



**Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Odontología  
División de Estudios de Posgrado e Investigación**

---

**Laboratorio de Genética Molecular**

**Distribución de variaciones genéticas en  
sujetos mexicanos Mestizos y de  
denominaciones indígenas**

**TESIS**

Que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Odontológicas

**PRESENTA**

CD. Adriana Pérez Soria

**TUTORA**

Dra. Laurie Ann Ximénez Fyvie



México, D.F.

2010



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece el financiamiento que hizo posible la realización del presente trabajo por parte de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) a través del programa PAPIIT (proyecto no. IN2130063).

## CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
Antecedentes .....	3
Conceptos básicos de genética humana.....	3
Estructura del ADN .....	6
Proyecto del genoma humano.....	12
Diversidad genética en el ser humano.....	16
Enfermedades de origen genético .....	30
Significado biológico de las variaciones genéticas.....	31
Planteamiento del problema y justificación .....	36
Objetivos.....	37
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
Diseño experimental .....	38
Población de estudio y criterios de selección.....	38
Evaluación clínica.....	40
Evaluación genética.....	40
Recolección y procesamiento de muestras.....	40
Detección de variaciones genéticas .....	41
Análisis estadístico de datos.....	43
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>47</b>
Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales (Objetivo 1)..	47
Asociación de genotipos individuales (Objetivo 2) .....	48
Evaluación de haplotipos complejos (Objetivo 3).....	49
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>65</b>
Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales (Objetivo 1).....	65
Asociación de genotipos individuales (Objetivo 2) .....	65
Evaluación de haplotipos complejos (Objetivo 3).....	66
Conclusión final-aplicaciones.....	66
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>
<b>TABLAS.....</b>	<b>80</b>
<b>FIGURAS.....</b>	<b>90</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>96</b>
Anexo 1. Formato de consentimiento informado.....	96
Anexo 2. Índice de tablas.....	102
Anexo 3. Índice de figuras.....	103



## RESUMEN

Se ha deseado encontrar marcadores genéticos basados en la presencia de variaciones genéticas asociadas a enfermedades multifactoriales y que sean de utilidad para cualquier población, sin embargo, la distribución de dichas variaciones varía importantemente entre diferentes zonas geográficas y grupos étnicos, lo que hace que los marcadores sean de utilidad solo para las poblaciones donde se diseñaron. **Objetivos:** Describir la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas de 11 variaciones en sujetos mexicanos Mestizos (MES) y de 2 denominaciones indígenas (IND): mazahua (MAZ) y huichol (HUI). Evaluar las asociaciones de los genotipos individuales de las variaciones con los 3 grupos de estudio. Determinar la capacidad de haplotipos para marcar específicamente a los grupos de estudio. **Métodos:** Se evaluaron un total de 169 muestras de DNA genómico utilizando las técnicas de PCR (polymerase chain reaction), RFLP (restriction fragment length polymorphism) y secuenciación. Las frecuencias alélicas y genómicas, individuales o combinadas fueron calculadas y comparadas entre grupos. Se utilizó un modelo matemático para identificar los perfiles genéticos asociados a los grupos de estudio. **Resultados:** Se determinó un marcador que se asociaba significativamente con el grupo de indígenas ( $F$   $p < 0.001$ ). El marcador propuesto, presentó mejores valores estadísticos como marcador del grupo IND que cualquiera de los genotipos o alelos individuales. **Conclusiones:** Las poblaciones indígenas presentan frecuencias más altas de algunos genotipos comparadas con los mestizos. Se presenta un marcador genético para la población indígena que confirma que las variaciones tienen una distribución diferente incluso en individuos que son de una misma población pero de distintas etnias.

# INTRODUCCIÓN

## ANTECEDENTES

### Conceptos básicos de genética humana

Físicamente el genoma puede ser dividido en diferentes moléculas de ácidos nucleicos. Funcionalmente el genoma es dividido en genes (**Lewin 2004**). Conceptualmente, el genoma (de la raíz griega *gen*: origen) puede ser considerado como el “patrimonio genético” de un organismo. La naturaleza hereditaria de todo organismo viviente se encuentra definido en su genoma, el cual consiste en una secuencia larga de ácidos nucleicos que proveen la información necesaria para crear un organismo. La mayoría de los organismos poseen un genoma constituido por DNA; excepcionalmente, algunos virus tienen un genoma de RNA. En los seres humanos a la totalidad del ADN (ácido desoxirribonucleico) de un individuo que se encuentra condensado en los cromosomas se le denomina genoma, el cual contiene el set completo de información hereditaria para cualquier organismo, siendo la secuencia de las subunidades individuales que llevan por nombre bases de ácidos nucleicos las que determinan las características hereditarias. El conjunto total de material genético hereditario presente en una célula, codificante o no. La parte codificante del genoma especifica, en forma de genes, la información necesaria para dar lugar a productos génicos como los diferentes tipos de RNA y las proteínas, responsables de toda actividad celular, de las características morfológicas y del comportamiento de un organismo desde la embriogénesis hasta el crecimiento, maduración física e intelectual, reproducción y demás funciones metabólicas o actividades fisiológicas (**Cabrera 2001**). Mediante una serie compleja de interacciones,

dicha secuencia tiene como finalidad principal producir las proteínas que un organismo requiera en un momento y lugar apropiados.

