se observó que, al menos para éste locus, no presentamos homogeneidad genética con ninguna de las poblaciones analizadas. Aquí cabe mencionar, que estos resultados difieren de los obtenidos por Saavedra (1996), respecto a las diferencias y semejanzas que presenta su población analizada, con poblaciones mundiales. Las diferencias de las que hace mención, si concuerdan con los datos obtenidos en el presente estudio aplicando la prueba de comparación entre poblaciones, sin embargo, no encontramos semejanza de la población Oriental con la del Valle de México. Esta puede deberse a la complejidad de éste sistema de prueba, aplicables a los alelos presentes en éste locus.

Si bien todas las poblaciones analizadas exhiben una frecuencia muy elevada de los alelos 18 y 30, incluyendo la población del Valle de México, esto puede indicarnos que éstos alelos, han manifestado muy poca variación, pudiendo catalogarse como alelos parentales. Sin embargo dicha presunción no puede ser totalmente afirmada, debido a la falta de elementos que puedan probar que realmente se traten de alelos fijados en todas las poblaciones, incluyendo a las poblaciones antiguas y contemporáneas. De igual manera las frecuencias de éstos alelos deben ser similares para todas las poblaciones.

Esta falta de elementos, nos conduce a la necesidad de realizar estudios en diferentes grupos humanos, en los que se pueda incluir datos que reflejen el flujo alélico que han experimentado las poblaciones.

CONCLUSION

La similitud genética de los individuos está definida por la combinación de los marcadores genéticos que un individuo hereda de sus progenitores. Estos marcadores, analizados a nivel de variaciones en la secuencia de la molécula del ADN, han mostrado que la información genética de la población del Valle de México difiere de la población española, caucásica y afroamericana de Estados Unidos cuando es analizada con diferentes marcadores polimórficos específicos para un locus.

* Como se pudo constatar en el presente trabajo, los alelos del marcador genético HLA-DQ α , representativos de la población estudiada en el Valle de México son el 3 y 4, siendo los genotipos 3,4 y 4,4 los más representativos. No existe diferencia en la distribución alélica, así como en los 20 genotipos observados en la población del Valle de México, considerándose una población homogénea. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas al comparar la población del Valle de México con algunas poblaciones mundiales, aún cuando fueron analizadas con pruebas estadísticas convencionales, pero útiles para los fines del presente trabajo.

* Es de importancia resaltar que la variación genotípica de la población del Valle de México, se hizo notoria al comparar siete grupos en los que se dividió la población muestreada, mediante el empleo de un sistema con los marcadores genéticos LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, observándose una microdistribución de éstos marcadores, los cuales diferencian algunos de éstos grupos, por lo que la población del Valle de México no puede ser considerada como una sola unidad genética, pues presenta grandes variaciones en la distribución alélica y genotípica. Estas variaciones están ligadas por un lado al proceso de migración hacia el Valle de México que se ha experimentado y a los mismos procesos de colonización que ha experimentado esta región geográfica en las dos últimas décadas. Otro factor a considerar como fuente de variación genética es nuestro componente genético trihíbrido el cual se puso de manifiesto con el arribo de poblaciones caucásicas y negroides, y cuyo mestizaje se hace presente en la mayoría de la población actual. Esto fue corroborado con las semejanzas y diferencias encontradas en los marcadores LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 y GC, entre la población del Valle de México y algunas poblaciones representativas de los grupos humanos caucásicos, negroides, mongoloides, así como mestizos hispanos.

* El empleo del marcador D1S80 en la población del Valle de México, puso de manifiesto que los alelos 18, 24 y 30 son los más representativos, sin embargo la variación alélica es mayor a la

observada con los dos sistemas anteriores. La comparación con otras poblaciones, pone de manifiesto diferencias genéticas con poblaciones que están emparentadas con los dos sistemas anteriores.

* Los valores del Poder de Discriminación obtenidos en estos marcadores, se incrementaron de acuerdo al número de alelos presentes en los sistemas de prueba, observándose los siguientes valores : D1S80 PD= 0.98, HLA-DQ α PD= 0.86, LDLR PD=0.62, GYPA PD= 0.59, HBGG PD= 0.61, D7S8 PD= 0.60, GC PD= 0.78. Estos resultados son muy útiles en el caso de individualización, lo cual es muy necesario dentro de los procesos judiciales y para exclusión de paternidad.

*Se determina el porcentaje de individuos portadores del gen Se, para la población del Valle de México, siendo el 97.8% de individuos portadores del gen Se, el cual ejerce función secretora.

*El empleo de los marcadores genéticos HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC y D1S80, sumados dan un mayor poder de discriminación y pueden caracterizar mejor a una población, comparado con los sistemas genéticos tradicionales (grupos sanguíneos, enzimáticos, etc.), debido a la presencia de un mayor número de alelos y al polimorfismo que presentan estos loci en las poblaciones humanas.

APENDICE

PREPARACION DE SOLUCIONES

Azul de Bromofenol. Disolver 0.1 g de azul de bromofenol en 23.7 ml de agua desionizada. Adicionar 1 ml de Tris-HCl (pH 8), 0-3 ml de EDTA 0.5 M y 25 ml de glicerol. Mezclar.

Bromuro de etidio. (0.5 mg/ml). Disolver 50 mg de bromuro de etidio en 80 ml de agua ultrapura. Aforar a 100 ml y guardar en recipiente oscuro a temperatura de 4° C. De ésta solución se parte para establecer las concentraciones de trabajo para tinción. Precaución. El bromuro de etidio es una sustancia carcinógena, por lo tanto, se debe evitar el contacto con la solución y con el gel una vez teñido.

Buffer de lisis nuclear. Disolver en 800 ml de agua 1.21 g de Tris base, 23.4 g de NaCl y 0.75 g de Na₂EDTA. Ajustar el pH a 8.2 con HCl 6N. Aforar a 1000 ml con agua desionizada y mezclar. La concentración final es Tris base 10mM, NaCl 400mM y Na₂EDTA 2 mM. La solución es estable por 6 meses a temperatura ambiente

Buffer TAE 50X. Disolver 242.2 g de Tris base en 400 ml de agua ultrapura, adicionar 200 ml de EDTA 0.5 M y 57.1 ml de ácido acético glacial. Ajustar el pH a 8.0 y aforar a 1000 ml.

Solución TAE 1X. Hacer dilución 1:50 de buffer TAE 50X con agua desionizada o destilada.

