

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



---

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

VARIACIÓN E IDENTIDAD DEL GEN *APOE* EN TRES ETNIAS  
MEXICANAS (MIXES, CORAS, OTOMÍES)

T E S I S

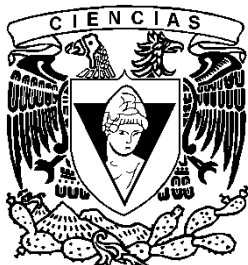
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

ALEJANDRO FREYERMUTH MILLÁN

Director: Dr. Luis Medrano González



México, DF.

2013.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

1. DATOS DEL ALUMNO

Freyermuth  
Millán  
Alejandro  
55 15 42 46  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
407002533

2. DATOS DEL TUTOR

Dr.  
Luis  
Medrano  
González

3. DATOS DEL SINODAL 1

Dr.  
Alfonso Miguel  
Torre  
Blanco

4. DATOS DEL SINODAL 2

Dra.  
Blanca Zoila  
González  
Sobrino

5. DATOS DEL SINODAL 3

Dr.  
Daniel Ignacio  
Piñero  
Dalmau

6. DATOS DEL SINODAL 4

M. en C.  
Blanca  
Hernández  
Guadarrama

7. DATOS DEL TRABAJO ESCRITO

Variación e identidad del gen APOE en tres etnias mexicanas (Mixes, Coras, Otomíes)  
52 p  
2013

## CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| Resumen.....                           | 4  |
| Abstract.....                          | 4  |
| Introducción.....                      | 5  |
| Antecedentes.....                      | 7  |
| Planteamiento de la investigación..... | 16 |
| Objetivos.....                         | 16 |
| Métodos.....                           | 17 |
| Resultados.....                        | 20 |
| Discusión.....                         | 39 |
| Agradecimientos.....                   | 43 |
| Literatura citada.....                 | 44 |

## **RESUMEN**

El gen *APOE* participa en el transporte sanguíneo de colesterol y triglicéridos y en los seres humanos presenta dos mutaciones puntuales que producen tres variantes alélicas predominantes (APOE2, APOE3 Y APOE4). En este trabajo se determinaron las frecuencias de estas variantes en tres poblaciones indígenas mexicanas (Mixes, Coras y Otomíes) y se compararon con valores reportados para otros grupos humanos. Se encontraron diferencias importantes en la frecuencia de APOE4 que separa a Coras de Otomíes y Mixes y sugiere la existencia de un gradiente en Norteamérica en el que la frecuencia de APOE4 se incrementa conforme aumenta la distancia al ecuador. No se encontró APOE2 en ninguna de las poblaciones examinadas. Las frecuencias alélicas observadas pueden ser el resultado de diferencias en los procesos demográficos, en el flujo genético y/o en la interacción entre deriva génica y selección natural a través de la historia.

## **ABSTRACT**

The *APOE* gene plays an important role in the transport of cholesterol and triglycerides in the blood showing three predominant alleles (APOE2, APOE3 and APOE4) in humans, produced by two point mutations. We determined the allelic frequencies in three Mexican indigenous populations (Mixes, Coras and Otomíes) and compared them with reported frequencies from other human groups. Important differences in the APOE4 frequency were observed separating Coras from Otomíes and Mixes and suggesting the existence of a gradient along northern America in which APOE4 frequency increases away from the equator. The APOE2 variant was not found in the examined populations. The observed allele frequencies may result from differences in demographic processes, gene flow and/or the interaction between genetic drift and natural selection throughout history.

## INTRODUCCIÓN

Los lípidos son transportados en el torrente sanguíneo agregados en complejos solubles de lipoproteínas (Mahley e Innerarity, 1983). Las apolipoproteínas son el componente proteico de dichos complejos, y se caracterizan por presentar hélices anfipáticas que solubilizan moléculas lipofílicas (Segrest *et al.*, 1992; Mahley, 2000). La principal función de la apolipoproteína E (apoE) es el transporte y remoción de colesterol y triglicéridos (Mahley *et al.*, 2000). La apoE es un ligando del receptor para lipoproteínas de baja densidad (LDLr) que estimula la endocitosis de lipoproteínas sanguíneas (Mahley e Innerarity, 1983; Rudenko y Deisenhofer, 2003; Hauser *et al.*, 2011), vía por la cual el colesterol y otros lípidos son removidos de la circulación por el hígado (Ishibashi *et al.* 1994). En *Mus musculus*, la sobreexpresión de *APOE* protege contra la aterosclerosis inducida por la dieta (Shimano *et al.*, 1992) mientras que ratones *knockout* presentan niveles altos de colesterol y una mayor susceptibilidad a la aterosclerosis (Zhang *et al.*, 1992). Algunos estudios han demostrado que ratones deficientes en apoE son más susceptibles a la neurodegeneración (Walker *et al.*, 1997; Robertson *et al.*, 1997) ya que dicha proteína es, dentro del sistema nervioso central, el transportador más importante de colesterol, un compuesto esencial para el desarrollo y regeneración neuronal (Hauser *et al.* 2011).

El gen *APOE* se encuentra en el brazo largo del cromosoma 19, tiene una longitud de 3.6 Kb, tiene tres intrones de 760, 1092 y 582 pb y cuatro exones de 44, 66, 193 y 860 pb (Paik *et al.*, 1985). Se expresa en el hígado, macrófagos, cerebro y piel (Mahley y Rall, 2000) y en menor medida, en la médula ósea, pulmones, glándulas adrenales, ovarios y riñones lo que sugiere su participación en procesos no relacionados con el transporte de lípidos sanguíneos (Mahley, 1988; Hauser *et al.*, 2011). Existen tres variantes alélicas del gen *APOE*,  $\epsilon 4$ ,  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 2$ , que resultan de dos transiciones ( $C^{3937} \rightarrow T$  y  $C^{4075} \rightarrow T$ ) en el cuarto exón (Nickerson *et al.*, 2000). Los productos de cada alelo difieren en el residuo 112 (apoE4 presenta arginina mientras que apoE3 y apoE2 presentan cisteína) y 158 (apoE3 y apoE4 tienen arginina y apoE2 cisteína). Esto modifica funcionalmente a las tres isoformas ya que apoE3 y apoE4 se unen *in vitro* al receptor de LDL con una afinidad equivalente mientras que apoE2 presenta sólo el 2% de dicha capacidad; adicionalmente, apoE3 y apoE2 presentan mayor afinidad por lipoproteínas de alta densidad (HDL) ricas en fosfolípidos mientras que apoE4 se une preferentemente a las lipoproteínas de

muy baja densidad (VLDL), ricas en triglicéridos, y a los remanentes de quilomicrones (Gregg *et al.*, 1986; Weisgraber, 1990; Dong *et al.*, 1994; Mahley y Rall, 2000). Como resultado, los niveles de triglicéridos y colesterol de los portadores de uno u otro alelo son distintos;  $\epsilon 3$  es el alelo más común y con él se definen los valores estándar de triglicéridos, colesterol, apoE y apoB sanguíneos. La variante  $\epsilon 2$  está asociada con concentraciones elevadas de triglicéridos y apoE plasmáticos así como con niveles bajos de colesterol y apoB (Nickerson *et al.*, 2000). Por otro lado,  $\epsilon 4$  se ha relacionado con concentraciones bajas de apoE sanguíneo y con niveles altos de apoB y colesterol plasmáticos (Davignon *et al.*, 1988; Wilson, 1995). En consecuencia,  $\epsilon 4$  aumenta el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular (Mahley y Rall, 2000) al tiempo que  $\epsilon 2$  lo disminuye (Assmann *et al.*, 1984; Bennet *et al.*, 2007).

Existen diferencias geográficas y étnicas en las frecuencias alélicas de *APOE* (Mahley y Rall, 2000) ya que sus alelos se distribuyen a lo largo del planeta en un patrón no aleatorio. En todas las poblaciones estudiadas hasta la fecha,  $\epsilon 3$  es el alelo prevalente con una frecuencia en el intervalo 0.50 - 0.90; la población maya presenta una de las frecuencias más elevadas de  $\epsilon 3$  en el mundo (0.9) (Corbo y Scacchi, 1999). La frecuencia de  $\epsilon 2$  oscila entre 0.01 y 0.15 lo que hace de  $\epsilon 2$  el alelo más raro (Mahley y Rall, 2000). Sub-Saharianos, Malayos y Papúas tienen valores particularmente elevados de este alelo (Singh *et al.*, 2006) mientras que los Inuits, Sudamericanos, Siberianos y Mongoles lo presentan en frecuencias bajas o carecen completamente de él (Corbo y Scacchi, 1999). La prevalencia de  $\epsilon 4$  varía considerablemente entre poblaciones con valores entre 0.05 y 0.35. Pigmeos, Tutsi y Khoi San de África Central, Papúas y Aborígenes de Oceanía así como Sami del Ártico, presentan los valores más altos (Corbo y Scacchi, 1999) mientras que frecuencias muy bajas se encuentran en grupos mediterráneos y asiáticos (Egert *et al.*, 2011). La presencia de apoE4 aumenta junto con la latitud en Eurasia y Norteamérica pero disminuye latitudinalmente en África (Gerdes *et al.*, 1992; Corbo y Scacchi, 1999; Singh *et al.*, 2006; Borinskaya *et al.*, 2007; Egert *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011).

El análisis de la secuencia de *APOE* indica que  $\epsilon 4$  es la condición ancestral de la cual derivó  $\epsilon 3$  y a partir del cual habría surgido  $\epsilon 2$  (Hanlon y Rubinsztein, 1995; Fullerton *et al.*, 2000). La región flanqueante a la mutación puntual C<sup>3937</sup> ->T que diferencia  $\epsilon 3$  de  $\epsilon 4$ , presenta una variación menor a otras regiones del gen que se ha interpretado como evidencia de un barrido selectivo a favor de  $\epsilon 3$  en la población humana (Fullerton *et al.*, 2000). Esto ha llevado a pensar que  $\epsilon 3$  presenta ventajas selectivas sobre  $\epsilon 4$  aunque aún no es claro en qué aspecto (Hanlon y Rubinsztein, 1995). Por otro lado, los efectos amplios y deletéreos de apoE4 han provocado



preguntas acerca de su alta presencia en algunas poblaciones así como acerca de los procesos evolutivos adaptativos que explican su distribución (Eisenberg *et al.*, 2010).

El aumento en la longevidad de las poblaciones humanas aumenta la frecuencia de enfermedades cardiovasculares y este fenómeno más fuerte en poblaciones con altas frecuencias de  $\epsilon 4$  (Corbo y Scacchi, 1999). Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de mortalidad (17.2%) en la población mexicana (SINAVE/DGE/SALUD, 2012) pero no en la población indígena (alrededor de 8.7 millones de personas en más de 60 etnias), pero su incidencia va en aumento (INEGI, 2004). El análisis de la composición alélica de *APOE* en las poblaciones es útil no sólo para obtener indicios acerca de la historia evolutiva de las mismas sino como herramienta para conocer la emergencia de enfermedades cardiovasculares y para diseñar políticas de salud pública adecuadas para las diferentes etnias que forman parte de nuestro país y para la población mexicana en general cuya herencia indígena está distribuida en todo el país aleatoriamente (González-Sobrino *et al.*, En preparación). Dada la importancia de *APOE* en la historia evolutiva de las poblaciones humanas así como su relación con la incidencia de enfermedades cardiovasculares, en esta tesis estudio la distribución de las frecuencias alélicas de este gen en tres poblaciones indígenas de México (Mixes, Coras y Otomíes) que tienen diferentes historias, modos de vida y grados de similitud genética evaluados con marcadores moleculares neutrales como el DNA mitocondrial (mtDNA) y el cromosoma Y (González-Sobrino *et al.*, En preparación). Asimismo, comparo la variación del gen *APOE* de estas tres etnias mexicanas con varias poblaciones en el mundo que incluyen a los Nahuas, Mazatecos, Tarahumaras y Huicholes que son también etnias mexicanas.

## **ANTECEDENTES**

### **Bioquímica de APOE**

ApoE es un componente de las VLDLs secretadas por el hígado, y se incorpora a los quilomicrones poco después de la secreción de éstos por el intestino delgado (Mahley y Rall, 2000). La mayor parte de la ApoE plasmática, que tiene una concentración de 20-60 mg/L (Minihane *et al.*, 2007), se produce en el hígado y los macrófagos, pero *APOE* se expresa

también en el cerebro, la médula, los pulmones, las glándulas adrenales, los ovarios y los riñones (Mahley, 1988; Hauser *et al.*, 2011). Su función principal es transportar y remover del torrente sanguíneo colesterol en lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), colesterol lipoproteico de alta densidad (HDL-C), colesterol lipoproteico de muy baja densidad (VLDL-C) y triglicéridos (Mahley *et al.*, 2000). Para ello, actúa como ligando de alta afinidad para distintos receptores membranales, entre ellos la proteína 1 relacionada con el receptor de LDL (LRP1), el receptor 2 de apoE (apoER2), el receptor de VLDL (VLDLr) y el receptor LDL apoB-E (LDLr) (Hauser *et al.*, 2011; Kuhlmann *et al.*, 2010). Entre ellos, el más importante es LDLr que es una proteína integral de membrana (839 aminoácidos) que participa en la endocitosis - mediada por clatrina - de lipoproteínas sanguíneas (Mahley e Innerarity, 1983; Rudenko y Deisenhofer, 2003; Hauser *et al.*, 2011), vía mediante la cual el colesterol y otros lípidos son removidos de la circulación (Ishibashi *et al.* 1994). La Proteína relacionada con el receptor LDL (LDL receptor related-protein, LRP) es un receptor alternativo de apoE. Es una molécula de 600 000 Da, miembro de la familia de receptores de LDL, y participa en el metabolismo de remanentes de quilomicrones en el hígado (Mahley y Ji, 1999). Cuando éstos entran al espacio de Disse, una alta concentración de sulfato de heparano (HSPG) en los hepatocitos los atrapa para ser posteriormente procesados por la lipasa hepática (HL) y la lipoproteínlipasa (LPL) previo a su transferencia hacia LRP, que al activarse promueve la endocitosis (Mahley y Rall, 2000; Mahley y Ji, 1999).

La acumulación de apoE en la superficie de las lipoproteínas disminuye la tasa de lipólisis sobre éstas (Huang *et al.*, 1998; Rensen y van Berkel, 1996) y el aumento en la síntesis y secreción de apoE hepática se asocia con una mayor síntesis y secreción hepática de VLDLs (Huang *et al.*, 1998). Adicionalmente, al tener una mayor afinidad por LDLr que apoB, apoE evita la remoción de la primer especie junto con sus lípidos asociados (Mahley e Innerarity, 1983; Mahley y Ji, 1999). Mediante estos mecanismos apoE influye en los niveles de lípidos de forma alternativa a su papel en la endocitosis.

En el ratón (*Mus musculus*) la sobreexpresión de *APOE* protege contra la aterosclerosis inducida por la dieta (Shimano *et al.*, 1992) al tiempo que ratones *knockout* presentan mayor susceptibilidad (Zhang *et al.*, 1992). Algunos estudios han demostrado que ratones deficientes en apoE son proclives a la neurodegeneración (Walker *et al.*, 1997; Robertson *et al.*, 1997) ya que dicha proteína es, dentro del sistema nervioso central, el transportador más importante de colesterol, un compuesto esencial para el desarrollo y regeneración neuronal (Hauser *et al.*, 2011). Su expresión aumenta en zonas dañadas del sistema nervioso periférico, y *APOE* ha sido

identificado como uno de los genes que modifican la probabilidad de desarrollar enfermedad de Alzheimer (Mahley y Rall, 2000).

El precursor de apoE es una sola cadena (Mahley y Rall, 2000) formada por 317 aminoácidos; los primeros 18 son parte de una secuencia señal que se separa para producir el producto maduro que es una glicoproteína de 299 aminoácidos (masa molecular de 34 KDa) ordenada en dos dominios separados por una “bisagra” (residuos 167-205) (Wetterau *et al.*, 1988; Aggerbeck *et al.*, 1988, Chen *et al.*, 2011). El dominio del extremo amino terminal (residuos 1-167) es rico en aminoácidos alcalinos y se organiza en cuatro hélices (residuos 24-42, 54-81, 87-122, 130-164) ordenadas de forma antiparalela, con las hélices 1 y 2 unidas por una pequeña hélice adicional (residuos 44-53). En la cuarta hélice se localiza el sitio de interacción con heparina y LDLr. (Wilson *et al.*, 1999). El dominio carboxilo terminal (residuos 206-299) contiene la región de unión a lípidos (Chen *et al.*, 2011) cuya estructura no ha sido descrita con alta resolución (Hauser *et al.*, 2011) pero en la que estudios *in silico* predicen alfa hélices anfipáticas formadas por los residuos 210-266 y 268-289 (Segrest *et al.*, 1992).

La configuración de apoE en estado libre intercala las hélices del dominio carboxilo entre las hélices del dominio amino, lo que obstruye el sitio de reconocimiento para LDLr (Segrest *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 2011) y expone los residuos hidrofóbicos permitiendo la interacción con lípidos. La unión con estos compuestos provoca un cambio conformacional en el que los dominios carboxilo y amino se alejan, y las superficies hidrofóbicas giran hacia las moléculas de lípidos mientras que las superficies hidrofílicas lo hacen hacia la solución, activando la función de ligando de apoE y estabilizando el complejo apoE-lípido (Chen *et al.*, 2011) que se agregan en una bicapa discoidal, con las apolipoproteínas circunscritas en la periferia (Innenarity *et al.*, 1979; Pitas *et al.*, 1980; Sparrow *et al.*, 1985).

### **Genética de APOE**

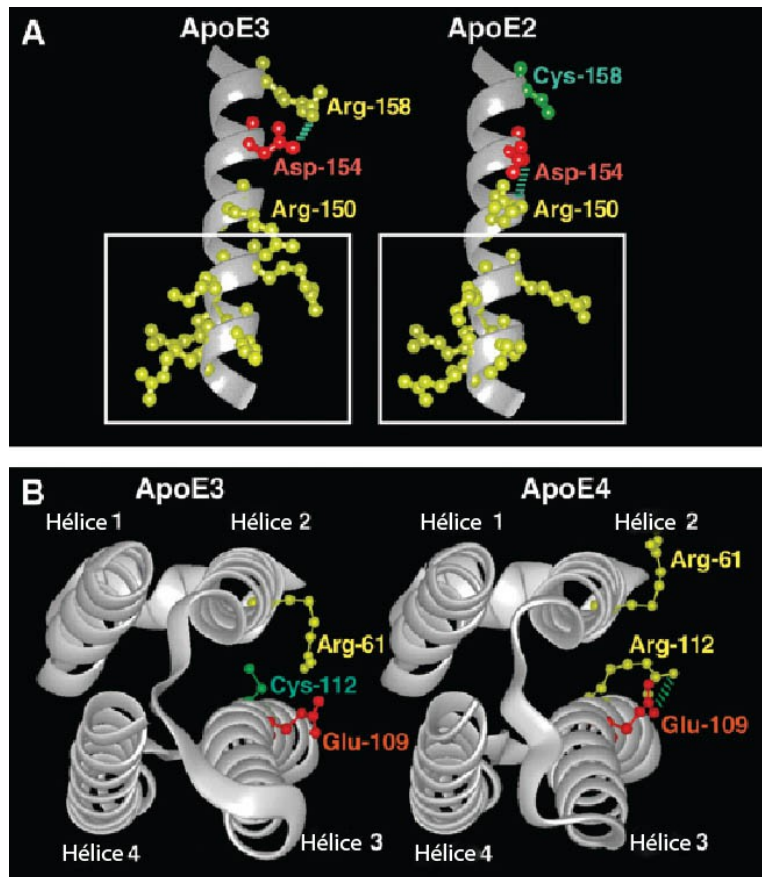
El gen *APOE* se encuentra en un cúmulo de 45 Kb que también contiene los genes de APOCI, CII, CIV y el pseudogen CI (Allan *et al.*, 1995). La región 5' al sitio de inicio de la transcripción presenta la secuencia TATAATT (homóloga a la caja TATA) en la posición -33. Dos secuencias palíndromas con alto contenido de GC se localizan en las posiciones -76 a -46 y -144 a-108. Cuatro elementos de la familia Alu han sido identificados, dos de los cuales se sitúan en el

segundo intrón, uno en la región flanqueante 5' y un último en la región flanqueante 3' (Paik *et al.*, 1985).