La genética humana es una disciplina biológica que se encarga de estudiar la forma cómo se transmiten los caracteres de padres a hijos a lo largo de generaciones y a la vez también se encarga de analizar las semejanzas y diferencias que existen entre padres e hijos y que se encuentran determinadas por la herencia y el medio ambiente. La genética entendida como un conjunto de postulados y de métodos analíticos comenzó aproximadamente en el año de 1860 cuando un monje agustino llamado Johann Gregor Mendel realizó una serie de experimentos que apuntaban a la existencia de unos elementos biológicos llamados genes, Mendel fue el primero en concebir la idea de un gen (**Griffiths 2004**). En 1854 en la Real Escuela de Brünn, donde fue profesor suplente, dedicó la mayor parte de su tiempo a investigar sobre la variedad, la herencia y la evolución de las plantas, en especial de los guisantes. Es así que actualmente sus aportes a la ciencia son considerados como fundamentales para el desarrollo de la genética. En 1856 inició trabajos sobre hibridación mediante experimentos de cruzamientos de diversos guisantes y el estudio de la descendencia producida en cada caso. Sus observaciones le permitieron acuñar dos términos que se siguen empleando en la genética actual: dominante y recesivo. También los términos factor e híbrido, son dos conceptos establecidos por Mendel de absoluta vigencia en la actualidad. Su labor pasó inadvertida hasta 1901. Sus investigaciones obtuvieron reconocimiento cuando fueron redescubiertas por parte de H. de Vries, C. E. Correns y E. Tschernack von Seysenegg, quienes con más de treinta años de retraso atribuyeron a Mendel la prioridad del

descubrimiento resumido en tres leyes con las cuales es posible describir los mecanismos de la herencia y son conocidas como las leyes de Mendel que más tarde fueron explicadas por el padre de la genética experimental moderna, el biólogo estadounidense Thomas Hunt Morgan. Tras dichas aportaciones, se iniciaron en el siglo XIX las investigaciones para descubrir molécula que guardaba la información. La primera molécula propuesta y aislada fue la “nucleína”, localizada en el núcleo celular y constituída por una parte ácida (DNA) y otra parte básica (proteína), se llevó a cabo el estudio parcial de sus propiedades y de la relación con la herencia celular. Sin embargo, fue hasta mediados del siglo XX que se demostró que era el DNA, y no la nucleína, el componente cromosómico depositario de la información genética. Cabe destacar como antecedentes clave los experimentos de Oswald T. Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty en 1944 y de Alfred D Hershey y Martha Chase en 1952, que constituyen un hito en el conocimiento actual del material genético en la biología a escala molecular, aunque el verdadero inicio de la Biología Molecular moderna fue la propuesta de la estructura para el DNA, es decir, el modelo tridimensional postulado en 1953 por James Dewey Watson y Francis Harry Compton Crick que corresponde a la actualmente denominada forma B del DNA, siendo la forma más común en las células y la más estable de todas las formas que puede adoptar el DNA bajo condiciones fisiológicas. Para establecer la estructura del DNA hubo una contribución importante de Erwin Chargaff quién estableció las dos reglas de proporciones de nucleótidos que forman pares de bases. El modelo del DNA también se basó en las observaciones de la biofísica y cristalógrafa inglesa, autora de contribuciones importantes para la comprensión de las estructuras del DNA, los virus, el carbón y el grafito, Rosalind

Elsie Franklin, quien obtuvo la fotografía de difracción de rayos X que reveló de manera inconfundible la estructura helicoidal de la molécula del DNA. La imagen, conocida como la famosa fotografía 51, fue un respaldo experimental crucial para que el investigador estadounidense James D. Watson y el británico Francis Crick establecieran en 1953, la célebre hipótesis de la "doble hélice" que es característica de la estructura molecular del DNA y por la que en 1962, junto con Maurice Hugh Frederick Wilkins, les fuera concedido el Premio Nobel en Fisiología y Medicina (**Lewin 2004, Vázquez-Contreras 2003, Watson & Crick 1953b**).

### **Estructura del ADN**

El DNA es una macromolécula compleja, compuesta por dos cadenas que se entrelazan formando una doble hélice. Dicha macromolécula es un polímero lineal de unidades denominadas nucleótidos que se encuentran unidas por enlaces fosfodiéster 5'-3', ambas hélices se mantienen unidas entre sí por la complementariedad de las bases nitrogenadas las cuales forman parejas. La disposición de las hebras es anti-paralela y cada una de estas hebras se compone de una secuencia de nucleótidos. Un nucleótido se forma a partir de un grupo fosfato unido a la desoxirribosa, y constituyen la columna vertebral de la doble hélice. Las bases nitrogenadas de una cadena son complementarias a las de la otra cadena. Los cuatro tipos diferentes de bases nitrogenadas para el ADN son: Adenina, Timina, Citocina y Guanina (A, T, C y G). Las dos hebras de nucleótidos son complementarias entre sí para formar las parejas (A-T, G-C) unidas por enlaces débiles denominados "puentes de hidrógeno". Es la secuencia de los pares de bases es lo que determina el código genético, es decir que la naturaleza diferente del código del ADN

entre los organismos depende del orden o secuencia de las bases a lo largo de la cadena de DNA (**Watson & Crick 1953a**).