Buffer TBE 10X. A 40 ml de EDTA 0.5 M pH 8 adicionar 900 ml de agua desionizada. Mezclar y agregar 108 g de Tris base y 55 g de ácido bórico. Agitar hasta compnetar una solución homogénea. Ajustar el volúmen a 1000 ml con agua desionizada y filtrar la solución con un filtro nalgene de 0.2 a 0.4 µm. Almacenar en recipiente de vidrio. Si la solución se precipita, preparar nuevamente.

Buffer de corrimiento electroforético. TBE 0.5X. Adicionar 50 ml de TBE 10X a 950 ml de agua desionizada o estéril. Mezclar.

Buffer TE. Mezclar 1 ml de Tris 1M y 0.02 ml de EDTA 0.5 M y aforar con agua desionizada a 100 ml.

Ditiotreitol (DTT). Disolver 15.45 g de ditiotreitol en 100 ml de agua desionizada. Almacenar a -20°C

Duodecil sulfato de sodio (SDS) al 20%. Disolver 200 g de duodecil sulfato de sodio (grado electroforésis) en 800 ml de agua desionizada. Calentar si es necesario o disolver en baño maría. Aforar a 1000 ml con agua desionizada y mezclar. La solución es estable durante 6 meses a temperatura ambiente.

EDTA 0.5 M (pH 8). Disolver 186.1 g de Na₂EDTA en 500 ml de agua desionizada. Ajustar a un pH de 8. Aforar a 1000 ml y mezclar bien. Esterilizar en autoclave. La solución es estable por más de 6 mese a 4° C.

Persulfato de Amonio al 10% (p/v). Adicionar 0.1 g de persulfato de amonio por ml de agua. Mezclar. La solución es estable durante los tres primeros días, después de una semana, preparar nueva solución.

Proteinasa K (5 mg/ml). Disolver 100 mg de proteinasa K en 20 ml de agua desionizada. Almacenar en tubos de 500 µl y colocar los en congelación a -20° C. La enzima es estable a esa temperatura durante 6 meses.

Tris-HCl 1M (pH 8). Disolver 121.1 g de Tris base en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH a 8 (± 0.2) adicionando 45 ml aproximadamente de HCl concentrado. Aforar a 1000 ml con agua desionizada. Mezclar y pasar la solución por un filtro de 0.2 µm.

Buffer de citratos. 0.1M Citrato de sodio pH5. Disolver 18.4 g de citato trisódico dihidratado en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH a 5 (±0.2) adicionando ácido cítrico monohidratado (aproximadamente 6 g). Ajustar el volúmen a 1000 ml. Estable a temperatura ambiente.

Buffer 20X SSPE. 3.6M NaCl, 200mM NaH₂PO₄-H₂O, 20mM EDTA pH7.4. Disolver 7.4 g de Na₂EDTA-2H₂O en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH a 6 con 10N de NaOH agregando a la solución de EDTA.. Agregar 210 g de NaCl y 27.6 g de NaH₂PO₄-H₂O. Ajustar el pH a 7.4 (± 0.2) con 10N de NaOH (cerca de 10 ml). Ajustar el volúmen final a 1000 ml con agua desionizada.

Solución de hibridación 5X SSPE 0-5% (p/v) SDS. Mezclar 250 ml de solución 20X SSPE, 25 ml de SDS 20% y 725 ml de agua desionizada. La solución de hibridación deberá calentarse en cada momento de aplicar las muestras de ADN amplificado.

Solución lavadora. 2.5X SSPE, 0.1% (p/v) SDS. Mezclar 250 ml de solución 20X SSPE, 1740 ml de agua desionizada y 10 ml de SDS (20%). Debe permanecer en solución antes de usarse, temperaturas entre 35° y 55° C son recomendables.

Solución cromógena. (TMB 3,3',5,5' tetrametilbenzidina)Material incluido en Kit de amplificación. Agregar etanol absoluto al frasco de solución cromogena y agitar, estable durante 6 meses después de disuelto.

TECNICAS PARA LA EXTRACCION DE ADN Y ELECTROFORESIS

Extracción de ADN en muestras de saliva.

- 1.- Recolectar aproximadamente 1.5 ml. De saliva en un tubo estéril y adicionar el doble del volúmen de etanol absoluto.
- 2.- Centrifugar a 2100 rpm durante 5 minutos y decantar el sobrenadante.
- 3.- Adicionar 0.5 ml de buffer de digestión, 12 µl de proteinasa K (10 mg/ml) y 15 µl de DTT.
- 4.- Incubar las muestras a 56° C durante 120 minutos y en espacio de 15 minutos agitar vigorosamente.
- 5.-Centrifugar a 2100 rpm durante 5 minutos.
- 6.- Separar sobrenadante sin mezclar el pellet.
- 7.- Agregar etanol absoluto frio al sobrenadante.
- 8.- Invertir el tubo varias veces y congelar durante 5-40 minutos.
- 9.- Centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos.
- 10.-Eliminar el sobrenadante y colocar el tubo invertido sobre una superficie absorbente sin tirar el sedimento.
- 11.-Adicionar 1 ml. De etanol al 79%.
- 12.- Centrifugar durante 15 minutos.
- 13.- Decantar el sobrenadante y colocar la muestra en una estufa a temperatura de 56o hasta evaporar el etanol.
- 14.- Agregar 100-200 µl de buffer TE pH 8.0
- 15.- Dejar renaturalizar la muestra a 37° antes del proceso de amplificación.

Técnica de electroforesis horizontal en gel de agarosa para cuantificación de ADN.

- 1.- Disolver 0.8 gr. de agarosa en 100 ml de solución buffer TAE 1X y disolverla hasta obtener solución homogénea.
- 2.- Preparar el molde para agregar la agarosa y colocar el peine para formar los pozos de aplicación (generalmente el grosor del gel para cuantificación oscila entre 0.3-0.4 cm.) Al momento de verter el agarosa en el molde, cuidar de que no se formen burbujas de aire. Una vez solidificado el gel, retirar el peine y retirar los separadores de la cámara.
- 3.- Colocar el gel en la cámara de electroforesis en solución buffer TAE 1X hasta cubrir la totalidad del gel
- 4.- Sobre placas de microtitulación colocar 2 µl de azul de bromofenol y 8 µl de ADN genómico. Mezclar.
- 5.- Depositar la mezcla con una pipeta, manteniendo la punta vertical al momento de colocar la muestra dentro de cada pozo.
- 6.- Colocar estandares de ADN de 5, 10, 15 25, 50 100 y 200 ng.
- 7.- Conectar la cámara a los electrodos una vez que se ha terminado de colocar las muestras. Iniciar corrimiento electroforético a 90 Volts.
- 8.- La electroforesis se detiene una vez que el colorante ha migrado 2 cm después del punto de aplicación.
- 9.- Desconectar la cámara y llevar el gel a tinción.
- 10.- El gel se coloca en una solución de bromuro de etidio durante 5 minutos (la concentración del bromuro de etidio puede variar, siendo la recomendable 2 mg/ µl). El gel se tiñe durante 5-10 minutos en un agitador orbital a 50 rpm y se saca y enjuaga con agua corriente durante 5 minutos a 50 rpm.
- 11.- Se observa el gel en un transiluminador de luz UV y se cuantifica la cantidad de ADN por comparación con los estandares de ADN de concentración conocida.