La combinación de dos transiciones ( $C^{3937} \rightarrow T$  y  $C^{4075} \rightarrow T$ ) permite la existencia de cuatro haplotipos;  $T^{3937}-T^{4075}$  define al alelo  $\epsilon 2$ ,  $T^{3937}-C^{4075}$  genera la variante  $\epsilon 3$  y  $C^{3937}-C^{4075}$  corresponde al alelo  $\epsilon 4$  (Nickerson *et al.*, 2000). La última combinación es  $C^{3937}-T^{4075}$ , que produce al alelo  $\epsilon 3r$ , que ha sido encontrado sólo en cuatro individuos y que se origina por mutaciones puntuales a partir de  $\epsilon 3$  ó  $\epsilon 4$  (Seripa *et al.*, 2007). El producto de cada alelo es distinto: ApoE3 (a partir de  $\epsilon 3$ ) presenta un residuo de cisteína en la posición 112 y uno de arginina en 158; apoE4 (codificado por  $\epsilon 4$ ) presenta arginina en las dos posiciones y apoE2 ( $\epsilon 2$ ) tiene cisteína en ambas (Weisgraber *et al.*, 1981; Utermann, 1987). El cambio de arginina por cisteína en la posición 158 (apoE2) modifica las interacciones electrostáticas entre los residuos de la hélice 4 y entre la hélice 4 y la hélice 3, lo que reduce el potencial iónico de los residuos 140-150 (parte del sitio de unión con LDLr). La sustitución de cisteína por arginina en apoE4 genera una nueva interacción electrostática entre las posiciones 109 y 112, lo que modifica la orientación de residuos de la cadena (Wilson *et al.*, 1991). Las diferencias entre alelos impactan los niveles sanguíneos de colesterol:  $\epsilon 3$  define los valores “normales” de triglicéridos, colesterol, apoE y apoB sanguíneos,  $\epsilon 2$  está asociado con concentraciones elevadas de triglicéridos y apoE plasmáticos; así como niveles bajos de colesterol y apoB (Nickerson *et al.*, 2000) y  $\epsilon 4$  ha sido relacionado con concentraciones bajas de apoE sanguíneo y con niveles altos de apoB y colesterol plasmáticos (Davignon, *et al.*, 1988; Wilson, 1995). Se ha propuesto que los seis genotipos posibles de *APOE* son responsables del 10% de la variación total de la concentración de colesterol sanguíneo en la población mundial (Mahley y Rall, 2000). Consecuentemente, los portadores de  $\epsilon 4$  presentan un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (CVD), debido a los altos niveles de colesterol sanguíneo asociados y a mecanismos adicionales como diferencias en el estado oxidativo y la inflamación crónica pueden contribuir al riesgo de desarrollar CVD (Jofre-Monseny *et al.*, 2008).

### **Evolución de APOE**

La relación filogenética entre los tres alelos se resolvió al comparar con *APOE* de primates no humanos. La forma ancestral es  $\epsilon 4$ , de la cual derivó  $\epsilon 3$ , y a partir del cual habría surgido  $\epsilon 2$  (Hanlon y Rubinsztein, 1995; Fullerton *et al.*, 2000).



**Figura 1.** Estructura tridimensional de las regiones de apoE, resaltando las diferencias entre isoformas. (A) Cambio de los puentes salinos en la hélice 4 de apoE2 que reduce la afinidad por LDLr, con el sitio de reconocimiento señalado en el recuadro (Tomado de Mahley *et al.*, 2009). (B) Región de las cuatro hélices donde se aprecia la modificación estérica en las hélices 2 y 3 de apoE4. (Tomado de Mahley y Huang, 1999).

Otros primates no presentan polimorfismo, y su secuencia corresponde a  $\epsilon 4$ , lo que sugiere que  $\epsilon 3$  apareció posterior a la divergencia entre humanos y chimpancés (Hanlon y Rubinsztein, 1995). Cuando se examina a nivel de secuencia nucleotídica, *APOE* es uno de los genes humanos menos variables, ( $\pi=0.0005$ ) y tiene evidencias de selección positiva a favor de  $\epsilon 3$  (Fullerton *et al.*, 2000).

La baja frecuencia o ausencia de  $\epsilon 2$  en grupos americanos, siberianos y mongoles (Corbo y Scacchi, 1999) ha llevado a proponer que los grupos del norte de Asia que cruzaron hacia América no tenían dicho alelo (Cavalli-Sforza *et al.*, 1994), ya sea por efectos de deriva génica o debido a que su aparición fue posterior a la dispersión del hombre hacia América (Fullerton *et al.*, 2000). La frecuencia de apoE2 en los distintos grupos humanos fluctúa sin ninguna tendencia aparente y sus propiedades no parecen ofrecer ninguna ventaja selectiva en ningún ambiente (Corbo y Scacchi, 1999), ya que la protección hacia la enfermedad cardiovascular se manifiesta en edades post-reproductivas. La presencia de  $\epsilon 2$  en algunos nativos americanos se ha atribuido a eventos de migración, aunque algunos autores proponen que dicho alelo se encuentra naturalmente en dichas poblaciones y sugieren la existencia de un gradiente latitudinal en Sudamérica (Demarchi *et al.*, 2005), aunque es necesario recopilar más evidencia para corroborar dicha hipótesis.

En el hemisferio norte, la frecuencia de  $\epsilon 4$  disminuye del ecuador a los 35 °N y aumenta con la latitud a partir de los 35 °N (Eisenberg *et al.*, 2010). Las poblaciones africanas tienen de dos a tres veces la frecuencia encontrada en poblaciones de Europa Central, y alrededor del 34% de los nativos de África portan al menos una copia de  $\epsilon 4$  (Sandholzer *et al.*, 1995). La proporción observada en aborígenes australianos es el doble de la registrada en poblaciones australianas con ascendencia europea (Kamboh *et al.*, 1991). En la población mexicana, la frecuencia de  $\epsilon 4$  depende del grado de urbanización así como del impacto del flujo genético europeo; en Guadalajara la frecuencia es baja (0.08) pero aumenta hasta 0.28 en los huicholes de Nayarit (Aceves *et al.*, 2006). La estructura de la población humana (a nivel global) no explica las diferencias en la prevalencia de apoE4 entre grupos humanos (Eisenberg *et al.*, 2010) por lo que se ha propuesto que la selección natural ha tenido un papel importante (Fullerton *et al.*, 2000; Eisenberg *et al.*, 2010).

Se ha especulado mucho acerca de los procesos evolutivos que explican la distribución alélica de *APOE* (Sing y Davignon, 1985; Corbo y Scacchi, 1999; Martin, 1999; Allen *et al.*, 2005; Prentice *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2006; Borinskaya *et al.*, 2007; Reser, 2009; Eisenberg *et al.*, 2010). El gen presenta signos de selección positiva en humanos cuando se compara con chimpancés (*Pan troglodytes*) (Vamathevan *et al.*, 2008), lo que sugiere la existencia de presiones selectivas filogenéticamente recientes (Eisenberg *et al.*, 2010); además, el análisis de la variación molecular sugiere un reemplazo de  $\epsilon 4$  por  $\epsilon 3$  en la población humana (Fullerton *et al.*, 2000). Esto, como ya se mencionó, ha llevado a pensar que  $\epsilon 3$  presenta ventajas selectivas sobre

$\epsilon 4$ , aunque aún no es claro en qué aspecto, ya que la predisposición de  $\epsilon 4$  hacia la enfermedad cardiovascular no funciona como explicación debido a que dichos padecimientos, de haber existido en tiempos anteriores a la sociedad humana moderna, aparecen en etapa postreproductiva, de manera que escaparían al mecanismo selectivo (Hanlon y Rubinsztein, 1995). Algunos estudios plantean que tanto  $\epsilon 3$  como  $\epsilon 2$  son adaptaciones a la ingesta de carne y a la extensión de la longevidad (Finch y Stanford, 2004; Allen *et al.*, 2005). Por otro lado, los efectos amplios y deletéreos de apoE4 han provocado preguntas acerca de su alta presencia en algunas poblaciones, así como acerca de los procesos evolutivos adaptativos que explican su distribución (Eisenberg *et al.*, 2010). Los grupos con valores más extremos de  $\epsilon 4$  y  $\epsilon 3$  parecen ser los más aislados, geográfica o culturalmente (Mahley y Rall, 2000), por lo que la deriva génica parece tener un papel importante. Las frecuencias más altas de  $\epsilon 4$  pertenecen a poblaciones indígenas Africanas que presentan un estilo de vida de cazadores-recolectores, mientras que las frecuencias más bajas aparecen alrededor de los centros agrícolas históricos, como Medio Oriente, sur de Europa, sureste de Asia, y Centroamérica (Gerdes, 2003; Mahley y Rall, 2000), lo que sugiere que existe una relación entre las frecuencias alélicas de *APOE* y la historia alimentaria de cada población (Corbo y Scacchi, 1999).

Alternativamente se ha señalado al clima como el factor que explica la distribución alélica de *APOE*. Borinskaya y colegas (2007) sugieren que el gradiente en las frecuencias de  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$  indica selección positiva hacia una mayor absorción de colesterol en latitudes altas, como respuesta a un mayor gasto energético y tasa metabólica (Lovegrove, 2003; Froehle y Schoeninger, 2006). El colesterol tiene un papel importante en la proliferación celular (Cuthbert and Lipsky, 1987) y el crecimiento de tejidos (Edison *et al.*, 2007; Pond *et al.*, 2008), así que tasas metabólicas altas provocarían una mayor demanda de este lípido (Hulbert y Else, 2004). Entre nativos Siberianos, cuyas tasas metabólicas basales (BMR) están por encima del estándar, el valor de la BMR se relaciona inversamente con niveles de LDL-C (Leonard *et al.*, 2008).

Una alta demanda de colesterol podría favorecería la presencia de  $\epsilon 4$  (Eisenberg *et al.*, 2010) ya que en adición a su papel como componente en las membranas celulares es precursor de hormonas esteroideas (Dietschy y Turley, 2001; Vance *et al.*, 2005), y ayuda a mantener respuestas inmunes robustas (Jacobs e Iribarren, 2000). Bajos niveles de colesterol producen desarrollo cerebral alterado (Schoknecht *et al.*, 1994; Pond *et al.*, 2008), decremento en la inteligencia (Benton, 1995; Elias *et al.*, 2005) y memoria empobrecida (Henderson *et al.*, 2003); deprimen la función reproductora en bóvidos (Anand y Prakasj, 2008) y disminuyen la tasa de

supervivencia de neonatos en mujeres (Edison *et al.*, 2007). La hipocolesterolemia también aumenta la agresividad, suicidio y la mortandad por motivos no arteroscleróticos, al tiempo que disminuye la conducta de afiliaciones (Kaplan *et al.*, 1997; Song *et al.*, 2000; Lester, 2002; Civelek *et al.*, 2007; Lavolic *et al.*, 2007). En el cerdo (*Sus scrofa*), una elevada ingesta de colesterol provocan una mayor ganancia de peso (Schoknecht *et al.*, 1994). Las poblaciones actuales que subsisten gracias a la caza y la recolección tienen niveles más bajos de colesterol comparados con poblaciones que consumen dietas occidentales o altas en grasas (Miller *et al.*, 1968; Mancilha-Carvalho y Crews, 1990; Kesteloot *et al.*, 1997), lo que sugiere que las poblaciones humanas antiguas (que subsistían similarmente) podrían haber mostrado niveles de colesterol menores a los de las sociedades occidentales (Eisenberg *et al.*, 2010). Dados los efectos perjudiciales de la hipocolesterolemia, las condiciones climáticas que imponen una demanda especialmente alta de colesterol pudieron haber favorecido a los portadores de  $\epsilon 4$ , aumentando la frecuencia de este alelo en esas poblaciones (Eisenberg *et al.*, 2010). No obstante, no se han encontrado evidencias de selección contra  $\epsilon 2$  en dichas poblaciones, lo que ha llevado a proponer que las causas de la variación en la frecuencia de  $\epsilon 2$  son distintas a las que explican la variación en  $\epsilon 4$  (Eisenberg *et al.*, 2010).

El desorden en el metabolismo de lípidos conocido como hiperlipoproteinemia tipo III (HLP III) se caracteriza por niveles muy elevados de colesterol y triglicéridos sanguíneos (>300 mg/dl) agrupados en lipoproteínas anormales, denominadas  $\beta$ -VLDL, las cuales están enriquecidas en colesterol y apoE, y son de origen hepático e intestinal. Casi la totalidad de los pacientes con HLP III son homocigotos para el alelo  $\epsilon 2$ ; sin embargo, la intervención de factores ambientales es esencial para el desarrollo de este cuadro, ya que sólo una pequeña fracción de individuos  $\epsilon 2/\epsilon 2$  desarrollan HLP III (Weisgraber *et al.*, 1982). La mayoría de los portadores de  $\epsilon 2$  que no padecen HLP III, tienen niveles sanguíneos bajos de LDL-colesterol y de apoB, y altas concentraciones de apoE plasmático (Assmann *et al.*, 1984; Bennet *et al.*, 2007), con la consecuente disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular.

En contraste,  $\epsilon 4$  aumenta el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular (Mahley y Rall, 2000) ya que sus portadores tienen un nivel de colesterol alto producto del efecto negativo que la afinidad preferencial de apoE4 por VLDLs y remanentes de quilomicrones tiene sobre la concentración de LDLr (Gregg *et al.*, 1986), aunado a otras diferencias en el estado oxidativo y la inflamación crónica, que también contribuyen a desarrollar CVD (Jofre-Monseny *et al.*, 2008). Consecuentemente, la frecuencia alélica de  $\epsilon 4$  es inusualmente alta en poblaciones de pacientes



hiperlipidémicos y con enfermedad cardiovascular (Davignon *et al.*, 1988; Stengard *et al.*, 1995). En algunos estudios se liga a apoE4 con una mayor absorción de colesterol (Kesaniemi *et al.*, 1987; Sehayek *et al.*, 2000; Tammi *et al.*, 2000), no así en otros (Woollett *et al.*, 1995; von Bergmann *et al.*, 2003); parece que individuos con e4 responden mejor a aumentos en la ingesta de grasas (Masson *et al.*, 2003). Por otro lado, varios trabajos relacionan a este alelo con una mejor salud y una menor tasa de mortandad en neonatos (Nagy *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2000; Zetterberg *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2003; Becher *et al.*, 2006; Gaynor *et al.*, 2007), hecho que podría explicar su persistencia en la población humana a pesar de los efectos negativos que ocasiona en edades avanzadas (Eisenber *et al.*, 2010) al ser un factor de riesgo para desarrollar angiopatía cerebral amiloide, tauopatías, demencia, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, y enfermedad de Alzheimer (Corder *et al.*, 1993; Hauser *et al.* 2011). Aún se debate la relación entre apoE4 y la hipertrigliceridemia (Mahley y Rall, 2000).

El polimorfismo de apoE afecta indirectamente al metabolismo de compuestos transportados dentro de las LDLs, como las vitaminas E y D. Portadores ε4 tienen menor concentración de vitamina E extrahepática, probablemente porque los tejidos periféricos presentan una menor retención (Lodge *et al.*, 2004; Egert *et al.* 2011). En ratones, apoE4 se asocia con niveles altos de vitamina D en la sangre (Huebbe *et al.*, 2011). Estas podrían ser las razones por las cuales apoE4 se mantiene en frecuencias altas en poblaciones donde hay escasez de alimento o irregularidad en su obtención (Singh *et al.*, 2006).

Existe evidencia de que el genotipo de *APOE* modula la susceptibilidad a ciertas infecciones virales. La proteína apoE4 incrementa la tasa de fusión y entrada celular del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), lo que acelera la progresión de la enfermedad (Burt *et al.*, 2008). El riesgo de infección y neuroinvasión por el virus del Herpes Simple 1 (HSV1) es mayor en individuos portadores de ε4 (Burgos *et al.*, 2003, Itzhaki y Wosniak, 2006). En contraste, ApoE4 protege contra el daño hepático producido por Hepatitis C y disminuye el riesgo de infección hepática crónica (Wozniak *et al.*, 2002; Price *et al.*, 2006). Se ha sugerido que este alelo reduce el riesgo de diarrea infantil y mejora el desenlace del padecimiento en niños con menos de 2 años de vida (Oriá *et al.*, 2010), aunque la evidencia de esta relación aún es escasa. En adultos mayores, ε4 está asociado a una mayor mortandad (Corder *et al.*, 1996; Schächter *et al.*, 1994).

## PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

En consideración a la relevancia de *APOE* en la historia de las poblaciones humanas así como su importancia en la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares (CVD), se estudiaron las frecuencias alélicas del gen *APOE* en una muestra geográfica y cultural de poblaciones indígenas mexicanas diferenciadas genéticamente (Coras, Mixes y Otomíes), para obtener indicios acerca de la microevolución del alelo  $\epsilon 3$  además de aportar conocimiento sobre la estructuración genética de la población mexicana en genes sujetos a selección dependiente del modo de vida. Este análisis busca obtener indicios acerca de la historia genética de los mexicanos, servir como herramienta en el estudio de la epidemia de enfermedades cardiovasculares que presenta nuestro país (Reddy y Yusuf, 1999; Acosta-Cázares y Escobedo de la Peña, 2010) y ser útil en el diseño de políticas de salud pública adecuadas para la población mexicana. La occidentalización de poblaciones con altas frecuencias de  $\epsilon 4$  conlleva a un aumento drástico de las enfermedades cardiovasculares en dichos grupos humanos (Corbo y Scacchi, 1999) y la dieta, el estilo de vida y la composición genética juegan papeles importantes en el desarrollo de estos padecimientos (Aceves *et al.*, 2006).

## OBJETIVOS

- 1) Determinar la composición de alelos y genotipos del gen *APOE* en tres etnias mexicanas (Coras, Otomíes y Mixes) y compararla con la variación de otras etnias mexicanas (Nahuas, Mazatecos, Tarahumaras y Huicholes) y otras poblaciones en el mundo.
- 2) Examinar los efectos de las fuerzas evolutivas sobre las frecuencias de alelos y genotipos del gen *APOE* en distintos grupos humanos.