El DNA de las células se organiza en cromosomas. Cada cromosoma es una molécula larga de DNA condensada. La condensación del DNA comprende dos aspectos teóricamente independientes pero funcionalmente relacionados y subordinados entre sí. Uno de los aspectos es denominado superenrollamiento que es propio de la molécula de B-DNA (doble hélice dextrógira) poco conocida en eucariontes por su mayor complejidad debido a la magnitud del genoma. El otro aspecto se denomina empaquetamiento, plegamiento o compactación de la molécula del DNA debido a la asociación con proteínas como histonas para dar lugar a las nucleoproteínas. La condensación del DNA desde cromatina hasta cromosomas ocurre de forma gradual durante la fase G2 del ciclo celular, mientras que el proceso inverso comienza después de la división celular o fase M y continúa durante la fase G1 hasta alcanzar de nuevo la condición difusa que permite la replicación en la fase S. Las células eucariotas tienen características que las distinguen de las células procariontes, entre otras que el genoma nuclear aparece bajo dos formas estructuralmente diferentes durante el ciclo celular: la cromatina (en la interfase, entre divisiones) como material filamentoso disperso en la mayor parte del núcleo y los cromosomas (durante la división) fácilmente observables como entidades morfológicas o corpúsculos independientes. Ambas formas están constituidas por las mismas moléculas lineales muy largas de DNA de doble hebra estrechamente asociadas a proteínas (**Cabrera 2001**).

El número de cromosomas nucleares es característico de cada especie y varía bastante entre unas y otras. El ser humano tiene su DNA organizado en 23 pares de cromosomas distintos entre sí. Un ser humano está constituido por millones de células, normalmente en cada célula existen 46 cromosomas, de ésta generalización deben exceptuarse las células germinales dedicadas a la reproducción del individuo las cuales poseen solo la mitad, es decir, 23 cromosomas. Los 46 cromosomas de todas las células son al suma de los 23 aportados por el espermatozoide mas los 23 aportados por el óvulo de modo que, al ocurrir la fecundación, se constituyen los 46 cromosomas del cigoto inicial y de todas las células derivadas de él. Se habla de células haploides cuando los cromosomas se presentan de forma individual, de modo que cada célula contiene solo un juego de cromosomas (23). Por el contrario se les denomina células diploides a aquellas en las que se observan pares de cromosomas morfológicamente iguales entre sí, los dos miembros de la pareja de cromosomas se conocen como homólogos, de cada pareja un cromosoma se ha heredado del padre y otro de la madre. Por lo tanto, cada célula diploide tiene dos juegos de cromosomas, es decir 46 cromosomas homólogos que se presentan como 23 pares de cromosomas homólogos (XX) en el género femenino a diferencia del género masculino donde únicamente existen 22 pares de cromosomas homólogos ya que el par 23 es heterólogo (XY) que define al sexo masculino.

Cada cromosoma contiene miles de genes. Hoy día se estima que el ser humano tiene más de 30.000 genes en sus cromosomas . El gen es considerado como una unidad de almacenamiento de información y una unidad de herencia al transmitir esa información a la descendencia. La información genética se encuentra codificada en

fragmentos de DNA y es la secuencia específica del DNA la que codifica la información necesaria para sintetizar una molécula que cumpla una función determinada o para sintetizar una proteína que tenga un papel fundamental en las células de nuestro organismo.

Los seres vivos comparten un mismo sistema de almacenamiento y expresión de la información genética y muestran homologías derivadas de una relación evolutiva **(Griffiths 2004)** sin embargo, al analizar la magnitud del genoma ya sea entre individuos de una misma especie como entre individuos de diferentes especies se ha observado que, tanto el contenido total del DNA expresado en picogramos (pg) o pares de bases (bp) así como el número de cromosomas, varían ampliamente entre los seres vivos. La magnitud del genoma está relacionada con el grado de información requerido por cada especie, es decir, su magnitud es mayor cuanto más complejo es el organismo o cuanto más se asciende en la escala evolutiva aunque dicha correlación sólo es válida al comparar especies muy alejadas evolutivamente. Por otro lado, no existe correlación alguna entre el tamaño del genoma de distintas especies y el número de cromosomas que lo componen. Por ejemplo, mientras que el genoma humano (*Homo sapiens*) de  $3.1 \times 10^9$  bp está repartido en 23 cromosomas, las células de ratón (*Mus musculus*) con un genoma menor de  $2.5 \times 10^9$  bp poseen 20 cromosomas; en contraste, las células de cebolla (*Allium cepa*) tienen un genoma 4.8 veces mayor que el del humano con un total de  $1.5 \times 10^{10}$  bp distribuidas en 8 cromosomas. La ausencia de correlación en los ejemplos anteriores sugiere que el tamaño del genoma de los organismos superiores es mayor al necesario y por lo tanto, que una gran parte es material genético no codificante, es decir, que nunca

traduce su información a un producto génico (RNA o proteína). En relación con la complejidad del organismo y el tamaño de su genoma nuclear se debe destacar que, además de la presencia de grandes regiones que no codifican producto génico alguno (DNA no codificante), hay presencia de secuencias de DNA que se repiten en un número elevado de veces (DNA repetitivo) por lo que actualmente se estima que la proporción codificante sólo alcanza alrededor del 3% del DNA total (**Cabrera 2001**). La mínima secuencia de DNA que es capaz de codificar para una función o una estructura completa se conoce como gen. Sin embargo existen largas secuencias de ADN que, aunque molecularmente se compongan de lo mismo que un gen, no codifican para ningún producto génico, por lo tanto no se les llama genes, algunos autores les han llamado secuencias vacías o DNA basura. Hoy día se piensa que la función de tal DNA es estructural, es decir, contribuye a dar estabilidad a la molécula de DNA.