Técnica de electroforesis horizontal en gel de agarosa (4%) para determinación de productos de amplificación de ADN.

- 1.- Disolver 4 gr. de agarosa en 100 ml de solución buffer TAE 1X y disolverla hasta obtener solución homogénea.
- 2.- Preparar el molde para agregar la agarosa y colocar el peine para formar los pozos de aplicación (generalmente el grosor del gel para cuantificación oscila entre 0.3-0.4 cm.) Al momento de verter el agarosa en el molde, cuidar de que no se formen burbujas de aire. Una vez solidificado el gel, retirar el peine y retirar los separadores de la cámara.
- 3.- Colocar el gel en la cámara de electroforesis en solución buffer TAE 1X hasta cubrir la totalidad del gel
- 4.- Sobre placas de microtitulación colocar 1 µl de azul de bromofenol y 8 µl de ADN genómico. Mezclar.
- 5.- Depositar la mezcla con una pipeta, manteniendo la punta vertical al momento de colocar la muestra dentro de cada pozo.
- 6.- Colocar estandares de ADN de 5, 10, 15 25, 50 100 y 200 ng.

- 7.- Conectar la cámara a los electrodos una vez que se ha terminado de colocar las muestras. Iniciar corrimiento electroforético a 90 Volts.
- 8.- La electroforésis se detiene una vez que el colorante ha migrado 2 cm después del punto de aplicación.
- 9.- Desconectar la cámara y llevar el gel a tinción.
- 10.- El gel se coloca en una solución de bromuro de etidio durante 5 minutos (la concentración del bromuro de etidio puede variar, siendo la recomendable 2 mg/ μ l). El gel se tiñe durante 5-10 minutos en un agitador orbital a 50 rpm y se saca y enjuaga con agua corriente durante 5 minutos a 50 rpm.
- 11.- Se observa el gel en un transiluminador de luz UV y se cuantifica la cantidad de ADN por comparación con los estándares de ADN de concentración conocida.

AMPLIFICACION E HIBRIDACION DE ADN .

Protocolo abreviado de amplificación de ADN genómico con el Kit HLA-DQ α PERKIN-ELMER CETUS.

- 1.- Encender el termociclador
 - 2.- Marcar los tubos donde se agregará la mezcla de reacción.
 - 3.- Adicionar 50 μ l de Cloruro de magnesio MgCl₂ 8mM.
 - 4.-Agregar 50 μ l de mezcla de reacción (contiene los dNTP's).
 - 5.- Agregar 2 gotas de aceite mineral.
 - 6.- Agregar 2-40 μ l de ADN (la concentración de ADN genómico no debe ser mayor a 15 ng/ μ l)
 - 7.- Colocar en el termociclador los tubos y presionar bien. (no debe pasar más de 30 min.después de agregar el Cloruro de Magnesio)
 - 8.- Presionar en comienzo de amplificación programando el termociclador a 32 ciclos, en el cual cada ciclo consta de las siguientes temperaturas y tiempos:
 - Desnaturalización a 94° por 1 minuto
 - Alineación a 60° por 30 segundos
 - Extensión a 72° por 30 segundos
 - Programar un último ciclo de extensión a 72° por 7 minutos
- Nota: después del primer ciclo, presionar los tubos nuevamente.

Protocolo abreviado de amplificación de ADN genómico con el Kit POLYMARKER PERKIN-ELMER CETUS

- 1.- Encender el termociclador
 - 2.- Marcar los tubos donde se agregará la mezcla de reacción.
 - 3.- Adicionar 40 μ l de Mezcla de Primer (incluido en el Kit).
 - 4.-Agregar 40 μ l de mezcla de reacción (contiene los dNTP's).
 - 5.- Agregar 2 gotas de aceite mineral. (Termociclador Perkin-Elmer 450)
 - 6.- Agregar 2-20 μ l de ADN (la concentración de ADN genómico no debe ser mayor a 15 ng/ μ l)
 - 7.- Agregar Agua libre de nucleasas o desionizada hasta completar un volúmen final de 100 μ l.
 - 8.- Colocar en el termociclador los tubos y presionar bien. (no debe pasar más de 30 min.después de agregar la mezcla de primer)
 - 9.- Presionar en comienzo de amplificación programando el termociclador a 32 ciclos, en el cual cada ciclo consta de las siguientes temperaturas y tiempos:
 - Desnaturalización a 94° por 1 minuto
 - Alineación a 60° por 30 segundos
 - Extensión a 72° por 30 segundos
 - Programar un último ciclo de extensión a 72° por 7 minutos
- Nota: después del primer ciclo, presionar los tubos nuevamente.

Protocolo abreviado de amplificación de ADN genómico con el Kit D1S80

- 1.- Encender el termociclador
- 2.- Marcar los tubos donde se agregará la mezcla de reacción.

- 3.- Adicionar 20 µl de Mezcla de Reacción (incluido en el Kit, contiene los dNTP's).
 - 4.- Agregar 10 µl de Cloruro de Magnesio 5 mM
 - 5.- Agregar 2 gotas de aceite mineral. (termociclador Perkin-Elmer 450)
 - 6.- Agregar 2-20 µl de ADN (la concentración de ADN genómico no debe ser mayor a 10 ng/µl)
 - 7.- Agregar Agua libre de nucleasas o desionizada hasta completar un volumen final de 50 µl.
 - 8.- Colocar en el termociclador los tubos y presionar bien. (no debe pasar más de 30 min.después de agregar el cloruro de magnesio)
 - 9.- Presionar en comienzo de amplificación programando el termociclador a 32 ciclos, en el cual cada ciclo consta de las siguientes temperaturas y tiempos:
 - Desnaturalización a 90° por 1 minuto
 - Alineación a 65° por 1 minuto
 - Extensión a 72° por 1 minuto
 - Programar un último ciclo de extensión a 72° por 10 minutos
- Nota: después del primer ciclo, presionar los tubos nuevamente.

HIBRIDACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE AMPLIFICACIÓN DEL SISTEMA HLA-DQα PERKIN-ELMER CETUS

- 1.- Encender el termociclador y programarlo a 95°
 - 2.- Marcar las sondas de hibridación (incluidas en el Kit de amplificación)
 - 3.- Incubar el ADN amplificado en el termociclador a 95° durante 3-10 minutos
 - 4.- Preparar solución de solución hibridizadora y enzima conjugada (incluida en el Kit) con las siguientes proporciones:
 - 3.3 ml de solución de hibridación por cada sonda
 - 27µl de enzima conjugada por cada sonda
 - 5.-Preparar charolas de hibridación con 3 ml de la solución de hibridación/enzima conjugada y la sonda marcada.
 - 6.- Agregar 35 µl de ADN amplificado y desnaturalizado.
 - 7.- Colocar en el hibridizador o bien en baño maria con agitación (50-90 rpm) a 55° durante 20 minutos
 - 8.- Desechar la solución hibridación/enzima conjugada y lavar con solución lavadora por varios segundos a temperatura ambiente, desechar la solución.
 - 9.- Agregar 10 ml de solución lavadora y lavar con agitación a 50 rpm a 55° durante 12 minutos
 - 10.- Desechar solución lavadora y lavar por varios segundos con solución lavadora a temperatura ambiente.
 - 11.- Lavar las sondas con solución lavadora a temperatura ambiente durante 5 minutos con agitación de 50 rpm.
 - 12.- Desechar solución lavadora y agregar 10 ml de buffer de citratos, agitar durante 5 minutos a 50 rpm.
 - 13.-Durante el lavado con buffer de citratos, se prepara la siguiente solución reveladora por cada sonda:
 - 10 ml de buffer de citratos
 - 10 µl de H₂O₂ al 3%
 - 0.5 ml de solución cromógena (incluida en el Kit)
 - 14.- Desarrollo de color de las sondas se efectua al agregar la solución reveladora, 10 ml por sonda durante 20 minutos, agitación a 50 rpm y sin presencia de luz.
 - 15.- Una vez desarrollado el color en las sondas, se desecha la solución reveladora y las sondas se enjuagan con agua desionizada por 5-10 minutos a 50 rpm
 - 16.- Se tipifica o determina el genotipo.
- Nota: los tiempos de lavado así como las temperaturas son criticos durante la hibridación.

HIBRIDACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE AMPLIFICACIÓN DEL SISTEMA POLYMARKER PERKIN-ELMER CETUS

- 1.- Encender el termociclador y programarlo a 95°
- 2.- Marcar las sondas de hibridación (incluidas en el Kit de amplificación)
- 3.- Incubar el ADN amplificado en el termociclador a 95° durante 3-10 minutos
- 4.-Preparar charolas de hibridación con 3 ml de la solución de hibridación y la sonda marcada.
- 5.- Agregar 35 µl de ADN amplificado y desnaturalizado.
- 6.- Colocar en el hibridizador o bien en baño maria con agitación (50-90 rpm) a 55° durante 15 minutos
- 7.- Preparar solución de solución hibridizadora y enzima conjugada (incluida en el Kit) con las siguientes proporciones:
 - 3.3 ml de solución de hibridación por cada sonda
 - 27µl de enzima conjugada por cada sonda
- 8.- Finalizados los 15 minutos, desechar solución de hibridación y lavar con solución lavadora precalentada, agregar la solución de Hibridación/enzima conjugada y poner en agitación (50-90 rpm) a 55° durante 5 minutos

- 9.- Desechar la solución hibridización/enzima conjugada y lavar con solución lavadora por varios segundos a temperatura ambiente, desechar la solución.
 - 10.- Agregar 10 ml de solución lavadora y lavar con agitación a 50 rpm a 55° durante 12 minutos
 - 11.- Desechar solución lavadora y agregar 10 ml de buffer de citratos, agitar durante 5 minutos a 50 rpm.
 - 12.-Durante el lavado con buffer de citratos, se prepara la siguiente solución reveladora por cada sonda:
 - 5 ml de buffer de citratos
 - 5 µl de H₂O₂ al 3%
 - 0.25 ml de solución cromógena (incluida en el Kit)
 - 13.- Desarrollo de color de las sondas se efectua al agregar la solución reveladora, 5 ml por sonda durante 20 minutos, agitación a 50 rpm y sin presencia de luz.
 - 14.- Una vez desarrollado el color en las sondas, se desecha la solución reveladora y las sondas se enjuagan con agua desionizada por 5-10 minutos a 50 rpm
 - 15.- Se tipifican o determinan los genotipos.
- Nota: los tiempos de lavado así como las temperaturas son criticos durante la hibridación.

INTERPRETACION DE LOS ALELOS DEL SISTEMA GENETICO D1S80.

Preparación del gel.

- 1.- Preparar las placas de vidrio de 16.5 x 19 cm y 16 x 16.5 cm con separadores de 8 mm de grosor, unir las placas para evitar la salida del gel.
- 2.- Agregar 45 ml de agua desionizada, 3 ml de buffer TBE 10X, 12 ml de DeneAmp Gel detection gel (PERKIN-ELMER) y mezclar lentamente.
- 3.- Los siguientes pasos se hacen rápidamente. Agregar 600 microlitros de solución de persulfato de amonio al 10% y 30 microlitros de TEMED, evitando hacer burbujas. Agregar inmediatamente la solución dentro de las placas, pudiendo utilizar una jeringa de 60 cc y evitando se formen burbujas, colocar el peine y dejar polimerizar en posición vertical durante 40-45 minutos.
- 4.-De acuerdo al diseño de la cámara, agregar el buffer de corrimiento, Buffer TBE 0.5 % y sellar la parte posterior con el gel contenido en las placas de vidrio, quitando el peine y marcando los pozos de aplicación. Sacar el aire de las partes superior e inferior del gel para evitar un mal corrimiento. Cubrir la cámara con buffer de corrimiento, cubriendo el gel en todas sus partes.
- 5.-Se asegura el paso de corriente conectando los electrodos y dejando correr sin muestras durante 20 minutos.
- 6.-Durante el precorrimiento se preparan las muestras problema mezclando 1 microlitro de colorante (Loading Buffer PERKIN-ELMER) y 5 microlitros o mas de cada una de las muestras problema.
7. Preparar el marcador alélico AmpFlp D1S80 Allelic ladder, mezclando 1 microlitro de colorante y 5-7 microlitros del marcador. En este momento no debe estar conectada la cámara a la fuente de poder.
- 8.-Depositara la muestra con el colorante en los pozos usando micropipetas con puntas capilares para introducir la muestra. Se evita en todo momento la formación de burbujas.
- 9.- Las muestras se colocan después de cada ladder en número de 2 o 3 y seguido de otro ladder.
- 10.-Conectar los electrodos a la fuente de poder. La electroforésis se lleva a cabo con un voltage de 1000 volts durante 1.75 horas o mas dependiendo de la fuente de poder o hasta que el segundo colorante (xilencianol) haya recorrido 14 cm aproximadamente desde el punto de aplicación.
- 11.-Una vez que corrieron las muestras se desconecta la cámara y el gel se saca de las placas de vidrio, evitando romperlo.
- 12.-El gel se tiñe con bromuro de etidio durante 15 minutos, se enjuaga y los alelos y genotipos son comparados con el ladder. Cuando se presenta una sola banda, se determina un genotipo homocigoto: cuando se presentan dos bandas, el genotipo es heterocigoto.