## MÉTODOS

### Declaraciones éticas

Esta investigación se desarrolló en el Laboratorio de Antropología Genética del Instituto de Investigaciones Antropológicas (IIA) de la UNAM que dirige la Dra. Blanca Zoila González Sobrino. La realización de esta tesis con la dirección del Dr. Luis Medrano González del Departamento de Biología Evolutiva de la Facultad de Ciencias de la UNAM, forma parte del programa de colaboración entre ambos académicos. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del IIA-UNAM. Todas las personas que proveyeron muestras fueron adecuadamente informadas sobre el uso de su material biológico y cada uno dio un consentimiento firmado el cual se explicó y escribió en su idioma materno. Cartas de consentimiento también se obtuvieron de los líderes de las comunidades indígenas.

### Colecta de muestras

Analizamos 252 muestras del Laboratorio de Antropología Genética del IIA-UNAM; 80 pertenecen a la población de Coras de Nayarit, 92 a la población de Mixes de Oaxaca y 80 a la población Otomí del Valle del Mezquital (una fracción de la muestra otomí había sido previamente genotipificada por la M en C. Ana Itzel Juárez Marín). Integrantes de los proyectos CONACYT 48481 y PAPIIT-UNAM IN402507 colectaron saliva de las tres poblaciones utilizando el kit ORAgene®.

### Extracción de DNA

En el laboratorio, las muestras se incubaron por dos horas a 50 °C y se transfirieron a tubos eppendorf de 1.5 mL. Se añadieron 40 µL de purificador Oragene® a cada tubo, se incubó por 10 minutos a 4 °C y se centrifugó por 5 min a 13 000 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se le agregó un volumen proporcional de etanol absoluto. La mezcla fue centrifugada por 2 min a 13 000 rpm para recuperar el botón, mismo que se resuspendió en 100 µL de solución amortiguadora Tris-EDTA, pH=8. Las muestras se almacenaron en un ultracongelador a -80 °C. La concentración de DNA genómico se determinó en un espectrofotómetro Eppendorf® Biophotometer.

### Amplificación de un fragmento de *APOE*

Un segmento de 227 pb del cuarto exón de *APOE*, que contiene los tripletes que codifican para los aminoácidos 112 y 158, fue amplificado mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa

(PCR) con el kit Top Taq Master Mix de Qiagen®. Utilizamos oligonucleótidos cebadores comerciales (Oligosys, USA) con las secuencias 5'TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCGCA3' y 5'ACAGAATTTCGCCCCGGCCTGGTACTGCC3'. Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen de 25 µl, y para cada una se usaron 12.5 µL de amortiguador de reacción Top Taq Master Mix, 1.25 µL de cada cebador (ambos en una concentración final de 0.5 mmol/L), 1.5 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) y agua bidestilada. Para cada reacción se utilizaron 150 ng de DNA genómico. El programa de temperaturas para la amplificación fue el siguiente:

1. Desnaturalización a 95 °C por 5 min.
2. Alineación y extensión en 40 ciclos de 94 °C por 30 s, 65 °C por 30 s y 72 °C por 90 s.
3. Ultima extensión a 72 °C por 10 min.
4. Temperatura final 4 °C.

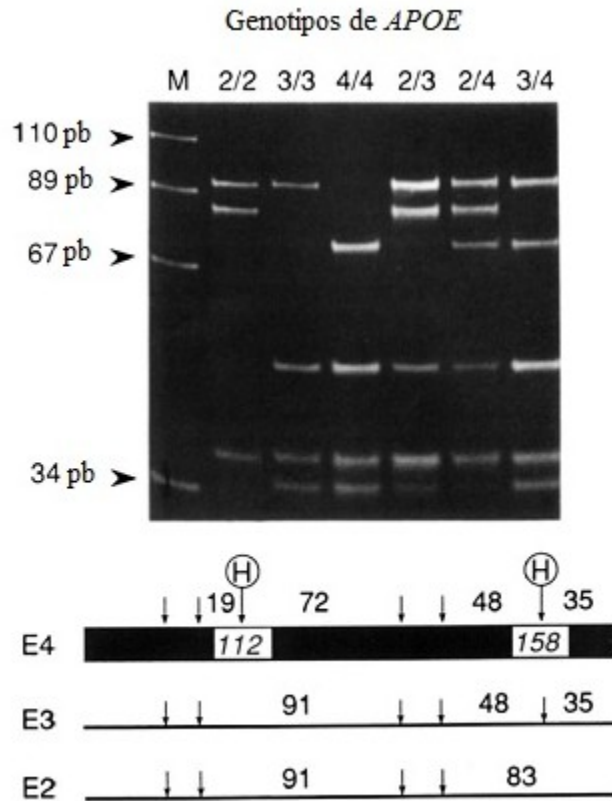
La reacción se realizó en un termociclador Eppendorf® modelo Mastercycler® Personal. De cada amplificado se separaron 2 µL para ser separadas por electroforesis en gel de agarosa al 2% en amortiguador Tris/Borato/EDTA (TBE) 1x, pH=8 a 90 V por 15 min. Los geles se tiñeron en una solución de bromuro de etidio 0.2 mg/L durante 10 min. Se analizó con un transiluminador de 254 nm la presencia/ausencia de la banda de 227 pb para comprobar que la amplificación se había llevado a cabo correctamente.

### **Digestión por *HhaI***

Digerimos 10 µL del producto de la amplificación con el kit *HhaI* de New England Biolabs®. Añadimos a cada tubo 0.18 µL de enzima de restricción *HhaI*, 10 µL de amortiguador de reacción NEB 4 y 3.32 µL de agua bidestilada. Las mezclas se mantuvieron a 37 °C toda la noche en una incubadora Barnslead modelo 120. El producto de la digestión se separó por electroforesis en gel de poliacrilamida 15% durante 3 horas a 220 V. El gel fue teñido con bromuro de etidio 0.2 mg/L por 15 min para después ser inspeccionado con un transiluminador de 254nm luz ultravioleta y fotografiado.

## Genotipificación

Cada genotipo tiene una combinación específica de fragmentos de restricción:  $\epsilon 2/\epsilon 2$  produce fragmentos de 91 y 83 pb; los segmentos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  son de 91, 48 y 35 pares de bases,  $\epsilon 4/\epsilon 4$  presenta segmentos de 72, 48 y 35 pb. Los genotipos heterocigotos contienen la suma de los fragmentos de ambos alelos (Figura 2; Hixson y Vernier, 1990).



**Figura 2.** Separación electroforética de los fragmentos de restricción de *APOE* y mapa de escisión de *HhaI*. Las flechas verticales indican los sitios de corte comunes a los tres alelos, mientras que las flechas verticales marcadas con “H” indican los sitios de corte que los diferencian (Modificado de Hixson y Vernier, 1990).

## Análisis de resultados

Revisamos en la literatura frecuencias genotípicas reportadas para *APOE* de 63 poblaciones humanas a las que agregamos los datos de Mixes, Coras, y Otomíes obtenidos en este estudio. Mediante el programa Arlequin<sup>®</sup> ver. 3.5.1.2 calculamos los índices de diversidad molecular H,

$\Theta_H$  y  $\Theta_K$  así como el parámetro  $F_{is}$ . Examinamos la prueba exacta de equilibrio de Hardy-Weinberg así como la prueba de neutralidad Ewens-Watterson (Ewens, 1972). Para todas las comparaciones entre poblaciones, determinamos el índice de diferenciación  $F_{st}$  con la linealización de Slatkin (Slatkin, 1995) así como la prueba exacta de diferenciación poblacional (Raymond y Rousset, 1995). Utilizando el software SigmaPlot 10, graficamos los valores  $\Theta_H$  contra  $\Theta_K$ , y Heterocigosis observada contra Heterocigosis esperada. Dividimos a las poblaciones en tres subgrupos: poblaciones con alta, media y baja frecuencia de APOE4, y graficamos los valores correspondientes de  $\Theta_H$  y  $F_{is}$ .

A partir de los valores pareados de  $F_{st}$  realizamos un árbol de distancias genética con el software STATISTICA® ver. 7.0 con el método del promedio ponderado de distancias entre pares (weighted-pair average). Utilizando el mismo software y a partir de las frecuencias genotípicas de cada población elaboramos un dendograma utilizando distancias euclidianas.

Realizamos un análisis de componentes principales (PCA) con STATISTICA® ver. 7.0 para identificar cuáles son los genotipos responsables de las diferencias interpoblacionales en las frecuencias alélicas y genotípicas de *APOE*. Posteriormente ubicamos a cada población en seis regiones geográficas: Norteamérica, América del Sur, Europa, África, Asia Septentrional y Asia Suroriental- India, y representamos estos subgrupos en el análisis de componentes principales de frecuencias alélicas y en la comparación entre  $\Theta_H$  y  $F_{is}$ .

Finalmente, elaboramos un mapa del continente Americano en el que representamos la ubicación y las frecuencias genotípicas de las poblaciones nativas de América.

## **RESULTADOS**

### **Frecuencias genotípicas en cinco etnias mexicanas**

Las cinco poblaciones estudiadas se caracterizan por la ausencia del alelo  $\epsilon_2$  y por la abundancia del genotipo  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ; el segundo genotipo más frecuente es  $\epsilon_3/\epsilon_4$  mientras que el más inusual es  $\epsilon_4/\epsilon_4$  (Tabla 1). Coras y Tarahumaras presentan una mayor proporción de heterocigotos comparados con las otras tres poblaciones.

El alelo más común es  $\epsilon 3$ , y en Otomíes y Nahuas presenta valores más elevados que en Coras y Tarahumaras. En Coras y Tarahumaras la frecuencia alélica de  $\epsilon 4$  es mayor que en Mixes, Otomíes y Nahuas (Tabla 2).

### **Recopilación de frecuencias genotípicas de APOE**

Las frecuencias genotípicas que encontramos en la literatura se resumen en la Tabla 3. El genotipo más frecuente en todas las poblaciones es  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , seguido por  $\epsilon 3/\epsilon 4$  en algunas poblaciones y  $\epsilon 3/\epsilon 2$  en otras. Los genotipos  $\epsilon 2/\epsilon 2$  y  $\epsilon 2/\epsilon 4$  se encuentran en frecuencias muy bajas.  $\epsilon 2$  aparece en ciertas poblaciones nativas del continente Americano, como en el conglomerado Apache-Caddo-Comanche- Kiowa-Wichita (ApaCadCom en adelante), en grupos Inuits (de Alaska, de Canadá y de Groenlandia), en los Sioux y en el conglomerado Pima-Maricopa-Papago (PimMarPap en adelante). No obstante, dicha variante no aparece en ningún grupo indígena Mexicano.

Las abreviaturas utilizadas en ésta y las subsecuentes tablas y figuras son como sigue: Afs = Africanos subSaharianos, Afa=Afroamericanos, Ama= Amazónicos, Apa = ApaCadCom, Bel= Belgas, Ben = Benineses, Brs = Británicos de East Midlands, Brn = Británicos de Nottinghamshire, Brw= Británicos de West Midlands, Cay= Cayapa, Chb = Checos de Bohemia Central, Chn = Checos del Norte de Bohemia, Chi = Chinos, Cor = Coras, Kor = Coreanos, Dan = Daneses, Esc = Españoles de Islas Canarias, Esm = Españoles de Madrid, Eti = Etiópes, Eve = Evenki, Fin = Finlandeses, Fra = Franceses, Gri = Griegos de Chipre, Hui = Huicholes, Hun = Húngaros, Ink = Indios de Koch, Inm = Indios de Maria Gond, Inh = Indios de Punjabi de tradición Hindú, Inp = Indios de Punjabi de tradición Sikh, Ins = Indios de Singapur, Nus = Inuits de Alaska, Nua = Inuits de Ammassalik, Nuc = Inuits de Canadá, Nuuk = Inuits de Nuuk, Ira = Iraníes, Irl = Irlandeses, Isl = Islándicos, Ita = Italianos de Ancona, Itc = Italianos del centro, Its = Italianos del sur, Jap = Japoneses, Kho = Khoi San, Mal = Malayos, Mar = Marroquíes, Maz = Mazatecos, = Mdf = Mexicanos del Distrito Federal, Mgu = Mexicanos de Guadalajara, Mja = Mexicanos de Jalisco rural, Mma = Mexicanos de Maltrata, Msi = Mexicanos de Sinaloa, Mxe = Mixes, Mon = Mongoles, Nah = Nahuas, Nig = Nigerianos, Oto = Otomíes, Pig = Pigmeos, Pim = PimMarPap, Sar = Sardeños, Sau = Saudíes, Sio = Sioux, Sud = Sudaneses, Tar = Tarahumaras, Tir = Tiroleses, Tur = Turcos, Yan = Yanomami.

**Tabla 1.** Frecuencias genotípicas de *APOE* en cinco poblaciones indígenas mexicanas

|                      | <b>Total</b> | <b>ε2/ε2</b> | <b>ε2/ε3</b> | <b>ε2/ε4</b> | <b>ε3/ε3</b> | <b>ε3/ε4</b> | <b>ε4/ε4</b> |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>Coras</b>         | 80           | -            | -            | -            | 52           | 25           | 3            |
| <b>Mixes</b>         | 92           | -            | -            | -            | 72           | 18           | 2            |
| <b>Otomíes</b>       | 80           | -            | -            | -            | 68           | 10           | 2            |
| <b>Nahuas*</b>       | 87           | -            | -            | -            | 78           | 8            | 1            |
| <b>Tarahumaras**</b> | 62           | -            | -            | -            | 38           | 22           | 2            |

\*Tomado de González-Sobrino y Ochoa, 2005.

\*\*Tomado de González-Sobrino y Pintado, 2012.

**Tabla 2.** Frecuencias alélicas de *APOE* en cinco poblaciones indígenas mexicanas

|                    | <b>ε2</b> | <b>ε3</b> | <b>ε4</b> |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Coras</b>       | 0.0000    | 0.8062    | 0.1938    |
| <b>Mixes</b>       | 0.0000    | 0.8804    | 0.1196    |
| <b>Otomíes</b>     | 0.0000    | 0.9125    | 0.0875    |
| <b>Nahuas</b>      | 0.0000    | 0.9420    | 0.0570    |
| <b>Tarahumaras</b> | 0.0000    | 0.7900    | 0.2100    |

### **Análisis de las frecuencias genotípicas de APOE**

#### *Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y prueba de neutralidad de Ewens-Watterson*

Sólo nueve de las 66 poblaciones estudiadas se desvían del modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 4). El conglomerado ApaCadCom, los Españoles de Madrid y la población Khoi San tienen un exceso de heterocigotos mientras que los grupos de África subSahariana, Daneses, Españoles de Islas Canarias, Finlandeses, Húngaros e Indios de Maria Gond tienen una



deficiencia de heterocigotos. Todas las poblaciones Mexicanas se ajustan correctamente al modelo de Hardy.Weinberg.

**Tabla 3.** Frecuencias genotípicas de APOE reportadas para distintas poblaciones humanas.

| <b>Población</b> | <b>n</b> | <b>n22</b> | <b>n23</b> | <b>n24</b> | <b>n33</b> | <b>n34</b> | <b>n44</b> | <b>Fuente</b>                  |
|------------------|----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--------------------------------|
| Afs              | 470      | 11         | 67         | 20         | 245        | 107        | 20         | Zekraoui <i>et al.</i> , 1997  |
| Afa              | 154      | 1          | 16         | 3          | 77         | 55         | 2          | Tang <i>et al.</i> , 1996      |
| Ama              | 95       | 0          | 0          | 0          | 66         | 23         | 6          | Asakawa <i>et al.</i> , 1985   |
| Apa              | 1527     | 0          | 73         | 16         | 1035       | 387        | 16         | Kataoka <i>et al.</i> , 1996   |
| Bel              | 760      | 8          | 78         | 16         | 453        | 179        | 26         | Braeckman <i>et al.</i> , 1996 |
| Ben              | 97       | 0          | 17         | 3          | 51         | 25         | 1          | Corbo <i>et al.</i> , 1999     |
| Brs              | 345      | 9          | 75         | 9          | 180        | 65         | 7          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Brn              | 118      | 2          | 24         | 1          | 62         | 24         | 5          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Brw              | 158      | 4          | 34         | 3          | 78         | 34         | 5          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Cay              | 91       | 0          | 0          | 0          | 45         | 41         | 5          | Scacchi <i>et al.</i> , 1997   |
| Chb              | 287      | 0          | 38         | 6          | 197        | 42         | 4          | Hubáček <i>et al.</i> , 2003   |
| Chn              | 366      | 3          | 37         | 6          | 247        | 66         | 7          | Hubáček <i>et al.</i> , 2003   |
| Chi              | 190      | 3          | 29         | 2          | 132        | 22         | 2          | Hallman <i>et al.</i> , 1991   |
| Kor              | 226      | 0          | 18         | 3          | 168        | 36         | 1          | Kim <i>et al.</i> , 1999       |
| Dan              | 466      | 8          | 54         | 9          | 260        | 117        | 18         | Gerdes <i>et al.</i> , 1992    |
| Esc              | 399      | 6          | 46         | 2          | 290        | 52         | 3          | Muros y Rodríguez-Ferrer, 1996 |
| Esm              | 614      | 2          | 92         | 2          | 431        | 80         | 7          | Gómez-Coronado, 1999           |
| Eti              | 159      | 0          | 9          | 1          | 106        | 41         | 2          | Corbo <i>et al.</i> , 1999     |
| Eve              | 124      | 0          | 0          | 1          | 90         | 29         | 4          | Kamboh <i>et al.</i> , 1996    |
| Fin              | 615      | 2          | 41         | 5          | 332        | 196        | 39         | Ehnholm <i>et al.</i> , 1986   |
| Fra              | 161      | 0          | 18         | 4          | 110        | 26         | 3          | Lambert <i>et al.</i> , 1998   |
| Gri              | 335      | 1          | 32         | 2          | 256        | 43         | 1          | Carioulou <i>et al.</i> , 1995 |
| Hui              | 40       | 0          | 0          | 0          | 20         | 17         | 3          | Aceves <i>et al.</i> , 2006    |
| Hun              | 202      | 4          | 16         | 2          | 132        | 46         | 2          | Hallman <i>et al.</i> , 1991   |
| Ink              | 125      | 1          | 6          | 0          | 118        | 0          | 0          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Inm              | 149      | 4          | 17         | 3          | 119        | 6          | 0          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Inh              | 114      | 1          | 11         | 1          | 83         | 17         | 1          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Inp              | 109      | 0          | 10         | 1          | 84         | 13         | 1          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Ins              | 142      | 1          | 10         | 1          | 97         | 31         | 2          | Singh <i>et al.</i> , 2006     |
| Nus              | 127      | 0          | 4          | 1          | 82         | 32         | 8          | Scheer <i>et al.</i> , 1995    |
| Nua              | 78       | 0          | 0          | 0          | 45         | 30         | 3          | Gerdes <i>et al.</i> , 1996    |
| Nuc              | 187      | 0          | 2          | 0          | 148        | 34         | 3          | Hegele <i>et al.</i> , 1997    |
| Nuu              | 100      | 0          | 4          | 1          | 62         | 30         | 3          | Gerdes <i>et al.</i> , 1996    |
| Ira              | 198      | 0          | 23         | 2          | 156        | 16         | 1          | Bazrgar, 2008                  |
| Irl              | 183      | 2          | 17         | 4          | 102        | 49         | 9          | Luc <i>et al.</i> , 1995       |