En cada cromosoma, los genes ocupan una posición determinada llamada *locus*, un cromosoma contiene miles de *locus* o genes dispuestos en forma de secuencias lineales de nucleótidos dentro de una molécula de DNA (o RNA en el caso de algunos virus) que se encuentran en el núcleo, de ahí su nombre de ácidos nucleicos. Un individuo normal posee parejas de cromosomas autosómicos, en cada cromosoma existe una versión para cada gen, lo que se conoce denomina alelos. Por ello, cada individuo posee dos alelos para cada gen autosómico. Si los dos alelos son idénticos, se habla de individuo homocigoto y si son diferentes se habla de un individuo heterocigoto. En una población humana pueden existir más de dos alelos para un mismo *locus* cromosómico (alelos múltiples), un ejemplo ocurre con el caso de los antígenos de histocompatibilidad del sistema inmune los cuales

tienen un elevado número de alelos diferentes (alto polimorfismo) y pueden estar involucrados en trasplantes de órganos ya que debido a los alelos múltiples es más difícil encontrar donadores compatibles en individuos no emparentados.

Las características físicas de un individuo, que son observables y que se encuentran determinadas por los genes y el medio ambiente es lo que conocemos como el fenotipo de un individuo y por otro lado a la totalidad de genes de un individuo le corresponde el término de genotipo, ambas definiciones se mezclan en la ecuación fundamental de la genética donde todo fenotipo es el resultado de un genotipo que se expresa en un determinado ambiente en el cual establece interacciones. La ecuación fundamental de la genética es:  $\text{GENOTIPO} + \text{AMBIENTE} = \text{FENOTIPO}$  (**Santos & Morizon 2000**). El genotipo es el conjunto particular de genes que posee el individuo y el ambiente es el conjunto de todas las causas no genéticas que influyen en el valor fenotípico. El genotipo da un cierto valor al individuo, pero este valor se ve afectado por el ambiente que produce un incremento positivo o negativo. Si no existiera influencia del ambiente, el valor genotípico sería igual al fenotípico. Cuando medimos el valor fenotípico de un carácter en individuos que han crecido en el mismo ambiente, las diferencias entre unos y otros se deben exclusivamente a causas genéticas. Si no hubiera influencia del genotipo, todo el valor fenotípico se debería al efecto ambiental y de la misma manera cuando medimos el valor fenotípico de un carácter en individuos con el mismo genotipo, las diferencias se deberán a causas ambientales (**Del Arco 2008**).

## Proyecto del genoma humano

La última década del siglo XX fue testigo del inicio de un proyecto científico único. Su objetivo consistió en determinar el orden o la secuencia de todas las unidades de información genética que nos distinguen como especie, las cuales, además de darnos características individuales (color de ojos, estatura, compleción, tipo de cabello, etc.), revelan los puntos débiles de nuestro organismo. La contemplación de proyectos como el HapMap que intentaba secuenciar el DNA de 4 individuos diferentes y que posteriormente se amplió en lo que constituye una visión más compleja y completa llamada “Proyecto del Genoma Humano (PGH)” (**Chomali et al. 1999**). Éste proyecto de investigación billonario comenzó en 1990 en Estados Unidos, el propósito fue conocer la secuencia de todo el DNA humano (~3,2 billones de bases nitrogenadas), identificar los ~25.000 genes normales y conocer los genes responsables de múltiples enfermedades como el cáncer. En 1990 se inauguró definitivamente el Proyecto Genoma Humano calculándose quince años de trabajo. Sus objetivos principales en una primera etapa eran la elaboración de mapas genéticos y físicos de gran resolución, mientras se ponían a punto nuevas técnicas de secuenciación, para poder abordar todo el genoma (**Márquez Piñero 1995**). El 6 de abril de 2000 se anunció públicamente la terminación del primer borrador del genoma humano secuenciado que localizaba a los genes dentro de los cromosomas. Los días 15 y 16 de febrero de 2001, las dos prestigiosas publicaciones científicas americanas, Nature y Science, publicaron la secuenciación definitiva del Genoma Humano con un año de antelación a la fecha presupuesta y concluyendo que un 99.9% de la secuencia de genes es común entre todos los seres humanos, sin importar raza o nacionalidad. Este proyecto

analizó la diversidad genética de individuos africanos, europeos y asiáticos, y sus hallazgos han acelerado profundamente la investigación biomédica y clínica al permitirnos entender las bases biológicas de la enfermedad humana. Sin embargo, no se incluyó al grupo continental americano, de modo que el conocimiento derivado de él benefició principalmente a Europa o Asia. El trabajo sobre la interpretación de los datos obtenidos de la secuenciación del genoma se encuentra todavía en sus etapas iniciales. Se prevé que un conocimiento detallado del genoma humano ofrecerá nuevas vías para los avances de la medicina y la biotecnología **(Cook-Deegan 1994, Sabatti 2003)**.