ENCUESTA

No. _____

GRUPO SANGUINEO _____

DATOS PERSONALES

NOMBRE: _____ SEXO: _____ EDAD: _____

LUGAR DE NACIMIENTO y domicilio: _____

Colonia

Delegación

Ciudad

Municipio

Estado

País

ESTADO CIVIL: _____ NUMERO DE HIJOS: _____

Soltero

Casado

Unión Libre

Otro

OCUPACION: _____

ESCOLARIDAD: _____

Primaria

Secundaria

Preparatoria

Técnica

Licenciatura

INGRESOS (Quincenales): _____

NS 0-500

500-1000

1000-1500

1500-2000

Mayor

ESCOLARIDAD DEL CONYUGE: _____

Primaria

Secundaria

Preparatoria

Técnica

Licenciatura

OCUPACION DEL CONYUGE: _____

INGRESO (Quincenal) DEL CONYUGE: _____

NS 0-500

500-1000

1000-1500

1500-2000

Mayor

DATOS SOBRE LA VIVIENDA

LA VIVIENDA DONDE VIVE ES: _____

Propia

Rentada

Otra

NUMERO DE CUARTOS EN TOTAL (incluyendo sala, recámaras, comedor y cocina): _____

CON QUE SERVICIOS CUENTA: _____

Agua entubada

Gas

Carbon

Diesel

Petroleo

Drenaje

Teléfono

DATOS FAMILIARES

LUGAR DE NACIMIENTO DE LA MADRE: _____

Ciudad

Municipio

Estado

País

OCUPACION DE LA MADRE: _____ INGRESO (Quincenal) NS: _____

ESCOLARIDAD DE LA MADRE: _____

NUMERO DE HIJOS: _____

LUGAR DE NACIMIENTO DEL PADRE: _____

Ciudad

Municipio

Estado

País

Ocupación del padre: _____ INGRESO (Quincenal): NS _____

ESCOLARIDAD DEL PADRE: _____

NUMERO DE HIJOS: _____

Si algún otro miembro de tu familia (o de las personas con quien vives) trabaja y aporta dinero al gasto familiar, anota su escolaridad, ocupación y salario quincenal.

	ESCOLARIDAD	Ocupación	SALARIO
1.-	_____	_____	_____
2.-	_____	_____	_____
3.-	_____	_____	_____
4.-	_____	_____	_____
5.-	_____	_____	_____
6.-	_____	_____	_____
7.-	_____	_____	_____
8.-	_____	_____	_____

LUGAR DE NACIMIENTO DE LOS ABUELOS Y BISABUELOS

ABUELA PATERNA	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
ABUELO PATERNO	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
ABUELA MATERNA	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
ABUELO MATERNO	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
BISABUELA PATERNA	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
BISABUELO PATERNO	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
BISABUELA MATERNA	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País
BISABUELO MATERNO	_____	_____	_____	_____
	Ciudad	Estado	Municipio	País

BIBLIOGRAFIA

1. Aguirre B. G. 1989. La población negra de México. Estudio Etnohistórico. 3 ed. Univ. Veracruzana, INI, Gob. Veracruz y FCE. México, 374p.
2. Ambach E., Zehethofer K., Scheithauer R. HLA-DQ α genotype and allele frequencies in an Austrian population. *Human Heredity* 1996, 48:71-75.
3. Arguello R., Dominguez E., Madrigal A. 1992. El papel del complejo principal de Histocompatibilidad en la respuesta inmune y los trasplantes de órganos. En: *Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Held in Yokohama Japan*. Edit. Kimiyoshi, Azawa M., Tokehiko S. Oxford University Press. Cap. C2. C.19. 7 Japón.
4. Ashton G. C., Braden A. E. Serum globin polymorphism in mice. *Aust. Journ. Exp. Biol. Med. Science* 1961, 14:248.
5. Bartels I. Grzeschik K. H., Cooper D. N., Smidtko J. Regional mapping of six cloned DNA sequences on human chromosome 7. *American Journal Human Genetic* 1986, 38:280-287.
6. Beaudet A., Bowwcock A., Buchwald M. Linkage of cystic fibrosis to two tightly linked DNA markers: joint report from a collaborative study. *American Journal Human Genetic* 1986, 39:681-693.
7. Belich M., Madrigal A., Hildebrand W. H., Zemour J., Williams R., Luz R., Peterle M. H. A., Parham P. Unusual HLA-B alleles in two tribes of Brazilians indians. *Nature* 1992, 357:326-329.
8. Bernards R. Little P. F. R., Annison G., Williamson R., Flavell R. A. Structure of the human γ - δ - β -globin gene locus. *Proceeding National Academic Science of USA*. 1979, 76(10):4827-4831.
9. Beroldingen C. H., Blake E. T. 1989. Application of PCR to the analysis of biological evidence. En: *PCR Technology. Principles and applications for DNA amplification*. Ed. Erlich H. A. Stockton press. USA.
10. Bigbee W. L., Grant S. G. Variable frequency of fetal erythroid cells in the maternal circulation as detected by flow cytometry following labeling with allele specific monoclonal antibodies to glycophorin A. *American Journal Human Genetic* 1991, 49(14):1620.
11. Blanc M. Gregor Mendel: La leyenda del genio desconocido. En: *Antología genética*. UNAM-ENEPI. México.
12. Blanco A. 1988. *Química Biológica*. 4 ed. El Ateneo. España.