**Tabla 3 (cont.).** Frecuencias genotípicas de APOE reportadas para distintas poblaciones humanas.

| Población | n    | n22 | n23 | n24 | n33  | n34 | n44 | Fuente                            |
|-----------|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----------------------------------|
| Isl       | 185  | 0   | 19  | 6   | 111  | 43  | 6   | Hallman <i>et al.</i> , 1991      |
| Ita       | 365  | 3   | 43  | 4   | 257  | 51  | 7   | James <i>et al.</i> , 1993        |
| Itc       | 417  | 2   | 44  | 7   | 304  | 58  | 2   | Corbo <i>et al.</i> , 1995        |
| Its       | 366  | 2   | 31  | 6   | 274  | 51  | 2   | Corbo <i>et al.</i> , 1995        |
| Jap       | 319  | 2   | 44  | 3   | 230  | 36  | 4   | Hallman <i>et al.</i> , 1991      |
| Jav       | 197  | 0   | 21  | 4   | 114  | 54  | 4   | Gajra <i>et al.</i> , 1994        |
| Kho       | 247  | 2   | 14  | 20  | 74   | 111 | 26  | Sandholzer <i>et al.</i> , 1995   |
| Mal       | 118  | 3   | 20  | 1   | 71   | 19  | 4   | Hallman <i>et al.</i> , 1991      |
| Mar       | 100  | 0   | 10  | 3   | 73   | 14  | 0   | Valveny <i>et al.</i> , 1997      |
| Maz       | 75   | 0   | 0   | 0   | 61   | 13  | 1   | Gamboa <i>et al.</i> , 2000       |
| Mdf       | 83   | 0   | 0   | 0   | 69   | 14  | 0   | Gamboa <i>et al.</i> , 2000       |
| Mgu       | 179  | 2   | 19  | 5   | 129  | 23  | 1   | Aceves <i>et al.</i> , 2006       |
| Mja       | 172  | 0   | 14  | 1   | 127  | 29  | 1   | Aceves <i>et al.</i> , 2006       |
| Mma       | 95   | 0   | 0   | 0   | 77   | 18  | 0   | González-Sobrino y Ochoa, 2005    |
| Msi       | 101  | 1   | 6   | 4   | 64   | 24  | 2   | Sánchez-Cuén <i>et al.</i> , 2010 |
| Mon       | 744  | 0   | 42  | 13  | 486  | 189 | 14  | Svobodová <i>et al.</i> , 2007    |
| Nig       | 365  | 0   | 14  | 6   | 176  | 128 | 41  | Sepehrnia <i>et al.</i> , 1989    |
| Pig       | 70   | 0   | 5   | 3   | 19   | 32  | 11  | Zekraoui <i>et al.</i> , 1997     |
| Pim       | 1499 | 0   | 13  | 2   | 1096 | 370 | 18  | Kataoka <i>et al.</i> , 1996      |
| Sar       | 280  | 0   | 26  | 2   | 226  | 25  | 1   | Corbo <i>et al.</i> , 1995        |
| Sau       | 165  | 0   | 0   | 0   | 117  | 45  | 3   | Al-Khedhairi, 2004                |
| Sio       | 1515 | 2   | 39  | 6   | 1162 | 292 | 14  | Kataoka <i>et al.</i> , 1996      |
| Sud       | 103  | 1   | 10  | 5   | 41   | 37  | 9   | Hallman <i>et al.</i> , 1991      |
| Tir       | 469  | 6   | 62  | 10  | 300  | 81  | 10  | Hallman <i>et al.</i> , 1991      |
| Tur       | 87   | 0   | 10  | 1   | 66   | 9   | 1   | Brega <i>et al.</i> , 1998        |
| Yan       | 96   | 0   | 0   | 0   | 66   | 30  | 0   | Crews <i>et al.</i> , 1993        |

La prueba de Ewens-Watterson no detectó rastros de selección en ninguna de las poblaciones. La población Khoi San es la más cercana a un valor significativo de P.

### *Diferenciación poblacional y variación molecular*

Seis poblaciones tienen valores significativos de diferenciación poblacional (Africanos subSaharianos, Belgas, Italianos de Ancona, Malayos, Nahuas y Tiroleses) (Tabla 5) probablemente a causa de la falta de heterocigotos.

### *Árbol de distancias genéticas (Fst)*

Las poblaciones que presentan las frecuencias más altas de APOE4 se separan del resto de los grupos estudiados (Figura 3). En éste se incluyen Huicholes, Nigerianos, Cayapa, Sudaneses, Pigmeos y Khoi San.

Coras y Tarahumaras se agrupan con Inuits y Amazónicos debido a los valores intermedios de APOE4. Este grupo se relaciona con Saudíes, PimMarPap, Yanomami, Evenki, ApaCadCom, Etiópes y Mongoles.

Nahuas y Mexicanos del Distrito Federal se agrupan debido a que tienen los valores más altos de APOE3 de toda la muestra. Junto a ellos se ubican Mixes y Otomíes agrupados con Mexicanos de Maltrata, Mazatecos, Inuits de Canadá y Sioux. Todos ellos tienen valores elevados de APOE3 y ausencia de APOE2.

El subgrupo más amplio incluye a la mayoría de las poblaciones mediterráneas y asiáticas. La presencia de APOE2 y valores intermedios de APOE4 da cohesión a esta subdivisión.

### *Árbol de distancias euclidianas*

El árbol obtenido mediante distancias euclidianas tiene mayor resolución que el elaborado mediante los valores de Fst. Tarahumaras, Coras, Huicholes y otros grupos (Khoi San, Cayapa, Pigmeos, Finlandeses y Evenki, entre otros) se separan del resto de las poblaciones humanas porque presentan una alta frecuencia de heterocigotos  $\epsilon_3/\epsilon_4$ . Nahuas, Otomíes, Mixes y Mazatecos se agrupan por la alta frecuencia de  $\epsilon_3/\epsilon_3$  con los Mexicanos de Maltrata, los Mexicanos del Distrito Federal, Sioux e Inuits de Canadá (Figura 4).

*Comparación de  $\Theta_H$  y  $\Theta_K$*

El parámetro  $\Theta_H$  se obtiene a partir de la heterocigosidad de la población asumiendo que la mutación y la deriva génica se encuentran en equilibrio y haciendo una corrección dependiente del número de *loci* (Zouros, 1979). El parámetro  $\Theta_K$  se calcula a partir del número esperado de alelos dado un tamaño de muestra y el valor  $\Theta$  (Ewens, 1972). Existen estimadores para el modelo de alelos infinitos y para el modelo paso a paso. La congruencia o incongruencia entre ambos estimadores por lo tanto, es indicativa de desequilibrios entre la mutación, la deriva génica y la panmixia que puede ser afectada por la subdivisión poblacional y variaciones de abundancia.

**Tabla 4.** Valores calculados para la prueba exacta de equilibrio de Hardy-Weinberg y para la prueba de selección de Ewens-Watterson. (\*) Indica valores estadísticamente significativos.

| <b>Población</b> | <b>Heterocigosis observada</b> | <b>Heterocigosis esperada</b> | <b>He-Ho</b> | <b>Valor P (HW)</b> | <b>Valor P (EW)</b> |
|------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Afs              | 0.4127                         | 0.4565                        | 0.0437       | 0.0420*             | 0.213               |
| Afa              | 0.4805                         | 0.4225                        | -0.0579      | 0.0862              | 0.297               |
| Ama              | 0.2421                         | 0.3021                        | 0.0600       | 0.0774              | 0.472               |
| Apa              | 0.3117                         | 0.2926                        | -0.0190      | 0.0074*             | 0.343               |
| Bel              | 0.3592                         | 0.3831                        | 0.0239       | 0.0772              | 0.297               |
| Ben              | 0.4639                         | 0.4166                        | -0.0472      | 0.6959              | 0.342               |
| Brs              | 0.4318                         | 0.4374                        | 0.0055       | 0.5348              | 0.251               |
| Brn              | 0.4152                         | 0.4335                        | 0.0183       | 0.1099              | 0.294               |
| Brw              | 0.4493                         | 0.4565                        | 0.0071       | 0.3098              | 0.240               |
| Cay              | 0.4505                         | 0.4056                        | -0.0449      | 0.4353              | 0.348               |
| Chb              | 0.2996                         | 0.3032                        | 0.0035       | 0.3108              | 0.411               |
| Chn              | 0.2978                         | 0.3169                        | 0.0191       | 0.3413              | 0.371               |
| Chi              | 0.2789                         | 0.2987                        | 0.0197       | 0.3660              | 0.439               |
| Cor              | 0.3125                         | 0.3143                        | 0.0018       | 1.0000              | 0.227               |
| Kor              | 0.2522                         | 0.2456                        | -0.0065      | 0.7970              | 0.506               |
| Dan              | 0.3862                         | 0.4133                        | 0.0270       | 0.0303*             | 0.242               |
| Esc              | 0.2506                         | 0.2671                        | 0.0165       | 0.0457*             | 0.412               |
| Esm              | 0.2833                         | 0.2787                        | -0.0046      | 0.0203*             | 0.401               |
| Eti              | 0.3207                         | 0.3002                        | -0.0205      | 0.7943              | 0.448               |
| Eve              | 0.2419                         | 0.2673                        | 0.0254       | 0.0795              | 0.522               |
| Fin              | 0.3935                         | 0.4106                        | 0.0171       | 0.0399*             | 0.248               |
| Fra              | 0.2981                         | 0.3116                        | 0.0134       | 0.4551              | 0.420               |
| Gri              | 0.2298                         | 0.2249                        | -0.0049      | 1.0000              | 0.493               |
| Hui              | 0.4250                         | 0.4148                        | -0.0101      | 1.0000              | 0.436               |
| Hun              | 0.3168                         | 0.3289                        | 0.0121       | 0.0136*             | 0.403               |
| Ink              | 0.0480                         | 0.0622                        | 0.0142       | 0.1081              | 0.859               |
| Inm              | 0.1745                         | 0.2239                        | 0.0494       | 0.0045*             | 0.570               |

**Tabla 4 (cont.).** Valores calculados para la prueba exacta de equilibrio de Hardy-Weinberg y para la prueba de selección de Ewens-Watterson. (\*) Indica valores estadísticamente significativos.

| <b>Población</b> | <b>Heterocigosis observada</b> | <b>Heterocigosis esperada</b> | <b>He-Ho</b> | <b>Valor P (HW)</b> | <b>Valor P (EW)</b> |
|------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Inh              | 0.2543                         | 0.2657                        | 0.0113       | 0.5479              | 0.503               |
| Inp              | 0.2201                         | 0.2254                        | 0.0052       | 0.5561              | 0.594               |
| Ins              | 0.2957                         | 0.2981                        | 0.0024       | 0.4681              | 0.454               |
| Nus              | 0.2913                         | 0.3437                        | 0.0524       | 0.1811              | 0.417               |
| Nua              | 0.3846                         | 0.3573                        | -0.0273      | 0.7475              | 0.416               |
| Nuc              | 0.1925                         | 0.2010                        | 0.0085       | 0.5587              | 0.546               |
| Nuu              | 0.3500                         | 0.3427                        | -0.0072      | 1.0000              | 0.442               |
| Ira              | 0.2070                         | 0.2083                        | 0.0012       | 0.4002              | 0.548               |
| Irl              | 0.3825                         | 0.4146                        | 0.0321       | 0.3196              | 0.324               |
| Isl              | 0.3675                         | 0.3801                        | 0.0125       | 0.5533              | 0.359               |
| Ita              | 0.2684                         | 0.2925                        | 0.0240       | 0.0997              | 0.402               |
| Itc              | 0.2613                         | 0.2643                        | 0.0029       | 0.5634              | 0.430               |
| Its              | 0.2404                         | 0.2495                        | 0.0090       | 0.2434              | 0.467               |
| Jap              | 0.2601                         | 0.2722                        | 0.0120       | 0.2882              | 0.415               |
| Jav              | 0.4010                         | 0.3774                        | -0.0235      | 0.8934              | 0.333               |
| Kho              | 0.5870                         | 0.5525                        | -0.0344      | 0.0365*             | 0.055               |
| Mal              | 0.3389                         | 0.3862                        | 0.0472       | 0.0623              | 0.365               |
| Mar              | 0.2700                         | 0.2673                        | -0.0026      | 0.2776              | 0.522               |
| Maz              | 0.1733                         | 0.1812                        | 0.0078       | 0.5438              | 0.671               |
| Mdf              | 0.1686                         | 0.1553                        | -0.0132      | 1.0000              | 0.702               |
| Mgu              | 0.2625                         | 0.2854                        | 0.0228       | 0.0982              | 0.452               |
| Mja              | 0.2558                         | 0.2447                        | -0.0110      | 1.0000              | 0.508               |
| Mma              | 0.1894                         | 0.1724                        | -0.0170      | 1.0000              | 0.649               |
| Msi              | 0.3366                         | 0.3613                        | 0.0247       | 0.1023              | 0.437               |
| Mxe              | 0.1956                         | 0.2116                        | 0.0160       | 0.6089              | 0.353               |
| Mon              | 0.3279                         | 0.3213                        | -0.0066      | 0.2910              | 0.331               |
| Nah              | 0.0919                         | 0.1089                        | 0.0170       | 0.2416              | 0.776               |
| Nig              | 0.4054                         | 0.4543                        | 0.0489       | 0.1252              | 0.218               |
| Oto              | 0.1250                         | 0.1606                        | 0.0356       | 0.0987              | 0.410               |
| Pig              | 0.5714                         | 0.5478                        | -0.0235      | 0.9558              | 0.101               |
| Pim              | 0.2568                         | 0.2438                        | -0.0130      | 0.1130              | 0.399               |
| Sar              | 0.1892                         | 0.1883                        | -0.0009      | 0.7401              | 0.545               |
| Sau              | 0.2727                         | 0.2621                        | -0.0106      | 0.7668              | 0.512               |
| Sio              | 0.2224                         | 0.2204                        | -0.0020      | 0.0883              | 0.424               |
| Sud              | 0.5048                         | 0.5187                        | 0.0138       | 0.8914              | 0.125               |
| Tar              | 0.3548                         | 0.3341                        | -0.0207      | 1.0000              | 0.465               |

**Tabla 4 (cont.).** Valores calculados para la prueba exacta de equilibrio de Hardy-Weinberg y para la prueba de selección de Ewens-Watterson. (\*) Indica valores estadísticamente significativos.

| <b>Población</b> | <b>Heterocigosis observada</b> | <b>Heterocigosis esperada</b> | <b>He-Ho</b> | <b>Valor P (HW)</b> | <b>Valor P (EW)</b> |
|------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Tir              | 0.3262                         | 0.3509                        | 0.0246       | 0.2093              | 0.345               |
| Tur              | 0.2298                         | 0.2395                        | 0.0096       | 0.5273              | 0.574               |
| Yan              | 0.3125                         | 0.2650                        | -0.0474      | 0.1190              | 0.544               |

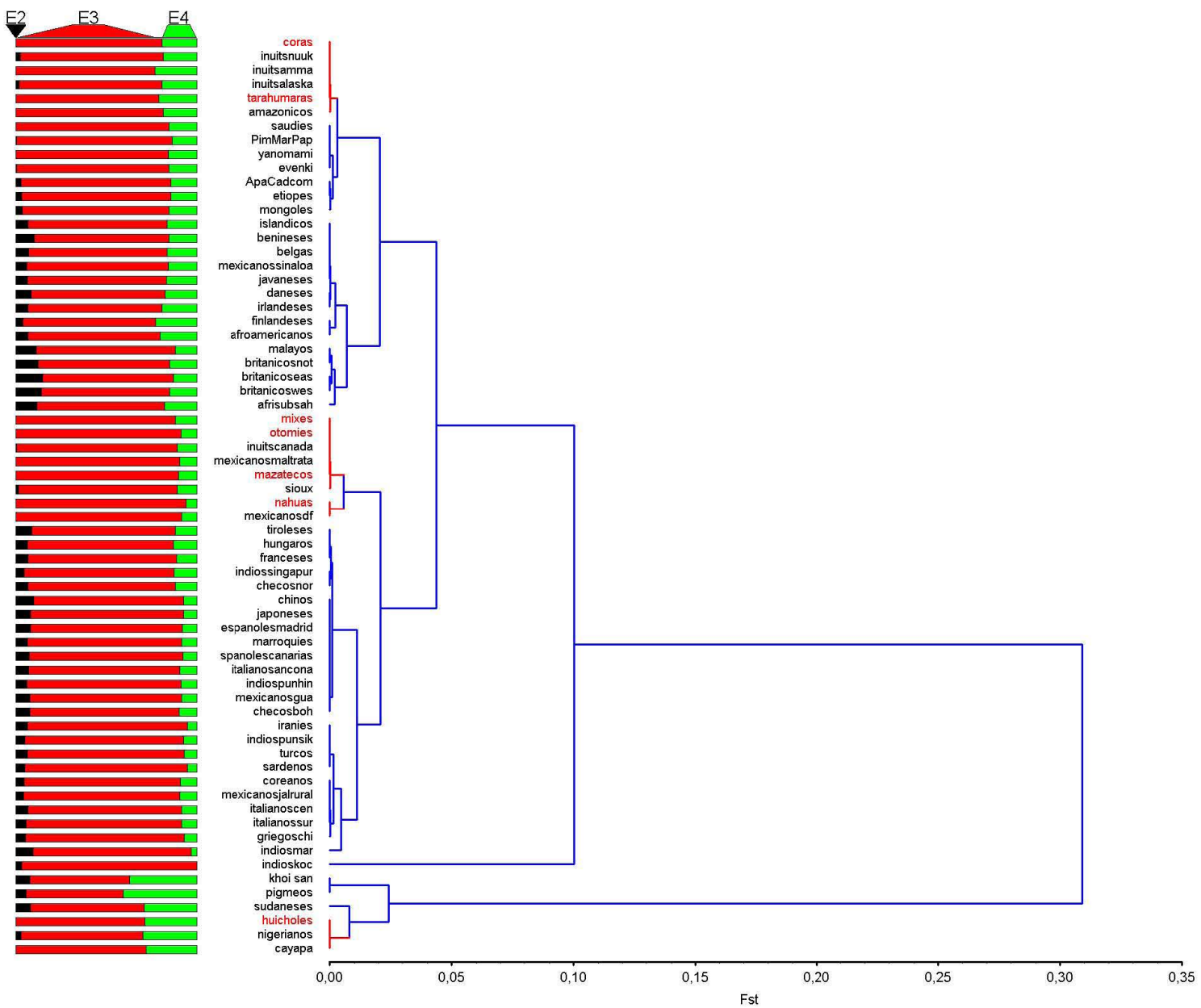
**Tabla 5.** Valores calculados de  $F_{is}$ ,  $\Theta_H$  y  $\Theta_K$  (\*) Indica valores estadísticamente significativos.