La decodificación del genoma humano, calificado como "el mapa más importante jamás producido por la humanidad", prometía alentadoras perspectivas en el tratamiento y prevención de enfermedades hasta ahora incurables **(Márquez Piñero 1995)**. Actualmente se han podido descifrar algunos de los genes en relación con las enfermedades que producen, así entre los genes más relevantes, destacan los asociados al cáncer de próstata, glaucoma y Alzheimer, los cuales se encuentran en el cromosoma 1. En el cromosoma 2 se identificó el gen de cáncer de colon, mientras que en el cromosoma 3 se encontraron algunos de cáncer de pulmón y otra variante del cáncer de colon. La enfermedad de Parkinson y el Corea de Huntington se alojan en el 4. En el cromosoma 6 fueron identificados los genes asociados a la diabetes y la epilepsia. En el 9 se encuentra el gen del melanoma maligno y la leucemia crónica, mientras que el 11 guarda el gen que produce tumores endocrinos múltiples y alteraciones cardíacas en jóvenes. La fenilcetonuria tiene su gen asociado en el cromosoma 12, mientras que en el 13 están el de cáncer de mama y retinoblastoma. Se podría continuar la lista pero antes de lograr

comprender el código completo era necesario identificar la totalidad de los genes para averiguar cuál es la función de cada uno de ellos y cómo interactúan entre sí dentro del código genético humano.

La aplicación más inmediata de conocer el genoma humano y con ello, las posibles mutaciones que se pudieran producir en los genes es poder realizar un diagnóstico preciso **(Anónimo 2009)**. El genoma, o conjunto de genes de un individuo, guarda las instrucciones que determinan cada una de las características individuales de un humano desde el timbre de su voz y el color de sus ojos, hasta la aparición de una determinada enfermedad y, descifrar este código permitirá que en las próximas décadas el desarrollo de fármacos específicos para cada individuo o la creación de tratamientos para enfermedades como cáncer, diabetes, problemas cardíacos, esquizofrenia o incluso el tratamiento de enfermedades degenerativas como el Alzheimer, artritis reumatoide y otras que cursen con una etiología similar **(Melgar 2009, Sabatti 2003, Varmus 2003)**.

El análisis de las similitudes entre las secuencias de DNA de diferentes organismos es también la apertura de nuevas vías en el estudio de la evolución. Muchas de las preguntas acerca de las similitudes y diferencias entre los seres humanos y nuestros parientes más cercanos (los primates y otros mamíferos) se espera que sean descifrados con los datos de este proyecto. En el futuro, el PGH podría exponer nuevos datos en la vigilancia de las enfermedades, el desarrollo humano y la antropología.

El Proyecto Diversidad del Genoma Humano (PDGH), derivado de investigaciones dirigidas al DNA humano que varía entre distintos grupos étnicos continúa hasta la fecha y

ha arrojado nuevas conclusiones. Lucca Cavalli-Sforza, un prestigioso genetista especializado en estudio de poblaciones humanas, está impulsando la idea de realizar una investigación destinada a comprender la variación genética humana y a reconstruir la historia de las poblaciones humanas en los últimos 100.000 años de nuestra especie. Este Proyecto de Diversidad del Genoma Humano (PDGH) imbricaría una diversidad de disciplinas como genética, arqueología, lingüística, antropología, etc., para entender la evolución de la humanidad, reconstruir las grandes migraciones de grupos humanos, la distribución de las poblaciones y culturas, entre otros temas. La estrategia consistía en la toma de muestras de DNA de una serie de poblaciones y etnias con el estudio comparativo de polimorfismos genéticos. Se pretendía estudiar muestras correspondientes al 10% de las 5000 poblaciones lingüísticas diferenciadas que existen, con el objeto de ver si existían correlaciones entre la diseminación cultural y la genética.

La estimulación y el desafío impulsado por el conocimiento incipiente y emocionante de variaciones genéticas y de mutaciones adaptativas (**Marsh 2007**) que den explicación al origen de los seres humanos es una temática que ha dominado el debate de la paleontología en la última década, en esta cuestión se ha investigado y en el 2002 se analizaron los principales modelos propuestos para explicar los orígenes del hombre moderno (*Homo sapiens*) examinando la evidencia fósil de Europa, África y Australia. Con los datos arqueológicos y genéticos se concluyó que el origen en África está apoyado en la similitud que encontraron con el *H. sapiens* tanto morfológica como conductual y genéticamente, aunque son necesarias más pruebas antes de determinar el origen africano como absoluto para nuestra especie (**Stringer 2002**). Otra aplicación podría ser

en la ideología de Sir Francis Galton, famoso geógrafo y estadístico que inventó la "eugenesia" en 1883. La eugenesia, que se define como la ciencia de la mejora del origen racial, se desarrolló a partir de una nueva teoría de la herencia, concebida por el propio Galton, de la teoría de la evolución de Charles Darwin adaptada a la sociedad humana por Herbert Spencer. La eugenesia de Galton era un programa para producir artificialmente una mejor raza humana a través de la regulación del matrimonio y por lo tanto la procreación con especial hincapié en la "eugenesia positiva", destinada a fomentar la superioridad física y mental de los miembros de una población **(Aubert-Marson 2009)**.