13. Bodmer J. G., Marsh S. G. E., Albert E. D., Bodmer W. F., Dupont B., Erlich H. A. Nomenclature for factors of the HLA system 1991. *Tissue Antigens* 1992, 39:1-13
14. Borot N., Cappin H., Dolbois L., Pontarotti P., Clanet M., Roth M.P. Identification of three microsatellites of the human myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) locus, a gene involved in multiple sclerosis. *American Journal Human Genetic*. 1988, 43(3):2017.
15. Brown H. J., Jardetsky T.S., Gorg J.C., Stern J.L., Urban R.G., Strominger J.L., Wiley D.C. Three dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* 1993, 364:110-113.
16. Budowle B., Chakraborty R., Giusti A. M., Eisenberg A. J., Allen R. C. Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *American Journal Human Genetic* 1991, 48:137-144.
17. Budowle B., Lindsey J. A., Koons B. W., Glusti A. M., Corney C. T. Validation and population studies of the loci LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and Gc (PM loci) and HLA-DQ α using a multiplex amplification and typing procedures. *Journal Forensic Sciences* 1995, 40(1):45-54.
18. Buettner-Janusch J. 1980. *Antropología Física*. Limusa 533 p.
19. Carballo L. R., Marrugo J. G., Erlich M., Pastorizzo M. E. HLA alleles in the population of Cartagena (Colombia). *Tissue Antigens* 1992, 39:128-133.
20. Carrasco P. 1981. La sociedad mexicana antes de la conquista. En: *Historia General de México* I. 1ed. Colegio de México-Harla. México.
21. Cetus Corporation. *Amplitype PM-HLA-DQ α* . 1990. USA.
22. Cohen J. E. DNA fingerprinting for forensic identification: Potential effects on data interpretation of subpopulation heterogeneity and band number variability. *American Journal Human Genetic* 1990, 46:358-368.
23. Comas J. C. La diferenciación Biológica entre los aborígenes americanos. *Anales de Antropología*. 1969, 6:79-107.
24. Comey C. T., Budowle B., Adams D. E., Baumstark A. L., Lindsey J. A., Presley L. A. PCR amplification and typing of the HLA-DQ α genes in forensic samples. *Journal Forensic Science* 1993, 38(2):239-249.
25. CONAPO. 1982. México demográfico, Breviario 1980-1981. CONAPO. México.
26. CONAPO. 1984. Diagnóstico de mortalidad en México. CONAPO (mimeo). México.
27. CONAPO. 1984. Diagnóstico de fecundidad. CONAPO (mimeo). México.

28. Constans J., Viau M. Group specific component: Evidence for two subtypes of the Gc1 gene. *Science* 1977, 198:1070-1071.
29. Cook S. F., Borah W. 1960. The indian population of central Mexico 1531-1610. 1 ed. Ibero-Americana. USA, 440p.
30. Chakraborty R., Smouse P. E., Neel J. V. Population amalgamation and genetic variation: observation on agglomerated tribal population of Central and South America. *American Journal of Human Genetics* 1988, 43:709-725.
31. Dauset J. Iso-Leuko antibodies. *Vox. Sang* 1958, 13:40-46.
32. Deisseroth A., Nienhuis A., Lawrence J., Giles R., Torner P., Ruddle F. H. Chromosomal localization of human β globin gene on human chromosome 11 in somatic localization cell hybrids. *Proceedings National Academic Science of USA*. 1978, 75(3):1456-1460.
33. DeMeester C. A., Bu X., Gray R. J., Lisis A. J., Rotter J. Y. Genetic variation in lipoprotein (a) levels in families enriched for coronary artery disease is determined almost entirely by the apolipoprotein (a) gene locus. *American Journal Human Genetic* 1995, 56:287-293.
34. Devlin B., Risch N., Roeder K. No excess of homozygosity at loci used for DNA fingerprint. *Science* 1990, 249: 1416-14.
35. Dobzhansky T. 1975. *Genética del proceso evolutivo*. 1^{er} ed. Edit. Extemporáneos México 463p.
36. Engelhard V. H. How cells process antigens. *Scientific American* 1994, 45:44-51.
37. Erlich H. A. 1989. *PCR Technology. Principles and applications for DNA amplification*. Ed. Stockton press. USA.
38. Erlich H. A., Debaz H., Fildes N., Trejo V., Gorodezky C. 1989. HLA-DQA1 PCR/Oligonucleotide probe: results of the Latinamerican Workshop. En: *Proceedings of the Fifth Latinamerican Histocompatibility Workshop Held in Mexico*. Edit. Gorodezky C., Sierp G., Ekkehard A. Univers. Press. México.
39. Esticill X. Mclean C., Casals T., Gallano P., Williamson R. Isolation of a new DNA marker in linkage disequilibrium with cystic fibrosis, situated between J3.11 (D7S8) and IRP. *American Journal Human Genetic* 1989, 44:704-710.
40. Federal Bureau of Investigation. *Technical and legal aspects of forensic*. 1989. USA.
41. Federal Bureau of Investigation. *The examination of serological evidence in the FBI laboratory*. 1989. USA.

42. Frederick M. A., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J. A., Struhl K. 1989. Short protocols in molecular biology. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience. USA.
43. Garg R. K. Determination of ABO (H) blood group substances from fringer and toe nails. *Zeitschnflur Rechtsmedizin* 1983, 91:17-19
44. Garg R. K. Determination of ABO (H) blood group-specific substances from finger nails. *Americ. Jour. Medic. Pathology* 1983, 4:143-144.
45. Gibson C. 1991. Los aztecas bajo el dominio español 1519-1810. 11ed. Siglo XXI. México, 531 p.
46. Gorodezky C. 1992. Papel de la inmunogenética en la distribución y frecuencia de las enfermedades tropicales. En: *Enfermedades tropicales en México. Diagnóstico tratamiento y distribución geográfica*. Edit. Valdespino-Gómez INDRE. Cap. 5 México.
47. Gorodezky C. 1994. Inmunogenética en las enfermedades reumáticas. En: *Reumatología pediátrica*. Edit. Romero-Rodríguez. McGraw Hill cap. 3 México.
48. Gorodezky C., Loon J. HLA in some Latin American populations: Mexicans, Brazilians and Uruguayans. *Anthropology Components* 1994, 3:662-665.
49. Grant S. G., Bigbee W. L. Elevated levels of somatic mutation at the glycoporphin A locus in cancer patients. *American Journal Human Genetic* 1991, 49(14):308.
50. Guía de la Ciudad de México y Area Conurbada. 50 3d. Guia-Roji . México
51. Guizar-Vazquez J. 1994. Genética clínica: diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 2a ed. Manual Moderno. México 830p.
52. Gyllensten V. B., Erlich H. A. Generation of single stranded DNA by te Polymerase Chain Reaction and its application to direct sequencing of the HLA-DQ α locus. *Proceedings of the National Academic Science of the U S A* 1989, 86:6230-6234.
53. Harening D. 1989. Modern blood banking and transfusion pratices. 2 ed. F. A. Davis Company. USA.
54. Heidrich E. M., Hutz M. H., Salzano F. M., Coimbra C. E. A., Santos R. B. D1S80 locus variability in three Brazzilian ethnic groups. *Human Biology* 1995, 67(2):311-319.
55. Heidrich E.M., Hutz M.H., Salzano F., Coimbra C.E.A., Santos R.V. D1S80 locus variability in three Brazilian ethnic groups. *Human Biology* 1995, 67 (2): 311-319.
56. Helmuth R., Fildes N., Blake E., Luce M., Chimera J., Madej R., Gorodezky C., Stoneking M., Schmill N., Klitz W., Higuchi R., Erlich R. HLA-DQ α alleles and genotype frequencies in