| <b>Población</b> | <b><math>F_{is}</math></b> | <b><math>P(F_{is})</math></b> | <b><math>\Theta_H</math></b> | <b><math>\Theta_K</math></b> |
|------------------|----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Afs              | 0.0959                     | 0.0058*                       | 0.6261                       | 0.2844                       |
| Afa              | -0.1377                    | 0.9912                        | 0.5451                       | 0.3417                       |
| Ama              | 0.1996                     | 0.0626                        | 0.3224                       | 0.3750                       |
| Apa              | -0.0651                    | 0.9990                        | 0.3082                       | 0.2421                       |
| Bel              | 0.0626                     | 0.0175*                       | 0.4625                       | 0.2654                       |
| Ben              | -0.1141                    | 0.9609                        | 0.5320                       | 0.3734                       |
| Brs              | 0.0127                     | 0.3998                        | 0.5793                       | 0.2982                       |
| Brn              | 0.0424                     | 0.2923                        | 0.5703                       | 0.3592                       |
| Brw              | 0.0158                     | 0.4154                        | 0.6263                       | 0.3401                       |
| Cay              | -0.1115                    | 0.9042                        | 0.5082                       | 0.3783                       |
| Chb              | 0.0118                     | 0.4350                        | 0.3241                       | 0.3071                       |
| Chn              | 0.0606                     | 0.0909                        | 0.3456                       | 0.2954                       |
| Chi              | 0.0664                     | 0.1544                        | 0.3172                       | 0.3291                       |
| Cor              | 0.0060                     | 0.6276                        | 0.3415                       | 0.1859                       |
| Kor              | -0.0267                    | 0.7400                        | 0.2427                       | 0.3195                       |
| Dan              | 0.0656                     | 0.0518                        | 0.5248                       | 0.2847                       |
| Esc              | 0.0620                     | 0.0684                        | 0.2716                       | 0.2915                       |
| Esm              | -0.0167                    | 0.7204                        | 0.2879                       | 0.2735                       |
| Eti              | -0.0686                    | 0.8817                        | 0.3195                       | 0.3398                       |
| Eve              | 0.0955                     | 0.1427                        | 0.2719                       | 0.3558                       |
| Fin              | 0.0418                     | 0.1398                        | 0.5189                       | 0.2734                       |
| Fra              | 0.0434                     | 0.2766                        | 0.3371                       | 0.3390                       |
| Gri              | -0.0219                    | 0.7478                        | 0.2164                       | 0.2996                       |
| Hui              | -0.0247                    | 0.7009                        | 0.5281                       | 0.4559                       |
| Hun              | 0.0370                     | 0.2933                        | 0.3650                       | 0.3257                       |
| Ink              | 0.2290                     | 0.1202                        | 0.0497                       | 0.3553                       |
| Inm              | 0.2213                     | 0.0019*                       | 0.2151                       | 0.3438                       |
| Inh              | 0.0428                     | 0.3245                        | 0.2696                       | 0.3617                       |
| Inp              | 0.0235                     | 0.4282                        | 0.2170                       | 0.3648                       |
| Ins              | 0.0081                     | 0.4936                        | 0.3164                       | 0.3469                       |
| Nus              | 0.1530                     | 0.0557                        | 0.3900                       | 0.3542                       |
| Nua              | -0.0769                    | 0.8319                        | 0.4139                       | 0.3906                       |
| Nuc              | 0.0426                     | 0.3431                        | 0.1877                       | 0.3301                       |
| Nuu              | -0.0212                    | 0.6598                        | 0.3883                       | 0.3711                       |
| Ira              | 0.0062                     | 0.5181                        | 0.1963                       | 0.3268                       |
| Irl              | 0.0777                     | 0.1134                        | 0.5275                       | 0.3313                       |

**Tabla 5 (cont.).** Valores calculados de  $F_{IS}$ ,  $\Theta_H$  y  $\Theta_K$  (\*).  
Indica valores estadísticamente significativos.

| <b>Población</b> | <b><math>F_{is}</math></b> | <b><math>P(F_{is})</math></b> | <b><math>\Theta_H</math></b> | <b><math>\Theta_K</math></b> |
|------------------|----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Isl              | 0.0331                     | 0.3148                        | 0.4566                       | 0.3307                       |
| Ita              | 0.0822                     | 0.0371*                       | 0.3079                       | 0.2956                       |
| Itc              | 0.0113                     | 0.4330                        | 0.2678                       | 0.2896                       |
| Its              | 0.0365                     | 0.2170                        | 0.2478                       | 0.2954                       |
| Jap              | 0.0443                     | 0.2033                        | 0.2787                       | 0.3019                       |
| Jav              | -0.0626                    | 0.8768                        | 0.4514                       | 0.3271                       |
| Kho              | -0.0625                    | 0.9081                        | 0.9248                       | 0.3147                       |
| Mal              | 0.1229                     | 0.0498*                       | 0.4686                       | 0.3592                       |
| Mar              | -0.0098                    | 0.6002                        | 0.2719                       | 0.3711                       |
| Maz              | 0.0437                     | 0.5367                        | 0.1652                       | 0.3939                       |
| Mdf              | -0.0861                    | 1.0000                        | 0.1374                       | 0.3855                       |
| Mgu              | 0.0803                     | 0.1056                        | 0.2975                       | 0.3326                       |
| Mja              | -0.0454                    | 0.8348                        | 0.2415                       | 0.3350                       |
| Mma              | -0.0994                    | 1.0000                        | 0.1555                       | 0.3750                       |
| Msi              | 0.0688                     | 0.2395                        | 0.4213                       | 0.3704                       |
| Mxe              | 0.0761                     | 0.3812                        | 0.2003                       | 0.1809                       |
| Mon              | -0.0206                    | 0.7595                        | 0.3526                       | 0.2662                       |
| Nah              | 0.1569                     | 0.2219                        | 0.0914                       | 0.3818                       |
| Nig              | 0.1078                     | 0.0107*                       | 0.6207                       | 0.2956                       |
| Oto              | 0.2232                     | 0.1036                        | 0.1429                       | 0.1859                       |
| Pig              | -0.0433                    | 0.7077                        | 0.9072                       | 0.3998                       |
| Pim              | -0.0534                    | 0.9824                        | 0.2403                       | 0.2427                       |
| Sar              | -0.0049                    | 0.5885                        | 0.1732                       | 0.3083                       |
| Sau              | -0.0406                    | 0.7889                        | 0.2647                       | 0.3375                       |
| Sio              | -0.0091                    | 0.6833                        | 0.2108                       | 0.2423                       |
| Sud              | 0.0269                     | 0.4282                        | 0.8054                       | 0.3689                       |
| Tar              | -0.0626                    | 0.8084                        | 0.3736                       | 0.4107                       |
| Tir              | 0.0704                     | 0.0371*                       | 0.4025                       | 0.2845                       |
| Tur              | 0.0405                     | 0.3832                        | 0.2348                       | 0.3818                       |
| Yan              | -0.1801                    | 1.0000                        | 0.2687                       | 0.3742                       |





**Figura 3.** Árbol de distancias genéticas utilizando valores de Fst. Se señalan en rojo las poblaciones indígenas de México.

Es contrastante la diferencia en los valores de  $\Theta_K$  calculados para las cinco poblaciones. Nahuas y Tarahumaras se ubican en los extremos altos (cercanos a 0.4), mientras que Otomíes, Mixes y Coras se ubican el extremo menor. Los Huicholes tienen el valor más alto de este indicador (Figura 5).

Los valores más altos de  $\Theta_H$  se encuentran en Khoi San y Pigmeos (0.9248 y 0.9072), mientras que los más bajos aparecen en Indios de Koch y Nahuas (0.0497 y 0.0914, respectivamente). Coras y Tarahumaras (0.3415 y 0.3736, respectivamente) se ubican a la mitad de la gráfica, separados de Nahuas, Otomíes (0.1429) y Mixes (0.2003) que presentan valores menores a 0.25. Estos valores responden a la diversidad genética de las poblaciones, así que poblaciones con baja frecuencia de APOE4 Y APOE2 presentan valores pequeños de  $\Theta_H$ .

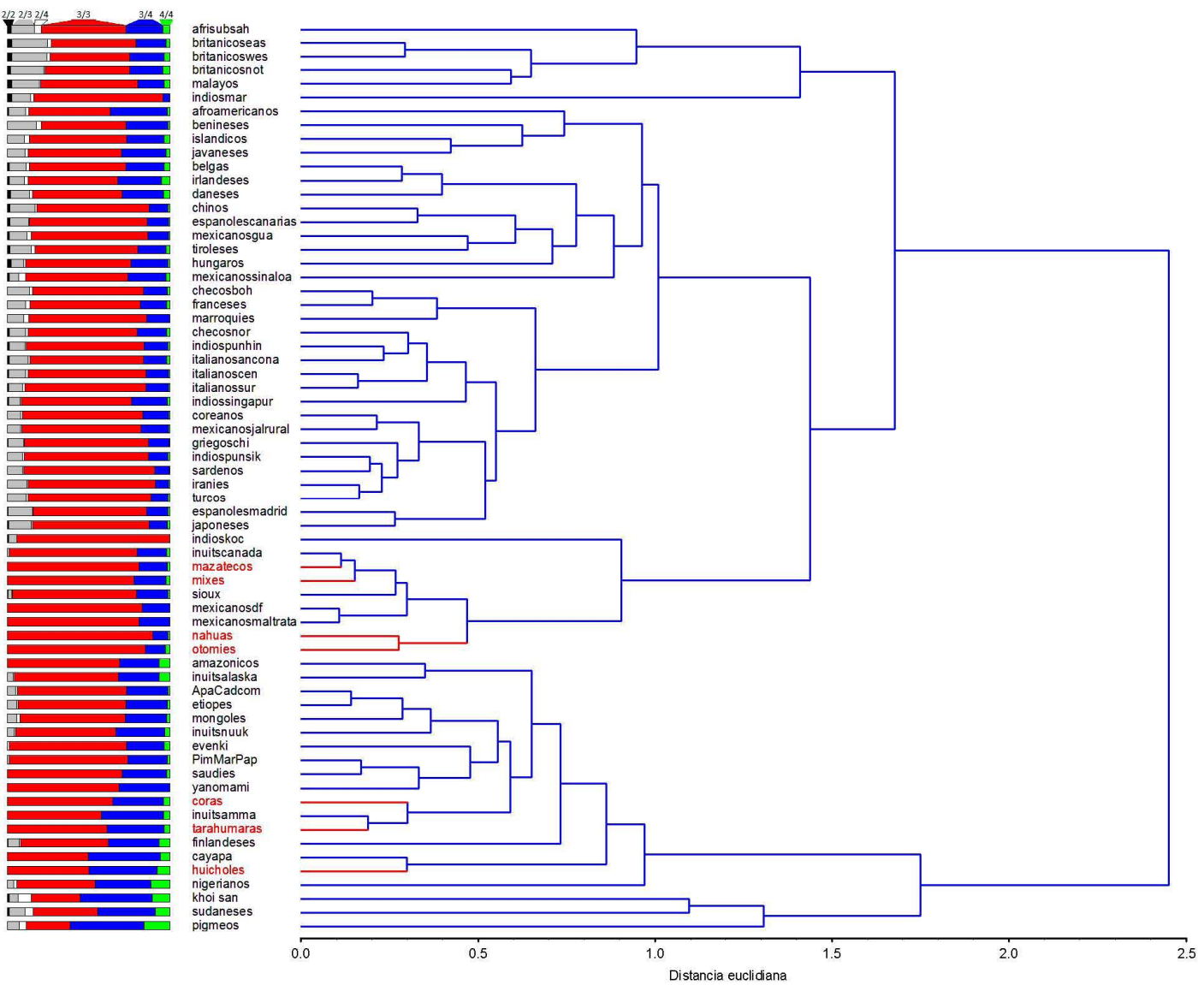
#### *Heterocigosis observada contra Heterocigosis esperada*

La mayoría de las poblaciones se ajustan a la heterocigosis esperada para el modelo de equilibrio de Hardy-Weinberg ya que ninguna presenta una desviación extrema de los valores predichos por el modelo (Figura 6). Las poblaciones con más diversidad son Khoi San, Pigmeos y Sudaneses, y las de menor diversidad son los Inuits de Ammassalik, Nahuas y Otomíes. Los Mixes, Coras y Tarahumaras se encuentran dentro de los valores promedio de diversidad.

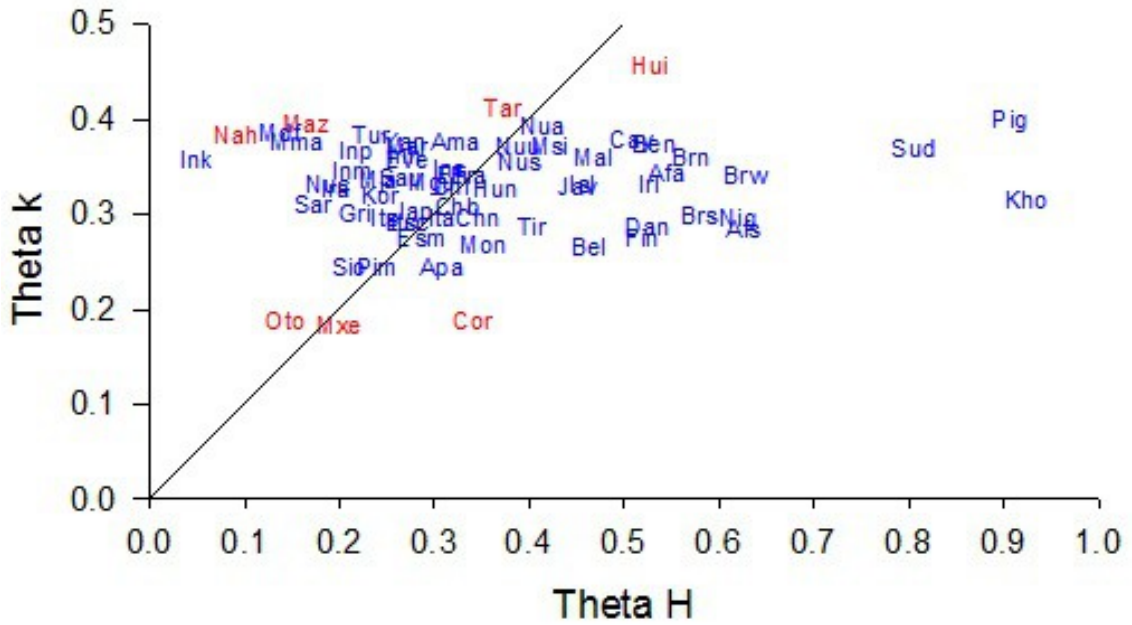
#### *Análisis de componentes principales (frecuencias alélicas)*

En el eje horizontal se ordenan, de menor a mayor, las frecuencias de APOE3 y las frecuencias de APOE4 de mayor a menor. El eje vertical ubica a las poblaciones que tienen APOE2 hacia los cuadrantes positivos. Mixes, Otomíes y Nahuas se localizan en el primer cuadrante (Figura 7).

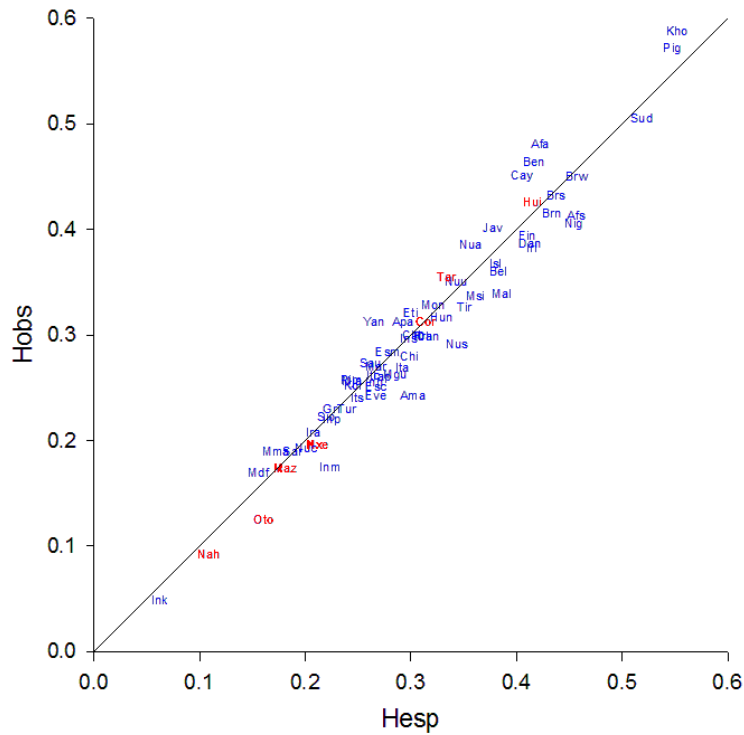
Coras y Tarahumaras se encuentran en el segundo cuadrante. También ahí están los inuits, finlandeses, nigerianos, cayapas. Están muy alejados del “centro” en Y pero muy cerca del centro en X. Mixes, Otomíes y Nahuas se alejan de los dos centros (Figura 7).



**Figura 4.** Árbol de distancias euclidianas (genotipos de APOE). Se señalan en rojo las poblaciones indígenas de México.



**Figura 5.**  $\Theta_H$  y  $\Theta_K$  de las poblaciones estudiadas. Se resaltan las poblaciones indígenas de México.



**Figura 6.** Heterocigosis observada contra Heterocigosis esperada de las poblaciones estudiadas. Se resaltan las poblaciones indígenas de México.

### *Análisis de componentes principales (frecuencias genotípicas)*

En las poblaciones que no presentan  $\epsilon 2$  las frecuencias de  $\epsilon 4$  y  $\epsilon 3$  se relacionan inversamente (las cinco poblaciones objetivo de este estudio cumplen con esta característica) y por ello dichas poblaciones se alinean en los cuadrantes inferiores. La mayoría de las poblaciones americanas se localizan en este grupo, con los Sioux y los conglomerados ApaCad Com y PimMarPap separados porque tienen APOE2. Las poblaciones Pigmea, Khoi San y Sudanesa se encuentran muy distanciados de las otras poblaciones estudiadas debido a la alta frecuencia de  $\epsilon 4$  (Figura 8).

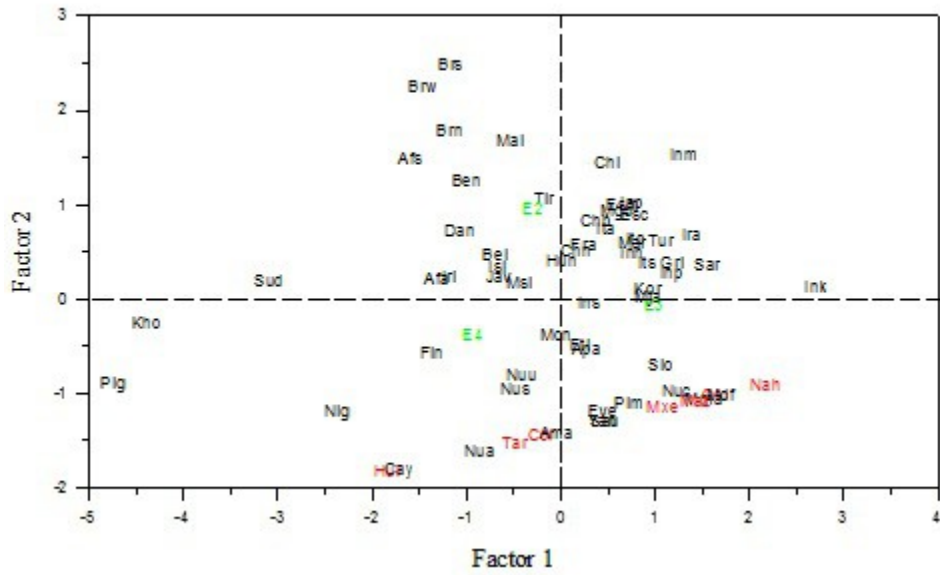
### *Análisis de componentes principales (frecuencias alélicas) por región geográfica*

Las poblaciones Europeas forman un grupo congruente al centro de la gráfica. La mayoría de las poblaciones Africanas se localizan en los cuadrantes negativos del factor 1, aunque se encuentran muy alejadas entre ellas (Las poblaciones más alejadas del centro son poblaciones Africanas) Los grupos de Asia septentrional se ubican en un rango limitado del Factor 1, pero varían ampliamente respecto al Factor 2. En general, se dispersan en la misma zona que las poblaciones europeas. La mayoría de las poblaciones de América del Norte y América del Sur se ubican en los cuadrantes negativos del Factor 2. No hay ninguna tendencia para los grupos de Asia suroriental (Figura 9).