Según sus impulsores, el PDGH daría una rica visión de la variedad de recursos genéticos de nuestra especie, y junto con los datos del PGH convencional facilitaría la comprensión del fundamento genético de la susceptibilidad o resistencia a distintas enfermedades, incluidas las infecciosas para comprender mejor el papel de la selección y el de la deriva genética **(Anónimo 2009)**. El PGH podría descifrar secretos y crear nuevas estrategias para combatir la vulnerabilidad de algunos grupos étnicos a ciertas enfermedades y también podría mostrar cómo las poblaciones humanas se han adaptado a estas vulnerabilidades **(Yañez Pareja 1997)**.

### **Diversidad genética en el ser humano**

La genética se define como el estudio de la herencia, estos fenómenos hereditarios han llamado la atención de los seres humanos desde los albores de la civilización. La genética ha llegado a tener un protagonismo central, como no tiene ninguna otra disciplina científica, en numerosos aspectos de la vida del hombre. Al ocupar una posición

pivote sobre la que gira la biología, resulta esencial para cualquier estudioso de la vida animal, vegetal o microbiana.

En el año 2009 se conmemoró el 200 aniversario de la publicación de la Filosofía Zoológica de Jean-Baptiste Lamarck y el 150 aniversario de la publicación de la primera edición de El Origen de las Especies (**Koonin & Wolf 2009, Scorza et al. 2009**). Lamarck creyó que la evolución es impulsada principalmente por cambios fenotípicos que resultan benéficos y que no son adquiridos de manera aleatoria, en particular, los directamente afectados por la utilización de órganos que Lamarck pensaba que eran heredados. La transferencia horizontal de genes es un proceso evolutivo dominante en las células procariotas, parece ser una forma de herencia de Lamarck, donde los genes transferidos confieren una ventaja selectiva para el crecimiento en determinado entorno. Por otra parte las diversas formas de mutagénesis inducida por el estrés constituyen una respuesta de adaptación universal a la presión ambiental en las formas de vida celular. La mutagénesis inducida por el estrés puede ser interpretado como un fenómeno al azar provocado por factores ambientales pero que resultan benéficos para el organismo (**Koonin & Wolf 2009**). Dos pasos indispensables están involucrados en este proceso: el origen de nuevas copias del gen por mutación y la evolución de nuevas funciones que lleva a la fijación de las nuevas copias dentro de las poblaciones. No es raro que los nuevos genes desarrollarían nuevas estructuras y funciones para contribuir a la evolución adaptativa de los organismos (**Zhou & Wang 2008**). En contraste, Darwin le asigna una mayor importancia al cambio al azar, considerando que proporciona el material necesario para que se dé la selección natural (**Koonin & Wolf 2009**). Las teorías de Darwin de la

selección natural y la selección sexual son importantes aunque su aplicación sobre la raza y el género fue limitado por el contexto socio-histórico en el que opera la selección natural (**Shields & Bhatia 2009**). Aunque las teorías de la selección natural a menudo parecen inaplicables a la historia humana, se centran procesos como la sinergia entendida como la compleja interacción de variables en múltiples niveles entre las especies y su entorno o la cibernética donde los sistemas de información permiten la comunicación entre individuos y grupos en el tiempo (**Masters 2007**). Pese a los avances de la biología evolutiva, se ha tenido poco impacto en los estudios de la historia social. Una vez que los estudiosos admitan la necesidad de vincular los procesos de selección natural con las transformaciones humanas, va a parecer ilógico que haya tomado tanto tiempo integrar la biología de Darwin con las ciencias sociales (**Masters 2007**). Tanto las aportaciones de Lamarck como de Darwin reflejan diferentes aspectos de la interacción entre las poblaciones y el medio ambiente (**Koonin & Wolf 2009**) y vale la pena hacer hincapié en ésta relación que resulta fundamental para entender el alcance del presente trabajo y el futuro del mismo.

La genética se refiere a el estudio de los genes, los que resultan ser para los genetistas, el objeto central de estudios moleculares, celulares y de los organismos, tanto a nivel poblacional como evolutivo (**Griffiths 2004**). Un tema de repercusión global es el de la salud genética de nuestras poblaciones. Muchos genetistas están alarmados porque nuestros genomas humanos se ven agredidos por una gama creciente de agentes que producen cambios aleatorios en los genes que a corto plazo parecen no incrementar de forma significativa la frecuencia de enfermedades hereditarias pero a largo plazo su

acumulación produce enfermedades, a tal efecto se le ha denominado “bomba genética de relojería” (Griffiths 2004).