- various human population determined by using enzymatic amplification and oligonucleotide probes. *Amer. Journ. Human Genetics* 1990, 47:515-523.
57. Huguet G. M., Corbella J., Moreno P. Distribution of the HLA-DQ α alleles and genotypes in a sample of population from Barcelona (Spain). *Human Genetics* 1993, 43:326-328.
58. Hurn G. T., Richards B., Merill J. J., Klinger K. W. Characterization and diagnostic analysis of DNA polymorphisms closely linked to the Cystic fibrosis locus. *Clinical Chemistry* 1990, 36(9):1614-1619.
59. Huth A., Estivill X., Grade K., Polymerase chain reaction for detection of the pMP6d-9/Msp I RFLP, a marker closely linked to the fibrosis mutation. *Nucleic Acids Research* 1989, 17:7118-7122.
60. *Investigacion Demográfica en México-1980*. Edit. Flores E. CONACYT. México 948 pp.
61. Jeffreys A. J., MacLeod A., Tamaki K., Neil D. L., Monekton D. G. Minisatellite repeat coding as digital approach to DNA typing. *Nature* 1991, 354:204-209.
62. Jeffreys A. J., McLeod A., Tamaki J., Neil D. L., Monekton D. G. Minisatellite repeat coding as a digital approach to DNA typing. *Nature* 1991, 354:204-209.
63. Karp G. 1984. *Biología celular*. 2 ed. Mc Graw Hill. USA.
64. Kazazian H. H. 1989. Use of PCR in the diagnosis of monogenic diseases. En: *PCR Technology. Principles and applications for DNA amplification*. Ed. Erlich H. A. Stockton press. USA.
65. Klein J., Takahata N., Ayala F.J. MHC polymorphism and human origin. *Scientific American* 1993, 321:46-51.
66. Kocora M., Blagoerska M., Bogoesiski M., Constantinova M., Dorman J., Trucco M. HLA clas II molecular Typing in European Slavic population with a low incidence of insulin dependents Diabetes Mellitus. *Tissue Antigens* 1995, 45:216-219.
67. Langlois R. G., Bigbee W. L., Jensen R. H., German J. Bloom's syndrome: use of the glycophorin A (GPA) assay to demonstrate an excessive accumulation of mutation in vivo. *American Journal Human Genetic.* 1988, 43(3):0103
68. Lawlor D. A., Dickel C. D., Hauswirth W. W., Parham P. Ancient HLA-genes from 7500 year-old archaeological remains. *Nature* 1991, 349:785-787.
69. Lehninger A. L. 1988. *Bioquímica*. 2 ed. Omega. España.
70. Levitan M. 1988. *Textbook of human genetic*. 3 ed. Oxford Univ. Press. USA.
71. Li C.C., Weeks D.E., Chakravarti A. Similarity of DNA Fingerprints Due to Chance and Relatedness. *Human Heredit.* 1992, 43: 45-52

72. Lisker R. 1981. Estructura genética de la población Mexicana. Aspectos médicos y antropológicos. Salvat Biblioteca Médica Mexicana. México 158p.
73. Lisker R., Perez B. R., Granados J., Babinsky B., Rubens J., Armendarés S., Buentello L. Gene frequencies and admixture estimates in a Mexico City population. *Americ. Journ. Physic. Anthropol.* 1986, 71: 203-207
74. Lisker R., Ramirez E., Babinsky V. Genetic structure of autochthonous populations of Mesoamerica: Mexico. *Human Biology* 1996, 68: 395-404
75. Lisker R., Ramirez E., Peñaloza L., Salamanca F. Red cell acid phosphatase types and Gc polymorphisms in Merida, Oaxaca, León and Saltillo, Mexico. *Human Biology* 1994, 66(6):1103-1109.
76. Lisker R., Ramirez E., Pérez-Briceño R., Granados J. Babinsky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican centers. *Human Biology* 1990, 62(6):791-801.
77. Little P. F. R., Flavell R. A., Kooter J. M., Anisson G., Williamson R. Structure of the human fetal globin locus. *Nature* 1979, 278:227-231.
78. Little P. F. R., Williamson R., Anisson G., Flavell R. A., DeBoer E., Bernini L. F., Ottolengi S., Saglio G., Mazza U. Polymorphisms of human γ -globin genes in Mediterranean populations. *Nature* 1979, 289:316-318.
79. Lorenzo J. L. 1981. Los orígenes mexicanos. En: *Historia General de México I*. 1ed. Colegio de México-Harla. México.
80. Manual Amplitype HLA-DQ α forensic DNA amplification and typing kit. Cetus Corp. 1990.
81. Matos M. E. El proceso de desarrollo en Mesoamérica. *Boletín de Antropología Americana*. 1982, 5:117-131.
82. Mckonkey E. 1993. *Human genetics the molecular revolution*. 1 ed. USA.
83. McNaughton S. J., Wolf L. L. 1979. *General Ecology* 2 ed. Holt Rinehart & Winston. Chicago-London 1120p.
84. Mettler L. E., Gregg T. G. 1978. *Genética de las poblaciones y Evolución*. Unión Tipográfica Hispano Americana 245p.
85. Nakamura Y., Julier C., Wolff R., Holm T., O'Connell P. Characterization of human midisatellites sequence. *Nucleic Acid Research* 1987, 15:2537-2548.
86. Nakamura Y., Leppert M., O'Connell P., Wolff R., Holm T., Culver M., Martin C., Fujimoto E., Hoff M., Kumlin E., White R. Variable Number of Tandem Repeat (VNTR) Markers for Human Gene Mapping. *Science* 1987, 233:1616-1622.