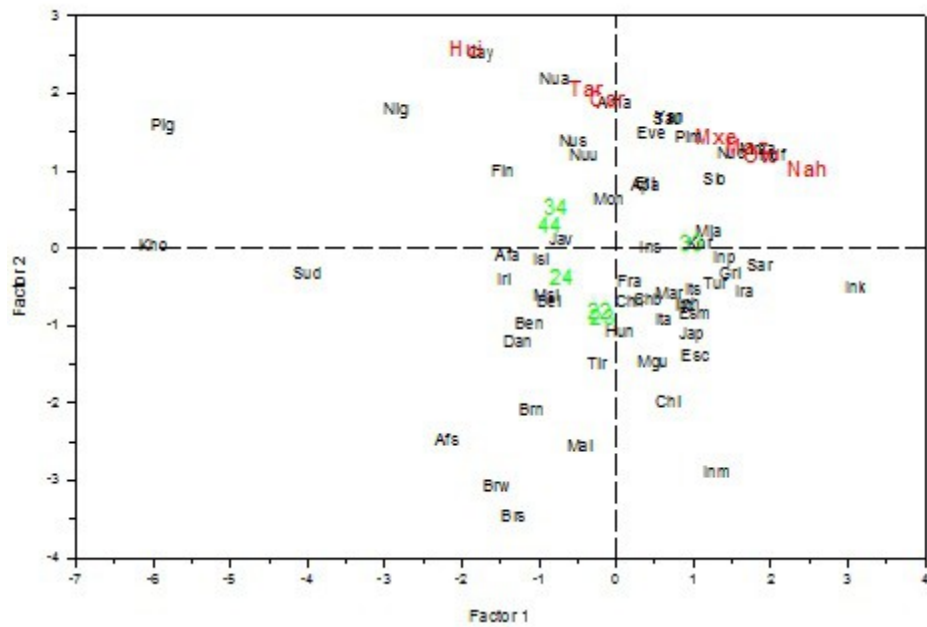
Los grupos indígenas de México se localizan junto con las poblaciones Americanas que no presentan APOE2.

### *Theta H contra Fis*

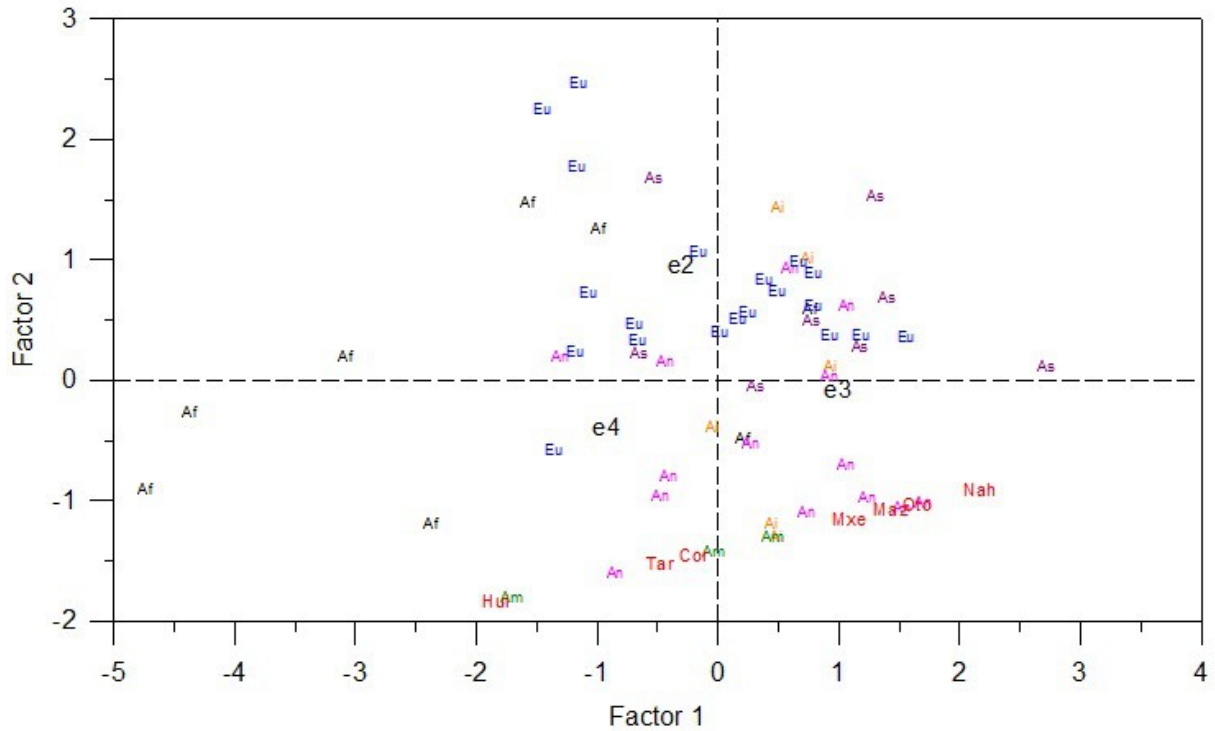
Comparamos Theta H y Fis para diferenciar las poblaciones según sus atributos de diversidad genética, ya que Fis refleja el patrón interno de apareamiento y Theta H el tamaño poblacional. Nuevamente los grupos Europeos forman un grupo al centro de la gráfica junto con las poblaciones de Asia septentrional. Se observan dos tendencias en los grupos Africanos que responden a la presencia de APOE4. Las poblaciones indígenas de México se dividen con Tarahumaras y Huicholes en un extremo, Nahuas y Otomíes en el otro, y Mazatecos, Mixes y Coras como un grupo de transición entre éstos (Figura 10). Los grupos con altos valores de APOE4 presentan altos valores de Theta H.



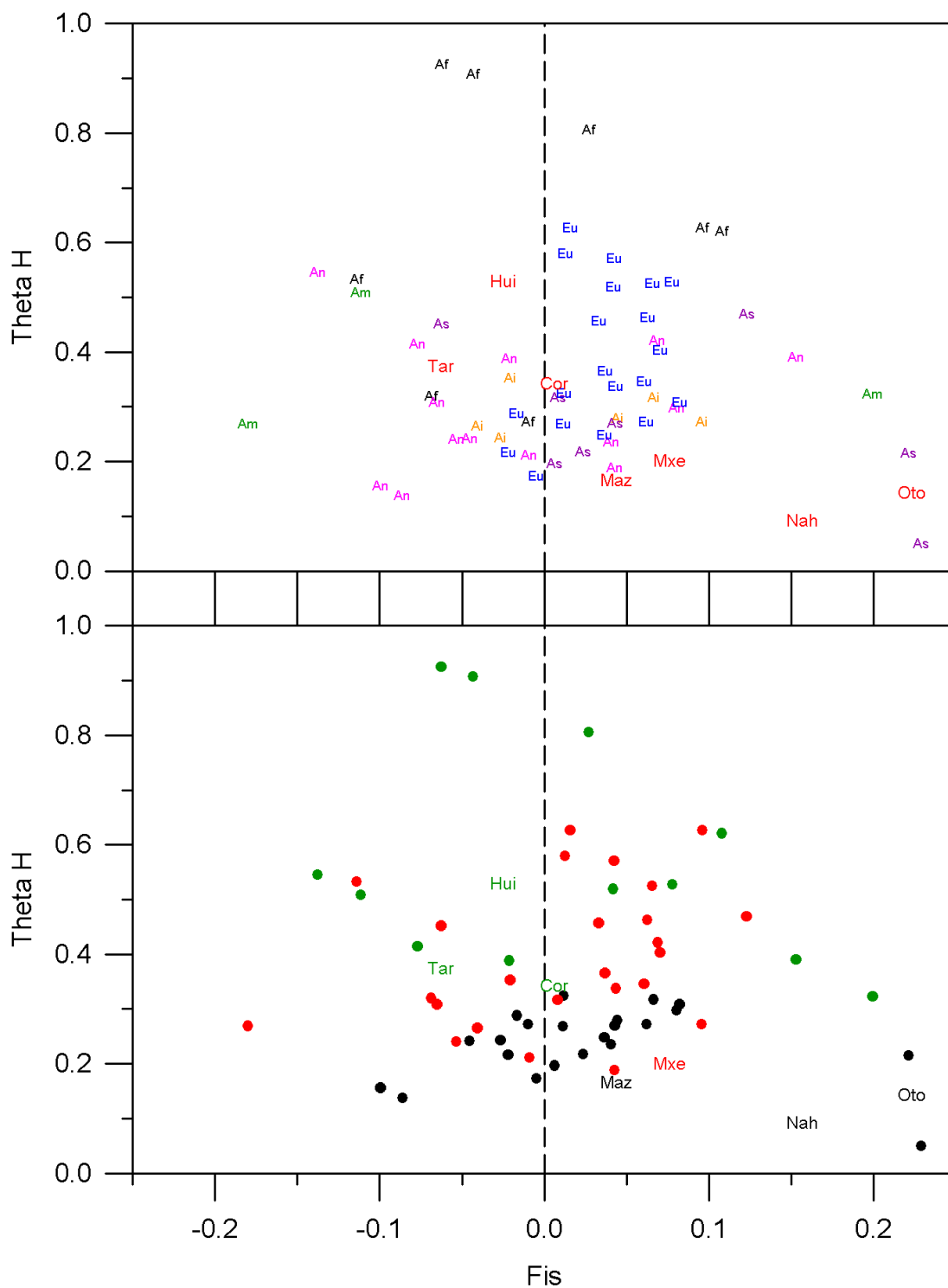
**Figura 7.** Análisis de componentes principales de los alelos de APOE.



**Figura 8.** Análisis de componentes principales de los genotipos de APOE.



**Fig 9.** Análisis de componentes principales para frecuencias alélicas de APOE por región geográfica. Af = África, Ai = Asia del Norte y Oriental, As= Asia del Sur, An = América del Norte, Am = América del Sur, Cor = Coras, Eu = Europa, Hui = Huicholes, Maz = Mazatecos, Mxe = Mixes, Nah = Nahuas, Oto = Otomies, Tar = Tarahumaras.



**Figura 10.** Theta H contra Fis (A) por región geográfica (B) por frecuencia de APOE4. Af = África, Ai = Asia del Norte y Oriental, As= Asia del Sur, An = América del Norte, Am = América del Sur, Cor = Coras, Eu = Europa, Hui = Huicholes, Maz = Mazatecos, Mxe = Mixes, Nah = Nahuas, Oto = Otomíes, Tar = Tarahumaras. Verde = valores elevados, Negro = valores intermedios, Rojo = valores bajos.



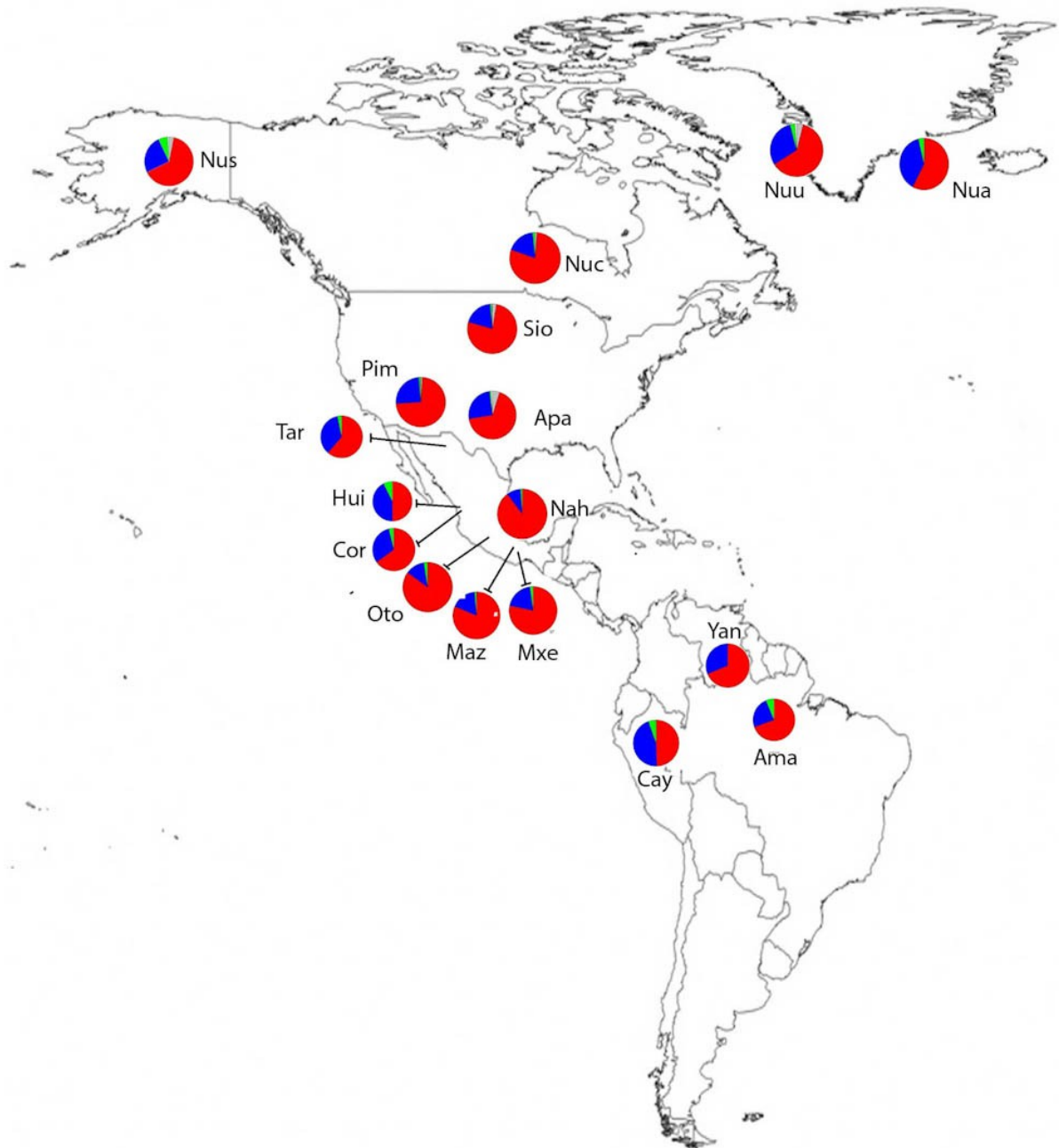
### *Distribución de los genotipos de APOE en poblaciones nativas de América*

Situamos en un mapa del continente las poblaciones con registro de las frecuencias genotípicas de APOE (Fig. 11). El genotipo 3/4 es muy común en las poblaciones de Groenlandia y Alaska, en la zona occidental y norte de México, y en los Cayapa (Ecuador). Las tres poblaciones de Estados Unidos tienen valores intermedios, mientras que las frecuencias de estos genotipos son muy bajas en el centro y sur de México. Estas observaciones corroboran la existencia de un gradiente norte-sur en las frecuencias de APOE4 y APOE3 en Norteamérica. No hay datos suficientes sobre poblaciones de América del Sur para postular algún patrón geográfico en esta zona. Las tres poblaciones del centro de los Estados Unidos y algunos grupos Inuits tienen APOE2.

## **DISCUSIÓN**

La variación mundial de APOE distingue primariamente los grupos con alta y baja frecuencia del alelo  $\epsilon 4$ . Analizar las características geográficas, históricas, nutricionales y culturales de las poblaciones que se encuentran en la rama de alta frecuencia de  $\epsilon 4$ , podría producir información importante acerca del reemplazo por  $\epsilon 3$  a través de la historia y la geografía. Es necesario hacer una comparación de la variación de marcadores neutrales en las mismas poblaciones, para poder distinguir los efectos de variaciones demográficas y el flujo génico de los efectos de fuerzas evolutivas como la selección natural.

La presencia de APOE2 en las poblaciones Amerindias ha sido objeto de debate durante las últimas décadas. Una parte amplia de la literatura apoya la idea de que el alelo  $\epsilon 2$  no existe en estos grupos (Gerdes *et al.*, 1996; Corbo y Scacchi, 1999; Singh *et al.*, 2006). Sin embargo, Kataoka *et al.* (1996) encontraron este alelo en frecuencias bajas ( $<0.03$ ) al estudiar grupos de Norteamérica, mientras que Demarchi *et al.* (2005) lo registraron para ciertas poblaciones de Sudamérica ( $<0.05$ ) y Aguilar *et al.* (1999) lo reportan para la población Purépecha. Los nuevos datos de este estudio apoyan la idea propuesta por Gerdes *et al.* (1996) ya que no encontramos APOE2 en ninguna de las cinco poblaciones.



**Figura 11.** Distribución geográfica de las frecuencias genotípicas de APOE en las poblaciones nativas de América (rojo = 3/3, Azul = 3/4, verde = 4/4, gris 3/2). Ama= Amazónicos, Apa = ApaCadCom, Cay= Cayapa, Cor = Coras, Hui = Huicholes, Nus = Inuits de Alaska, Nua = Inuits de Ammassalik, Nuc = Inuits de Canadá, Nuu = Inuits de Nuuk, Maz = Mazatecos, Mxe = Mixes, Nah = Nahuas, Oto = Otomíes, Pim = PimMarPap, Sio = Sioux, Tar = Tarahumaras, Yan = Yanomami.

Sin embargo, se debe considerar que los tamaños de muestra del estudio de Kataoka *et al.* (>1300), son considerablemente más grandes comparados con los utilizados por otros trabajos que se enfocan en poblaciones Amerindias (<500). Esto sugiere que la ausencia de  $\epsilon 2$  puede ser la consecuencia de una frecuencia muy baja y un muestreo insuficiente. Sin embargo, Demarchi *et al.* encontraron el alelo  $\epsilon 2$  en poblaciones sudamericanas (Wichí, Kaingang, Guaraní y Aché) utilizando tamaños de muestra muy pequeños (<50), lo que sugiere que las frecuencias obtenidas en este trabajo son representativas aún si no son exactas. Lo anterior deja entonces abierta la pregunta de si  $\epsilon 2$  existía originalmente en los grupos americanos y desapareció en la mayoría de las poblaciones americanas o si éste fue adquirido recientemente por las poblaciones Sioux, Apache, Pima, Wichí, Guaraní y Aché debido al intercambio genético con poblaciones europeas.