Las variaciones genéticas, también conocidas como factores genéticos modificadores, influyen sobre el progreso de los eventos de inicio hacia estados en los que la enfermedad se evidencia clínicamente, mediante la exacerbación o represión de la progresión influyen, en última instancia, sobre el desarrollo propio de la enfermedad y su presentación clínica. Existen evidencias científicas crecientes de que las variaciones en los genes que codifican para moléculas inflamatorias influyen sobre la susceptibilidad y severidad clínica del individuo a tales enfermedades. Un número importante de polimorfismos funcionales en genes que codifican para citocinas inflamatorias y sus receptores han sido asociados e identificados como principales mediadores en la patogenia de diversas enfermedades infecciosas y autoinmunes multifactoriales comunes como la artritis reumatoide (Cimaz *et al.* 2007, Gomez *et al.* 2007, Nemeč *et al.* 2008, You *et al.* 2007), el asma (Harada *et al.* 2007, Hosseini-Farahabadi *et al.* 2007, Pawlik *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2007), la psoriasis (Baran *et al.* 2007, Kim *et al.* 2007, Li *et al.* 2007, Reich *et al.* 2007), la colitis ulcerativa (Arisawa *et al.* 2008, Celik *et al.* 2006, Cucchiara *et al.* 2007, Fei *et al.* 2008), la enfermedad periodontal (Huynh-Ba *et al.* 2007, Moreira *et al.* 2007a, Moreira *et al.* 2007b, Sumer *et al.* 2007), la diabetes (Aminkeng *et al.* 2007, Deja *et al.* 2006, Qi *et al.* 2007, Sbarsi *et al.* 2007), las enfermedades coronarias (Bai *et al.* 2008, Clarke *et al.* 2006, Koch *et al.* 2006, Sie *et al.* 2006), la osteoporosis postmenopáusica (Bustamante *et al.* 2007, Goseki-Sone *et al.* 2005, Kim *et al.* 2006) y la enfermedad de Alzheimer (Bagnoli *et al.* 2007, Bossu *et al.* 2007, Koivisto *et al.* 2005, van

**Oijen et al. 2006**). Esto es debido a que la presencia de variaciones genéticas que afectan la expresión de genes que codifican para citocinas inflamatorias da como resultado individuos con una respuesta inflamatoria exacerbada o prolongada, haciéndolos más susceptibles a enfermedades que cuentan con componentes inflamatorios importantes en su patogenia.

En las poblaciones suelen presentarse variantes genéticas de un mismo gen que puede llegar a ser ligeramente diferente de un individuo a otro. En general, los rasgos hereditarios humanos más comunes tales como color de ojos, tipo y color de cabello, peso, estatura, coeficiente intelectual (CI), tipo de sangre, etc. son rasgos que presentan una variación continua en la población además de una herencia compleja. Poseen una base genética multifactorial poligénica, de tipo aditivo. Es decir existen varios genes ubicados en distintos cromosomas, con efecto fenotípico de tipo aditivo (esto es, cada poligen aumenta un determinado valor fenotípico sobre un basal) y no es discernible individualmente. Además, estos caracteres poseen una fuerte dependencia ambiental, como lo han mostrado los estudios de caracteres humanos poligénicos comparando mellizos monocigóticos (genéticamente idénticos al 100%) contra mellizos dicigóticos (50 % de genes idénticos) sometidos a diferentes condiciones ambientales (**Santos & Morizon 2000**).

Sin negar que el proyecto del genoma humano del mexicano pudiera tener implicaciones negativas, se debe destacar que se trata de un mapa general de la diversidad genética de nuestra población en el que no existe la información individualizada. Es muy importante que la gente tenga conocimiento claro sobre este

trabajo científico, de sus beneficios y limitaciones. En una primera etapa se trata de utilizar las herramientas que nos proporciona la ciencia para ayudar a acelerar la investigación y promover la formación de más grupos de investigación genética de enfermedades en México y es innegable el hecho de que se debe discutir en México sobre dicho tema, la gente involucrada en investigación social y en la generación de leyes debe prestar atención a este tema para proteger a su población de potenciales efectos negativos que pudiera tener el análisis genético individual y el conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades (**Chomali et al. 1999, Varmus 2003, Yañez Pareja 1997**) por supuesto, evitando obstaculizar el progreso de la investigación y el desarrollo de la ciencia y la tecnología, pero estipulando que el objetivo principal de los avances o de los logros obtenidos debe ser de apoyo y para el beneficio del país.

La ingeniería genética, así como es una de las más promisorias de las biotecnologías destinadas a mejorar la calidad de vida de la población humana, necesita ser reglamentada para que no se transforme en nuevos intentos de llevar adelante prácticas de carácter eugenésico.

Los millones de personas en todo el mundo que han apoyado la búsqueda de la secuencia del genoma humano, lo hizo con la esperanza de que pudiera beneficiar a la humanidad porque encerraba la promesa de la esperada "medicina individualizada", es decir, la adaptación de las prácticas de prescripción y tratamiento de pacientes con el perfil genético de cada persona (**Collins et al. 2003**). Ahora, en los albores de la era genómica, nos imaginamos que pronto comenzarán a revelarse los misterios de los factores hereditarios en las enfermedades como cáncer, diabetes, esquizofrenia, etc. Estas

revelaciones por un lado tienen el riesgo de ser utilizadas en perjuicio de la humanidad y por otro lado tienen una enorme cantidad de beneficios, por ejemplo el de tener una mejor comprensión de los factores genéticos que influyen en la susceptibilidad y/o la respuesta a diversas enfermedades infecciosas, dicha comprensión tendría un inmenso impacto a nivel mundial sin mencionar que se haría justicia al beneficio más añorado en la búsqueda para descifrar el genoma del ser humano, la salud de sus poblaciones.

### ***Etnias***

La palabra etnia (del griego *ethnos*, que actualmente se refiere a "pueblo" o "nación"), históricamente tenía otra concepción, la palabra "etnia" significaba "gentil", proveniente del adjetivo griego *ethnikos*. El adjetivo se deriva del sustantivo *ethnos*, que significa gente o nación extranjera. El sustantivo dejó de estar relacionado con "pagano" a principios del siglo XVIII. El uso en el moderno sentido de la palabra comenzó en la mitad del siglo XX. El término etnia se refiere a una población humana en la cual los miembros se identifican entre ellos con base en una real genealogía o presunta ascendencia común, generalmente basada en lazos históricos. Las etnias están normalmente unidas por prácticas culturales, sociales, lingüísticas, o religiosas comunes y mantienen una estructura política y un territorio propios.