87. Nawotka E. El problema Indígena: Los orígenes. *Boletín de Antropología Americana* 1982, 6:53-66.
88. Papadakis M. N., Patrinos G. P., Drakoulakou O., Loutradi-Anagnostou A. HbF-lesvous: an HbF variante due to a novel $G\gamma$ mutation ($G\gamma$ 75 ATA→ACA) detected in a Greek family. *Human Genetics* 1996, 97:260-262.
89. Perkin Elmer. AmpliFLP™ DIS80. 1994. USA.
90. Piña Ch. R. 1985. Un modelo de evolución social y cultural del México precolombino. En: *Mesoamérica y el Centro de México*. Monjarás J. R., Brambila R., Pérez Rocha E. INAH. México.
91. Race R. R., Sanger R. 1975. los grupos sanguíneos humanos. 2 ed. La Prensa Médica. México.
92. Reynolds R., Sensabaugh G. Analysis of genetic markers in forensic DNA samples using the Polymerase Chain Reaction. *Analytical Chemistry* 1991, 63(1):1-15.
93. Rodríguez C. M. S, Bellas S., Souto L., Vide C., Valverde E., Carracedo A. Population data on the loci LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, and Gc in three Southwest European populations. *Journal of Forensic Science* 1996, 41(2):291-296.
94. Rogan P.K., Salvo J.J. Study of Nucleic Acids isolated from ancient remains. *Yearbook of Physical Anthropology*. 1990, 33: 195-214.
95. Rudert W., Trucco M. 1992. A novel approach to rapid HLA class molecular Typing. En: *Proceedings of the Eleventh Histocompatibility Workshop and Conference Held in Yokohama Japon*. Edit. Kimiyoshi, Azawa M. & Tokciko S. Oxford Universit. Press. Cap. C2.C.19 Japón.
96. Saavedra C. G. 1996. Análisis de la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas en el locus DIS80 en una muestra de la zona metropolitana de la Ciudad de México. Tesis inédita. UNAM. México.
97. Saiki R. K., Walsh P. S., Levenson C. H. Genetic Analysis of amplified DNA with immobilized sequence-specific oligonucleotide probes. *Proceedings of the National Academic Science of the U S A*. 1989, 86:6230-6234.
98. Sajantila A., Budowle B., Ström M., Johnsson V., Lukka M., Peltonen L., Ehnholm Ch. PCR amplification of alleles at the DIS80 locus: comparison of a finnish and a north american caucasian population sample, and forensic casework evaluation. *Amerina Journal Human Genetic* 1992, 50:816-825.

- 99.Scholl S., Budowle B., Radecki K., Salvo M. Navajo, Pueblo and Sioux population data on the loci HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, Gc, and D1S80. *Journal of Forensic Sciences* 1996, 41(1):47-51.
- 100.Schroeder W. A., Huisman T. H. J., Efremov G. D., Shelton J. B. Phillips R., Reese A., Gravely M., Harrison J. M., Lam H. Further studies of the frequency and significance on the γ chain of human fetal hemoglobin. *Journal Clinical Investigation*. 1979, 63:368-275.
- 101.Shaw D. J., Brook J. D., Harley H. G., Sarfarazi M. Walch K. V., Rettin W. Kinner M. S. Regional mapping of myotonic distrophy and other markers on chromosome 19. *American Journal Human Genetics* 1987, 41(3):546.
- 102.Siebert P. D., Fokuda M. Molecular cloning of a human glycoporphin B cDNA: nucleotide sequence and genomic relationship to glycoporphin A. *Proceedings of the National Academic Science USA*. 1987, 84:6735-6739.
- 103.Slightom J. L., Blech A. E., Smithies O. Human fetal $\alpha\gamma$ and $\beta\gamma$ globin genes: complete nucleotide sequences suggest that DNA can be exchanged between these duplicated genes. *Cell* 1980, 21:627-638.
- 104.Sokal R.R., Rohlf F.J. 1969. *Biometry. The principle and practice of statistics in biological research*. 1 ed. W.H. Freeman and Company. USA 776 p.
- 105.Studencki A. B., Cooner B. J., Ompraim C. C., Teplitz R. L., Wallace B. Discrimination among human β^A β^S β^C -globin genes using Allele-specific oligonucleotide hybridization probes. *American Journal Human Genetic* 1985, 37:42-51.
- 106.Thompson J. S, Thompson M.W. 1983. *Genética Médica*. 2a. ed. Salvat. España.
- 107.Thymann M. , Nellemann L.J., Masumba G., Irgens-Moller L., Morling N. Analysis of the locus D1S80 by amplified fragment length polymorphism technique (AMP-FLP). Frequency distribution in Danes. Intra and inter laboratory reproductibility of the technique. *Forensic Science Internacional*. 1990, 60: 47-56
- 108.Tiburcio V., Romero A., De Garay A. L. Gene frequencies and racial intermixture in a Mestizo population from Mexico City *Ann. Human Biology* 1978, 5: 131-138.
- 109.Trowsdale J. Iso-leuko antibodies. *Vox Sang* 1958, 13:40-46
- 110.Tsui L. P., Buchwald M., Barker D., Braman J. C., Knowlton R., Schumm J. W., Eiberg H., Mohr J., Kenedy D., Plausi K. N., Zsiga M., Akots G. Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA marker. *Science* 1985, 230(4729):1054-1057.

111. Vassart G., George M., Monsieur R., Brocas H., Lequarre A. S., Christophe D. A sequence in M13 phage detects hyperbaric minisatellites in human and animal DNA. *Science* 1987, 235:683-684.
112. Vohl M. C., Couture P., Moorjani S., Torres A. L., Gagne C., Despres J. P., Lupien P. J. Labrie F., Simard J. Rapid detection of three point mutation in the LDL Receptor gene causing familial hypercholesterolemia among French Canadians. *American Journal Human Genetics* 1985, 37(4):247.
113. Watson J. D. 1970. *Molecular biology of the gene*. 2 ed. Walter Benjamin. USA.
114. William N. I. Context and chronology of early man in the Americas. *Ann. Rev. Anthropol.* 1985, 14:523-529.
115. Yamamoto T., Davis C. G., Brown M. S., Schneider W. J., Casey M. L., Goldstein J. L., Russell D. W. The human LDL Receptor: A cysteine-rich protein with multiple alu sequences in its mRNA. *Cell* 1984, 38:27-38.
116. Yang F., Brune S. L., Kathleen C. H., Bowman B. Human group-specific component (Gc) is a member of the gene of the albumin. *American Journal Human Genetic* 1985. 43.
117. Yang F., Brune S. L., Rod N. L., Kathleen C. H., Bowman B. Human group-specific component (Gc) is a member of the albumin family. *Proceeding of National Academic Science. USA.* 1985, 82:7994-7998.
118. Zar J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2 ed. Prentice Hall USA 718 p.