APOE4 en los grupos humanos de Norteamérica tiende a variar con la latitud, fenómeno que ha sido descrito para Europa, Asia y África (Gerdes *et al.*, 1992; Corbo y Scacchi, 1999; Singh *et al.*, 2006; Borinskaya *et al.*, 2007; Egert *et al.*, 2011; Hu *et al.*, 2011). Poblaciones de latitudes altas tienen frecuencias mayores de  $\epsilon 4$ , la cual disminuye paulatinamente hacia el centro y sur de México, donde alcanza valores muy bajos (<0.01). La falta de datos sobre grupos de Centroamérica y las escasas observaciones sobre grupos Sudamericanos impide que se pueda establecer este gradiente en todo el continente pero grupos cercanos al ecuador, como los Cayapa, también presentan valores elevados en la frecuencia de APOE4, observación contraria al modelo de variación latitudinal propuesto por Egert *et al.* (2011). Es necesario extender los estudios de este tipo a una mayor cantidad de poblaciones nativas de Sur y Centroamérica con el propósito de definir si realmente existe una correlación entre la frecuencia de APOE4 y la latitud geográfica en el continente Americano. La situación geográfica de México lo coloca como un sitio clave de la transición entre las características genotípicas de grupos humanos de altas latitudes y grupos humanos de latitudes tropicales ya que las poblaciones del norte del país (Tarahumaras, Coras y Huicholes) presentan frecuencias más elevadas que los grupos del centro y sur (Nahuas, Otomíes y Mixes).

Casi todas las poblaciones examinadas mostraron equilibrio Hardy-Weinberg y las que no, tuvieron desviaciones relativamente pequeñas. Por este motivo, los análisis de clasificación utilizando genotipos son equivalentes a los análisis utilizando alelos. Las frecuencias de alelos y genotipos no muestran un patrón de congruencia geográfica o cultural general. Ejemplo de ello es la similitud entre el conglomerado Pima-Maricopa-Pápago de Norteamérica con la población Saudí y el conglomerado Apache-Caddo-Comanche con la población Etíope. Estas similitudes

genéticas entre poblaciones geográfica y culturalmente alejadas, sugieren el efecto de fuerzas evolutivas en la composición de alelos y genotipos distintas a la migración, esto es posiblemente, una combinación de selección (¿direccional?) y deriva génica (Egert *et al.*, 2011; Eisenberg *et al.* 2010; Corbo y Scacchi, 1999; Singh *et al.* 2006).

Todos los análisis realizados dividen a las poblaciones indígenas de México en dos grandes grupos, observación que concuerda con el análisis de variación de haplotipos mitocondriales realizado por Juárez Marín en 2009: 1) Coras, Huicholes y Tarahumaras que se distinguen por tener una frecuencia comparativamente alta del alelo  $\epsilon 4$  y 2) Nahuas, Otomíes, Mixes y Mazatecos que tienen una frecuencia mayor del alelo  $\epsilon 3$ . Estas diferencias pueden interpretarse de dos maneras:

a) El encuentro de las poblaciones indígenas con las poblaciones europeas provocó importantes movimientos migratorios, sobre todo en el norte del país. Es posible que durante estos movimientos a las poblaciones Cora y Huichol se hayan incorporado grupos que tenían altas frecuencias de APOE4, provocando un aumento en la frecuencia de esta variante. También hubo una reducción drástica del tamaño de las poblaciones indígenas en todo el país, pero los grupos del centro tenían una mayor densidad poblacional de manera que esta reducción podría no haber tenido efecto sobre la diversidad genética. En contraste, los grupos del norte estaban más fragmentados y tenían tamaños poblacionales menores, de manera que la reducción permitió que la deriva génica actuara provocando una diferenciación entre poblaciones y un aumento de la frecuencia de APOE4. La mayor frecuencia del alelo  $\epsilon 4$  por lo tanto, puede obedecer a deriva génica. Hacen falta los perfiles de diversidad genética de las poblaciones prehispánicas para interpretar los procesos que generaron la actual estructura genético poblacional de los indígenas mexicanos.

b) Las diferencias en la frecuencia de APOE4 son resultado de un proceso de selección anterior a la conquista española. Los indígenas del norte de México tienen similitud en sus frecuencias a otros grupos como los Khoi San y Pigmeos de África central. Es probable que en estos grupos la selección no haya favorecido tan fuertemente a  $\epsilon 3$  debido al estilo de vida y algunas características alimentarias particulares de los indígenas del norte de México.

Son necesarios análisis combinados de variación genética, química sanguínea y nutrición para determinar si APOE4 se asocia a niveles mayores de colesterol y triglicéridos sanguíneos en estas poblaciones ante su modo actual de vida, ya que *APOE* no es el único gen involucrado en el

transporte y metabolismo de lípidos. Aguilar *et al.* (1999) aseguran que APOE4 no provoca un perfil anormal de lípidos en poblaciones Purépechas que siguen un estilo de vida tradicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco el financiamiento otorgado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN402507 y por la beca que recibí de parte del proyecto PAPIIT-UNAM IN400913 “Cosmovisión y salud entre tarahumaras y mixes. Un estudio sobre los desórdenes mentales”.

Agradezco al Dr. Luis Medrano González primero, por la dirección del proyecto, y segundo, por permitirme formar parte del grupo de Mastozoología Marina de la Facultad de Ciencias.

A la Dra. Blanca Zoila González Sobrino, que me permitió trabajar con sus muestras, incorporarme a su línea de investigación y utilizar las instalaciones y equipo del Laboratorio de Antropología Genética del Instituto de Investigaciones Antropológicas, además de brindarme apoyo continuo durante toda la realización del proyecto.

Agradezco especialmente a la M. en C. Ana Itzel Juárez Marín por compartir las muestras y los datos de la población Otomí.

Al Dr. Alfonso Miguel Torre Blanco por su valiosa crítica y revisión del trabajo.

Al Dr. Daniel Piñero Dalmau por la revisión y comentarios acerca del trabajo.

A la M. en C. Blanca Hernández Guadarrama por revisar el trabajo y por sus acertados comentarios sobre el mismo.

También agradezco a la Dra. Ana Julia Aguirre Samudio por el apoyo técnico que me brindó durante la elaboración de este trabajo.

A la M. en C. María de Jesús Vázquez Cuevas por su crítica, el apoyo y la confianza que depositó en mí.

A mis compañeros Ana Paula, Emiliano, Jerónimo y Sara, por sus aportaciones.

A la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco a mi padre, Javier, a mi madre, Lourdes, y a mi hermano, Erick.

## LITERATURA CITADA

- Aceves, D.; B. Ruiz, P. Nuño, S. Roman, E. Zepeda y A. Panduro. 2006. Heterogeneity of Apolipoprotein E polymorphism in different Mexican populations. *Human Biology* 78: 65-75.
- Acosta- Cázares, B. y J. Escobedo-de la Peña. 2010. High burden of cardiovascular disease risk factors in Mexico: an epidemic of ischemic heart disease that may be on its way? *American Heart Journal* 160(2): 230-236.
- Aggerbeck, L.; J. Wetterau, K. Weisgraber, C. Wu y F. Lindgren. 1988. Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. II. Properties of the amino- and carboxyl-terminal domains. *Journal of Biological Chemistry* 263: 6249-6258.
- Aguilar, C.; G. Talavera, J. Ordovas, J. Barriguete, L. Guillén, M. Leco, J. Pedro-Botet, J. González-Barranco, F. Gómez-Pérez y J. Rull. 1999. The apolipoprotein E4 allele is not associated with an abnormal lipid profile in a Native American population following its traditional lifestyle. *Atherosclerosis* 142: 409-414.
- Al-Khedhairi, 2004. Apolipoprotein E polymorphism in Saudis. *Molecular Biology Reports* 31: 257-260.
- Allan, C.; D. Walker, J. Segrest y J. Taylor. 1995. Identification and characterization of a new human gene (APOC4) in the apolipoprotein E, C-I, and C-II gene locus. *Genomics* 28(2): 291-300.
- Allen, J.; J. Bruss y H. Damasio. 200. The aging brain: the cognitive reserve hypothesis and hominid evolution. *American Journal of Human Biology* 17: 673- 689.
- Anand, L. y B. Prakash. 2008. Comparative profiles of different lipoprotein cholesterol parameters and growth hormone during hot humid and winter season in Murrah Buffaloes. *Livestock Science* 115: 294-300.
- Asakawa, J.; N. Takahashi, B. Rosenblum y J. Neel. 1985. Two-dimensional gel studies of genetic variation in the plasma proteins of Amerindians and Japanese. *Human Genetics* 70: 222-230.
- Assmann, G.; G. Schmitz, H. Menzel y H. Schulte. 1984. Apolipoprotein E polymorphism and hyperlipidemia. *Clinical Chemistry* 30(5): 641-643.
- Bazrgar, M.; M. Karimi, M. Fathzadeh, S. Senemar, F. Peiravian, A. Shojaee y M. Saadat. 2008. Apolipoprotein E polymorphism in Southern Iran: E4 allele in the lowest reported amounts. *Molecular Biology Reports* 45: 495-499.
- Becher, J.; J. Keeling, N. McIntosh, B. Wyatt y J. Bell. 2006. The distribution of apolipoprotein E alleles in Scottish perinatal deaths. *Journal of Medical Genetics* 43: 414-418.
- Bennet, A.; E. Di Angelantonio, Z. Ye, F. Wensley, A. Dahlin, A. Ahlbom, B. Keavney, R. Collins, B. Wiman, U. de Faire y J. Danesh. 2007. Association of Apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *Journal of the American Medical Association* 298 (11): 1300-1311.
- Benton, D. 1995. Do low-cholesterol levels slow mental processing? *Psychosomatic Medicine* 57(1): 50-3.
- Borinskaya, S.; N. Kal'ina, E. Sanina, Z. Kozhekbaeva, E. Gupalo, I. Garmash, P. Ogurtsov, O. Parshukova, S. Bojko, E. Veselovsky, G. Vershubskaya, A. Kozlov, E. Rogaev y N. Yankovsky. 2007. Polymorphism of the apolipoprotein E gene (APOE) in the populations of Russia and neighboring countries. *Russian Journal of Genetics* 43 (10): 1201-1207.

- Braeckman, L.; D. de Bacquer, M. Rosseneu y G. de Backer. 1996. Apolipoprotein E polymorphism in middle-aged Belgian men: phenotype distribution and relation to serum lipids and lipoproteins. *Atherosclerosis* 120: 67-73 .
- Brega, A.; R. Scacchi, M. Cuccia, B. Kirdar, G. Pelonso y R. Corbo. 1998. Study of 15 protein polymorphisms in a sample of the Turkish population. *Human Biology* 70: 715-728.
- Burgos, J.; C. Ramirez, I. Sastre, M. Bullido y F. Valdivieso. ApoE4 is more efficient than E3 in brain access by herpes simplex virus type 1. *Neuroreport* 14(14): 1825-1827.
- Burt, T.; B. Agan, V. Marconi, W. He, H. Kulkarni, J. Mold, M. Cavrois, Y. Huang, R. Mahley, M. Dolan, J. McCune y S. Ahuja. 2008. Apolipoprotein (apo) E4 enhances HIV-1 cell entry in vitro, and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype accelerates HIV disease progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105(25): 8718-8723.
- Carioulou, M., A. Kokkofitou, P. Manoli, S. Christou, A. Karagrigoriou y L. Middleton. 1995. Underexpression of the apolipoprotein E2 and EA alleles in a Greek Cypriot population of Cyprus. *Genetic Epidemiology* 12: 489-497.
- Carroll, B. 2003. Genetics and the making of *Homo sapiens*. *Nature* 422: 849-857.
- Cavalli-Sforza, L.; P. Menozzi y A. Piazza. 1994. *The history and geography of Human genes*. Princeton University Press. Princeton,
- Chen, J., Q. Li y J. Wang. 2011. Topology of human apolipoprotein E3 uniquely regulates its diverse biological functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (36): 14813- 14818.
- Civelek, T., M. Turan, F. Birdane e I. Demirkan. 2007. Serum lipid concentrations in military patrol dogs trained for controlled aggression. *Revue de Médecine Vétérinaire* 158: 7-12.
- Corbo, R. M. y R. Scacchi. 1999. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world: is APOE a “thrifty” allele? *Annals of Human Genetics* 63:301-310.
- Corbo, R.; R. Scacchi, L. Mureddu, G. Mulas y G. Alfano. 1995. Apolipoprotein E polymorphism in Italy investigated in native plasma by a simple polyacrylamide gel isoelectric focusing technique. Comparison with frequency data of other European populations. *Annals of Human Genetics* 59: 197-209.
- Corbo, R.; R. Scacchi, O. Rickards, C. Martinez-Labarga y G. Stefano. 1999. An investigation of human apolipoprotein B and E polymorphisms in two African populations from Ethiopia and Benin. *American Journal of Human Biology* 11: 297-304.
- Corder, E.; A. Saunders, W. Strittmatter, D. Schmechel, P. Gaskell, G. Small, A. Roses, J. Haines y M. Pericak-Vance. 1993. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer’s disease in late onset families. *Science* 261: 921-923.
- Corder, E.; L. Lanfelt, M. Viitanen, L. Corder, K. Manton, B. Winblad y H. Basun. 1996. Apolipoprotein E genotype determines survival in the oldest old (85 years or older) who have good cognition. *Archives of Neurology* 53(3): 418-422.
- Crews, D.; M. Kamboh, J. Mancilha-Carvalho y B. Kottke. 1993. Population genetics of apolipoprotein A-4, E, and H polymorphisms in Yanomami Indians of Northwestern Brazil: associations with lipids, lipoproteins, and carbohydrate metabolism. *Human Biology* 65: 211-224.
- Davignon, J.; R. Gregg y C. Sing. 1988. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular biology* 8 :1-21.
- Demarchi, D., F. Salzano, M. Altuna, M. Fiegenbaum, K. Hill, A. Hurtado, L. Tsunetto, M. Petzl-erler y M. Hutz. 2005. APOE polymorphism distribution among Native Americans and related populations. *Annals of Human Biology* 32(3): 351-365.
- Dietschy, J. y S. Turkey. 2001. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *Journal of Lipid Research* 45(8): 1375-1397.

- Dong, L.; C. Wilson, M. Wardell, T. Simmons, R. Mahley, K. Weisgraber y D. Agard. 1994. Human Apolipoprotein E. Role of arfinine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. *Journal of Biological Chemistry* 269 (35): 22358-22365.
- Edison, R.; K. Berg, A. Remaley, R. Kelley, C. Rotimi, R. Stevenson y M. Muenke. 2007. Adverse birth outcome among mothers with low serum cholesterol. *Pediatrics* 120: 723-733.
- Egert, S.; G. Rimbach y P. Huebbe. 2012. ApoE genotype: from geographic distribution to function and responsiveness to dietary factors. *Proceedings of the Nutrition Society* 71: 410-424.
- Ehnholm, C.; M. Lukka, T. Kuusi, E. Nikkilä y G. Utermann. 1986. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *Journal of Lipid Research* 27: 227-235.
- Eisenberg, D; C. Kuzawa y G. Hayes. 2010. Worldwide allele frequencies of the Human Apolipoprotein E gene: climate, local adaptations, and evolutionary history. *American Journal of Physical Anthropology* 143: 100-111.
- Elias, P., M. Elias, R. D'agostino, L. Sullivan y P. Wolf. 2005. Serum cholesterol and cognitive performance in the Framingham Heart Study. *Psychosomatic Medicine* 67(1): 24-30.
- Ewens, W.J. 1972 The sampling theory of selectively neutral alleles. *Theoretical Population Biology* 3:87-112.
- Finch, C. y C. Stanford. 2004. Meat-adaptive genes and the evolution of slower aging in humans. *Quarterly Review of Biology* 79 (1): 3-50.
- Froehle, A. y M. Schoeninger. 2006. Intraspecies variation in BMR does not affect estimates of early hominin total daily energy expenditure. *American Journal of Physical Anthropology* 131 (4): 552-559.
- Fullerton, S.; A. Clark, K. Weiss, D. Nickerson, S. Taylor, J. Stengard, V. Salomaa, E. Vartiainen, M. Perola, E. Boerwinkle y C. Sing. 2000. Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: implications for the origin and maintenance of a major human polymorphism. *American Journal of Human Genetics* 67:881-900.
- Gajra, B.; J. Candlish, N. Saha, C. Heng, A. Soemantri y J. Tay. 1994. Influence of polymorphisms for apolipoprotein B and apolipoprotein E on serum lipids and apolipoproteins in a Javanese population. *Genetic Epidemiology* 11: 19-27.
- Gamboa, R.; G. Hernández-Pacheco, R. Hesiquio, J. Zuñiga, F. Massó, L. Montaña, M. Ramos-Kuri, J. Estrada, J. Granados y G. Vargas-Alarcón. 2000. Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Human Biology* 72 (6): 975-981.
- Gaynor, J.; G. Wernovsky, G. Jarvik, J. Bernbaum, M. Gerdes, E. Zackai, A. Nord, R. Clancy, S. Nicolson y T. Spray. 2007. Patient characteristics are important determinants of neurodevelopmental outcome at one year of age after neonatal and infant cardiac surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 133: U1344-U1391.
- Gerdes, L. 2003. The common polymorphism of apolipoprotein E: geographical aspects and new pathophysiological relations. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 41(5): 628-631.
- Gerdes, L.; C. Gerdes, P. Hansen, I. Klausen, O. Faergeman y J. Dyerberg. 1996. The apolipoprotein E polymorphism in Greenland Inuit in its global perspective. *Human Genetics* 98: 546-550.
- Gerdes, L.; I. Klausen, I. Sihm y O. Faergeman. 1992. Apolipoprotein-E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genetic Epidemiology* 9: 155-167.



- Gómez-Coronado, D.; J. Álvarez, A. Entrala, J. Olmos, E. Herrera y M. Lasunción. 1999. Apolipoprotein E polymorphism in men and women from a Spanish population: allele frequencies and influence on plasma lipids and apolipoproteins. *Atherosclerosis* 147(1): 167-176.
- González-Sobrino, B. y A. Pintado. 2012. Las huellas del andar Rarámuri: Aspectos históricos y genéticos en la región Tarahumara. En González-Sobrino (ed.) *Entre tarahumaras, coras y huicholes: algunos aspectos sobre la locura*. UNAM. México, 216p.
- González-Sobrino, B. y M. Ochoa. 2005. Genética y nutrición en dos poblaciones de la región de Orizaba, Veracruz. *Estudios de Antropología Biológica* XII (1): 93-102.
- Gregg, R.; L. Zech, E. Schaefer, D. Stark, D. Wilson y H. Brewer. 1986. Anormal in vivo metabolism of apolipoprotein E4 in humans. *Journal of Clinical Investigation* 78: 815-821.
- Hallman, D.; E. Boerwinkle, N. Saha, C. Sandholzer, H. Menzel, A. Csazar y G. Utermann. 1991. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *American Journal of Human Genetics* 49: 338-349.
- Hanlon, C. S. y D.C. Rubinsztein. 1995. Arginine residues at codons 112 and 158 in the apolipoprotein E gene correspond to the ancestral state in humans. *Artherosclerosis* 112: 85-90.
- Hauser, P.; V. Narayanaswami y R. Ryan. 2011. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. *Progress in Lipid Research* 50: 62-74.
- Hegele, R.; P. Connelly, A. Hanley, F. Sung, S. Harris y B. Zinman. 1997. Common genomic variants associated with variation in Plasma Lipoproteins in Young Aboriginal Canadians. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 17: 1060-1066.
- Henderson, V., J. Guthrie y L. Dennerstein. 2003. Serum lipids and memory in a population based cohort of middle age women. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 74(11): 1530-1535.
- Hixson, J. y D. Vernier. 1990. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *Journal of Lipid Research* 31: 545-548.
- Hu, P.; Y. Qin, C. Jing, L. Lu, B. Hu y P. Du. 2011. Does the geographical gradient of ApoE4 allele exist in China? A systemic comparison among multiple Chinese populations. *Molecular Biology Reports* 38(1): 489-494.
- Huang, Y.; X. Liu, S. Rall y R. Mahley. 1998. Apolipoprotein E2 reduces the low density lipoprotein level in transgenic mice by impairing lipoprotein lipase-mediated lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins. *Journal of Biological Chemistry* 273: 17483-17490.
- Hubáček, J.; J. Pitha, V. Adámková, Z. Skodová, V. Lánská y R. Poledne. 2001. Apolipoprotein E and Apolipoprotein CI polymorphisms in the Czech population: almost complete linkage disequilibrium of the less frequent alleles of both polymorphisms. *Physiological Research* 52: 195-200.
- Huebbe, P.; A. Nebel, S. Siegert, J. Moehring, C. Boesch-Saadatmandi, E. Most, J. Pallauf, S. Egert, M. Müller, S. Schreiber, U. Nöthlins y G. Rimbach. 2011. APOE  $\epsilon$ 4 is associated with higher vitamin D levels in targeted replacement mice and humans. *FASEB* 25(5): 3262-3270.
- Hulbert, A y P. Else. 2004. Basal metabolic rate: history, composition, regulation, and usefulness. *Physiological and Biochemical Zoology* 77(6): 869-876.
- INEGI. 2012. La población indígena en México. México, 196p.
- Ishibashi, S.; J. Goldstein, S. Brown, J. Herz y D. Burns. 1994. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. *Journal of Clinical Investigation* 93: 1885-1893.

- Jacobs, D. y C. Iribarren. 2000. Invited commentary: low cholesterol and nonatherosclerotic disease risk: a persistently perplexing question. *American Journal of Epidemiology* 151: 748-751.
- James, R.; M. Boemi, R. Giansanti, P. Fumelli y D. Pometta. 1993. Underexpression of the apolipoprotein E4 isoform in an Italian population. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 13: 1456-1459.
- Jofre-Monseny, L.; A. Minihane y G. Rimbach. 2008. Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk. *Molecular Nutrition and Food Research* 52(1): 131-145.
- Juárez, A. 2009. Lengua, historia y genética de los Otomíes de Valle del Mezquital: una mirada integral. Tesis de Maestría. UNAM.
- Kamboh, M.; M. Crawford, C. Aston y W. Leonard. 1996. Population distributions of APOE, APOE, and APOA4 polymorphisms and their relationships with quantitative plasma lipid levels among the Evenki Herders of Siberia. *Human Biology* 68: 231-243.
- Kamboh, M.; S. Serjeantson y R. Ferrell. 1991. Genetic studies of human apolipoproteins. XVIII. Apolipoprotein polymorphisms in Australian aborigines. *Human Biology* 63(2): 179-186.
- Kaplan, J., K. Klein y S. Manuck. 1997. Cholesterol metes Darwin: public health and evolutionary implications of the cholesterol-serotonin hypothesis. *Evolutionary Anthropology* 6(1): 28-37.
- Kataoka, S.; D. Robbins, L. Cowan, O. Go, J. Yeh, R. Devereux, R. Fabsitz, E. Lee, T. Welty y B. Howard. 1996. Apolipoprotein E Polymorphism in American Indians and its relation to plasma lipoproteins and diabetes. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 16: 918-925.
- Kesaniemi, Y.; C. Ehnholm y T. Miettinen. 1987. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apoprotein-e phenotype. *Journal of Clinical Investigation* 80: 578-581.
- Kesteloot, H., E. Ndam, M. Kowo, O. Njoya, c. Cobbaert, S. Sasaki y v. Segers. 1997. Serum lipid levels in a Pygmy and Bantu population sample from Cameroon. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular diseases* 7(5): 383-387.
- Kim, K.; J. Jhoo, K. Lee, D. Lee, J. Lee, J. Youn, B. Lee, S. Han y J. Woo. 1999. Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease in Koreans. *Neuroscience Letters* 277: 145-148.
- Kuhlmann, I.; A. Minihane, P. Huebbe, A. Nebel y G. Rimbach. 2010. Apolipoprotein E genotype and hepatitis C, HIV and herpes simplex disease risk: a literature review. *Lipids in Health and Disease* 9: 8.
- Lambert, J.; F. Pasquier, D. Cattel, B. Frigard, P. Amouyel y M. Chartier-Harlin. 1998. A new polymorphism in the APOE promoter associated with risk of developing Alzheimer's Disease. *Human Molecular Genetics* 3 (7): 533-540.
- Leonard, W.; J. Snodgrass y M. Sorensen. 2008. Health consequences of social and ecological adversity among indigenous Siberian populations: biocultural and evolutionary interactions. pp 26-52. En: Panter-Brick, C. y A. Fuentes (Eds). *Health, risk, and adversity*. New York. 310p.
- Lester, D. 2002. Serum cholesterol levels and suicide: a meta-analysis. *Suicide and life-threatening behaviour* 32(3): 333-346.
- Lodge, K.; W. Hall, Y. Jeanes y A. Proteggente. 2004. Physiological factors influencing vitamin E biokinetics. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1031: 60-73.
- Lovegrove, B. 2003. The influence of climate on the basal metabolic rate of small mammals: a slow-fast metabolic continuum. *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology* 137: 87-112.

- Luc, G.; J. Bard, D. Arveiler, A. Evans, J. Cambou, A. Bingham, P. Amouyel, P. Schaffer, J. Ruidavets y F. Cambien. 1995. Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction. The ECTIM study. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 14: 1412-1419.
- Mahley, R. 1988. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240: 622-630.
- Mahley, R. y S. Rall. 2000. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 1: 507-537.
- Mahley, R. y T. Innerarity. 1983. Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 737: 197-222.
- Mahley, R. y Y. Huang. 1999. Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Current Opinion in Lipidology* 10: 207-217.
- Mahley, R. y Z. Ji. 1999. Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparin sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *Journal of Lipid Research* 40: 1-16.
- Mahley, R.; K. Weisgraber y Y. Huang. 2009. Apolipoprotein E structure determines function, from atherosclerosis to Alzheimer's disease to AIDS. *Journal of Lipid Research* 50: S183-S188.
- Mancilha-Carvalho, J. y D. Crews. 1990. Lipid profiles of Yanomamo indians of Brazil. *Preventive medicine* 19(1): 66-75.
- Miller, K., A. Rubenstein y P. Astrand. 1968. Lipid values in Kalahari bushmen. *Archives of Internal Medicine* 121(5): 414-417.
- Minihane, A.; L. Jofre-Monseny, E. Olano-Martin y G. Rimbach. 2007. ApoE genotype, cardiovascular risk and responsiveness to dietary fat manipulation. *The Proceedings of the Nutrition Society* 66(2): 183-197.
- Muros, M. y C. Rodríguez-Ferrer. 1996. Apolipoprotein protein E polymorphism influence in lipids, apolipoproteins and Lp(a) in a Spanish population under-expressing apoE4. *Atherosclerosis* 121: 13-21.
- Nagy, B.; J. Rigo, L. Fintor, I. Karadi y T. Toth. 1998. Apolipoprotein E alleles in women with severe pre-eclampsia. *Journal of Clinical Pathology* 51: 324-235.
- Nickerson, D. A.; Taylor, S. L.; Fullerton, S. M.; Weiss, K. M.; Clark, A. G.; Stengard, J. H.; Salomaa, V.; Boerwinkle, E. y C.F. Sing. 2000. Sequence diversity and large-scale typing of SNPs in the human apolipoprotein E gene. *Genome Research* 10, 1532-1545.
- Oriá, R.; P. Patrick, M. Oriá, B. Lorntz, M. Thompson, O. Azevedo, R. Lobo, R. Pinkerton, R. Guerrant y A. Lima. 2010. ApoE polymorphism and diarrheal outcomes in Brazilian shanty town children. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 43(3): 249-256.
- Paik, Y.; D. Chang, C. Reardon, G. Davies, R. Mahley y J. Taylor. 1985. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 82: 3445-3449.
- Pitas, R.; Innerarity T. y R. Mahley. 1980. Cell surface receptor binding of phospholipid-protein complexes containing different ratios of receptor-active and -inactive E apoprotein. *Journal of Biological Chemistry* 255: 5454-5460.
- Pond, W.; H. Mersmann, D. Su, J. McGlone, M. Wheeler y E. Smith. 2008. Neonatal dietary cholesterol and alleles of cholesterol 7- $\alpha$  hydroxylase affect piglet cerebrum weight, cholesterol concentration and behavior. *Journal of Nutrition* 138: 282-286.
- Prentice, A.; P. Rayco-Solon y S. Moore. 2005. Insights from the developing world: thrifty genotypes and thrifty phenotypes. *Proceedings of the Nutrition Society* 64: 153-161.

- Price, D.; M. Bassendine, S. Norris, C. Goldings, G. Toms, M. Schmid, C. Morris, A. Burt y P. Donaldson. 2006. Apolipoprotein  $\epsilon 3$  allele is associated with persistent hepatitis C virus infection. *Gut* 55(5): 715-718.
- Raymond M. and F. Rousset. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49:1280-1283.
- Reddy, K. y S. Yusuf. 1998. Emerging epidemic of cardiovascular disease in developing countries. *Circulation* 97: 596-601.
- Rensen, P. y T. van Berkel. 1996. Apolipoprotein E effectively inhibits lipoprotein lipase-mediated lipolysis of chylomicron-like triglyceride-rich lipid emulsions in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry* 271: 14791-14799.
- Robertson, T.; N. Dutton, R. Martins, A. Roses, A. Kakulas y J. Papadimitriou. 1997. Age-related congophilic inclusions in the brains of apolipoprotein E-deficient mice. *Neuroscience* 82(1): 171-180.
- Rudenko, G. y J. Deisenhofer. 2003. The low-density lipoprotein receptor: ligands, debates and lore. *Current Opinion in Structural Biology* 13: 683-689.
- Sánchez-Cuén, J.; M. Aguilar-Medina, E. Arámbula-Meraz, J. Romero-Navarro, J. Granados, L. Sicarios-Medina y R. Ramos-Payón. 2010. ApoB-100, ApoE and CYP7A1 gene polymorphisms in Mexican patients with cholesterol gallstone disease. *World Journal of Gastroenterology* 16(37): 4685-4690.
- Sandholzer, C.; R. Delpont, H. Vermaak y G. Utermann. 1995. High frequency of the apo  $\epsilon 4$  allele in Khoi San from South Africa. *Human Genetics* 95(1): 46-48.
- Scacchi, R.; R. Corbo, O. Rickards, E. Mantuano, A. Guevara y G. De Stefano. 1997. Apolipoproteins B and E genetic polymorphisms in the Cayapa Indians of Ecuador. *Human Biology* 69: 375-382.
- Schächter, F.; L. Faure-Delanef, F. Guénot, H. Rouger, P. Froguel, L. Lesueur-Ginot y D. Cohen. 1994. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nature genetics* 6(1): 29-32.
- Scheer, D.; D. Boudreau, G. Malcom y J. Middaugh. 1995. Apolipoprotein E and atherosclerosis in Alaska Natives. *Atherosclerosis* 114: 197-202.
- Schoknecht, P., S. Ebner, W. Pond, S. Zhang, V. McWhinney, W. Wong, P. Klein, M. Dudley, J. Goddardfinegold y H. Mersmann. 1994. Dietary-cholesterol supplementation improves growth and behavioral response of pigs selected for genetically high and low serum-cholesterol. *Journal of Nutrition* 124: 305-314.
- Segrest, J.; M. Jones, H. De Loof, C. Brouillette, Y. Venkatachlapathi y G. Anantharamaiah. 1992. The amphipathic helix in the exchangeable apolipoproteins: a review of secondary structure and function. *Journal of Lipid Research* 33: 141-166.
- Sehayek, E.; S. Shefer, L. Nguyen, J. Ono, M. Merkel y J. Breslow. 2000. Apolipoprotein E regulates dietary cholesterol absorption and biliary cholesterol excretion: studies in C57BL/6 apolipoprotein E knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 3433-4337.
- Sepehrnia, B.; M. Kamboh, L. Adams-Campbell, C. Bunker, M. Nwankwo, P. Majumder y R. Ferrell. 1989. Genetic studies of human apolipoproteins. X. The effect of the apolipoprotein E polymorphism on quantitative levels of lipoproteins in Nigerian Blacks. *American Journal of Human Genetics* 45: 586-591.
- Seripa, D.; Matera, M. G.; Daniele, A.; Bizzarro, A.; Rinaldi, M.; Gravina, C.; Bisceglia, L.; Corbo, R. M.; Panza, F.; Solfrizzi, V., Fazio, V. M.; Dal Forno, G.; Masullo, C.; Dallapiccola, B. y A. Pilotto. 2007. The missing ApoE allele. *Annals of Human Genetics* 71: 496-500.

- Shimano, H.; N. Yamada, M. Katsuki, M. Shimada, T. Gotoda, K. Harada, T. Murase, C. Fukazawa, F. Takaku y Y. Yakazi. 1992. Overexpression of apolipoprotein E in transgenic mice: marked reduction in plasma lipoproteins except high density lipoprotein and resistance against diet-induced hypercholesterolemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 89: 1750-1754.
- SINAVE/DGE/SALUD. 2012. Perfil Epidemiológico de los municipios indígenas de México. Secretaría de Salud. México, 228p.
- Sing, C. y J. Davignon. 1985. Role of the apolipoprotein-e polymorphism in determining normal plasma-lipid and lipoprotein variation. *American Journal of Human Genetics* 37: 268-285.
- Singh, P.; M. Singh y S. Mastana. 2006. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK. *Annals of Human Biology* 33(3):279-308.
- Slatkin, M. 1995 A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.
- Song, Y., J. Sung y J. Kim. 2000. Invited commentary: low cholesterol and nonatherosclerotic disease risk: a persistently perplexing question - response. *American Journal of Epidemiology* 151(8): 752-753.
- Sparrow, J.; D. Sparrow, A. Culwell y A. Gotto. Apolipoprotein E: phospholipid binding studies with synthetic peptides containing the putative receptor binding region. *Biochemistry* 24: 6984-6988.
- Stengard, J.; K. Zerba, J. Pekkamén, C. Ehnholm, A. Nissinen y C. Sing. 1995. Apolipoprotein E polymorphism predicts death from coronary heart disease in a longitudinal study of elderly Finnish men. *Circulation* 91(2): 265-269.
- Svobodová, H.; F. Kucera, T. Stulc, M. Vrablík, B. Amartuvshin, T. Altannavch y R. Ceska. 2007. Apolipoprotein E gene polymorphism in the Mongolian population. *Folia Biologica* 53(4): 138-142.
- Tang, M.; G. Maestre, W. Tsai, X. Liu, L. Feng, W. Chung, M. Chun, P. Schofield, Y. Stern, B. Tycko y R. Mayeux. 1996. Relative risk of Alzheimer Disease and Age-at-Onset Distributions, based on APOE genotypes among elderly African Americans, Caucasians, and Hispanics in New York City. *American Journal of Human Genetics* 58: 574-584.
- Utermann, G. 1987. Apolipoprotein E polymorphism health and disease. *American Heart Journal* 113: 433-440.
- Valveny, N.; E. Esteban, M. Kandil y P. Moral. 1997. APOE polymorphism in Spanish and Moroccan populations. *Clinical Genetics* 51: 354-356.
- Vamathevan, J.; S. Hasan, R. Emes, H. Amrine-Madsen, D. Rajagopalan, V. Kumar, M. Word, M. Simmons, S. Foord, P. Sanseau, Z. Yang y J. Holbrook. 2008. The role of positive selection in determining the molecular cause of species differences in disease. *BMC Evolutionary Biology* 8: 273.
- Vance, J., H. Hayashi y B. Karten. 2005. Cholesterol homeostasis in neurons and glial cells. *Seminars on cell and developmental biology* 16(2): 193-212.
- von Bergmann, K.; D. Lutjohann, B. Lindenthal y A. Steinmetz. 2003. Efficiency of intestinal cholesterol absorption in humans is not related to apoE phenotype. *Journal of Lipid Research* 44: 193-197.
- Walker, L.; C. Parker, W. Lipinski, M. Callahan, R. Carrol, S. Gandy, J. Smith, M. Jucker y C. Bisgaier. 1997. Cerebral lipid deposition in aged apolipoprotein-E-deficient mice. *American Journal of Pathology* 151(5): 1371-1377.
- Wang, H.; F. Zhang, J. Gao, J. Fan, P. Liu, Z. Zheng, H. Xi, Y. Su, X. Gao, T. Huang, J. Ke, G. Guo, G. Feng, G. Breen, D. St Clair y L. He. 2000. Apolipoprotein E is a genetic risk factor for fetal iodine deficiency disorder in China. *Molecular Psychiatry* 5: 363-368.

- Weisgraber, K. 1990. Apolipoprotein E distribution among human plasma lipoproteins: role of cysteine-arginine interchange at residue 112. *Journal of Lipid Research* 31: 1503-1511.
- Weisgraber, K.; S. Rall y R. Mahley. 1981. Human E Apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms. *Journal of Biological Chemistry* 256: 9077-9083.
- Weisgraber, K.; T. Innerarity y R. Mahley. 1982. Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human apolipoprotein E due to cysteine-arginine interchange at a single site. *Journal of Biological Chemistry* 257: 2518-2521.
- Wetterau, J.; L. Aggerbeck, S. Rall y K. Weisgraber. 1988. Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. Evidence for two structural domains. *Journal of Biological Chemistry* 263 (13): 6240-5248.
- Wilson, C.; M. Wardell, K. Weisgraber, R. Mahley y D. Agard. 1991. Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science* 252:1817-1822.
- Wilson, P. 1995. Relation of high-density lipoprotein subfractions and apolipoprotein E isoforms to coronary disease. *Clinical Chemistry* 41(1): 165-169.
- Woollett, L.; Y. Osono, J. Herz y J. Dietschy. 1995. Apolipoprotein E competitively inhibits receptor-dependent low density lipoprotein uptake by the liver but has no effect on cholesterol absorption or synthesis in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 12500-12504.
- Wozniak, M.; R. Itzhaki, E. Faragher, M. James, S. Ryder y W. Irving. 2002. Apolipoprotein E-epsilon 4 protects against severe liver disease caused by hepatitis C virus. *Hepatology* 36(2): 456-463.
- Wright, R.; H. Hu, E. Silverman, S. Tsaih, J. Schwartz, D. Belinger, E. Palazuelos, S. Weiss y M. Hernandez-Avila. 2003. Apolipoprotein E genotype predicts 24-month Bayley scales infant development score. *Pediatric Research* 54: 819-825.
- Zekraoui, L.; J. Lagarde, A. Raisonier, N. Gérard, A. Aouizérate G. Lucotte. 1997. High frequency of the apolipoprotein E4 allele in African pygmies and most of the African populations in sub-Saharan Africa. *Human Biology* 69(4): 575-81.
- Zetterberg, H.; M. Palmer, A. Ricksten, J. Poirier, L. Palmqvist, L. Rymo, A. Zafirooulos, D. Arvanitis, D. Spandidos, y K. Blennow. 2002. Influence of the apolipoprotein E epsilon 4 allele on human embryonic development. *Neuroscience Letters* 324: 189-192.
- Zhang, S.; R. Reddick, J. Piedrahita y N. Maeda. 1992. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 258: 468-471.
- Zouros, E. 1979. Mutation rates, population sizes and amounts of electrophoretic variation of enzyme loci in natural populations. *Genetics* 92: 623-646.