El término "etnia" se usa a veces erróneamente como un eufemismo para raza o un sinónimo para grupo minoritario, sin embargo, el término etnia comprende factores culturales, de nacionalidad, afiliación tribal, religión, lengua, tradiciones y factores biológicos de un grupo humano, mientras que el término de raza específicamente alude a los factores morfológicos distintivos de esos grupos humanos como el color de piel o los

rasgos faciales, desarrollados por un proceso de adaptación a determinado espacio geográfico o ecosistema (clima, altitud, flora, fauna, etc.) a lo largo de varias generaciones. Así, la palabra "raza" es solo un concepto que ha sido asociado al de etnia. Cabe mencionar que un gran porcentaje de personas no está de acuerdo con el hecho de clasificar a los humanos en distintas razas y etnias. Algunas razones por las que dicen se deben rechazar estos conceptos de etnia y raza son porque se generan conflictos y agresiones muy graves, se causan falsos sentimientos de identidad que causan desunión, a pesar de ello, actualmente se impone la idea de que la negación de las diferencias no permite su valoración y respeto.

La separación de las etnias tiene conflictos desde el lenguaje, que suele ser el primer factor clasificador de los grupos étnicos, también la delimitación cultural de un grupo étnico respecto a las etnias vecinas, se hace difícil en especial en lo tocante a grupos humanos altamente comunicados con sus vecinos. Generalmente se aprecia que los grupos étnicos comparten un origen común, y tienen una continuidad en el tiempo, es decir, una historia o tradición común y proyectan un futuro como pueblo. Esto se alcanza a través de la transmisión generacional de un lenguaje común, valores y costumbres que los distinguen de otras etnias. Si bien en determinadas culturas se entremezclan los factores étnicos y los políticos, no es imprescindible que un grupo étnico cuente con instituciones propias de gobierno para ser considerado como tal. La soberanía por tanto, no es definitoria de la etnia, si bien se admite la necesidad de una cierta proyección social común.

Es importante considerar la genética de los grupos étnicos si debemos distinguirlos de un grupo de individuos que comparten únicamente características culturales. Las etnias generalmente se remiten a mitos de fundación que revelan una noción de parentesco más o menos remoto entre sus miembros. La genética actual tiende a verificar la existencia de esa relación genética, aunque las pruebas están sujetas a discusión (**Gellner 1988, Guibernau 1996, Hobsbawm 1992**). La conveniencia de estudiar grupos étnicos que se mantienen aislados. Es posible asumir que en comunidades cerradas en las que los índices de incorporación y propagación de los alelos variantes (A2) son bajos, los individuos son poco susceptibles a determinadas enfermedades y, en consecuencia, la prevalencia de las mismas es baja. El fenómeno inverso sería entonces cierto para comunidades cerradas en las que la forma sobre-representada es A2. Considerando lo anterior, las poblaciones cerradas son un modelo de estudio interesante con el que, entre otras cosas, se facilita la identificación de los efectos y asociaciones de genotipos polimórficos específicos con determinados padecimientos.

### ***Origen y evolución de los mexicanos***

El mestizaje en nuestro país surgió con la llegada de los europeos a América. Los españoles pensaron en el mestizaje como un elemento de integración social y un factor de paz social entre culturas. En la actualidad, en México, "mestizo" se ha convertido más que nada en una etiqueta cultural, sin embargo, tiende a ser un grupo de la población en el que se presenta frecuentemente mezcla con otras poblaciones. En el contexto cultural, suelen considerarse como "indígenas" a aquellos que viven y mantienen una forma de vida 'tradicional' (vestuario, costumbres, idioma, etc.). Sin embargo, algunos de estos

grupos indígenas representan etnias que, aunque también fueron conquistadas, se mantuvieron y continúan hasta cierto punto manteniéndose prácticamente sin mezcla con otras razas. Algunas de las mismas son aún consideradas como “razas puras”. En el presente estudio, reportamos a mestizos y a dos de dichas etnias puras: los mazahuas y los huicholes. La región mazahua está situada en la parte noroeste del Estado de México y en una pequeña área del oriente del estado de Michoacán. Este grupo tiene como vecinos a los indígenas Otomíes con quienes mantiene relación, pero ésta es principalmente de tipo comercial. Los huicholes, por otra parte, habitan en los estados de Jalisco y Nayarit, cuentan también con grupos minoritarios en los estados de Zacatecas y Durango. En Nayarit, los huicholes conviven en el mismo territorio con indígenas Coras, sin embargo, ambos grupos suelen ser renuentes a la mezcla étnica.

En México, el mayor porcentaje de la población está compuesto por individuos provenientes de una mezcla de indígenas con europeos (mayormente españoles), con una pequeña pero importante contribución de africanos (**Bonilla et al. 2005**). Además de la inmigración española a México, durante los siglos XIX y XX, prácticamente no existió inmigración de otros grupos europeos como ocurrió de forma masiva en Argentina, Brasil y Uruguay (**Palma-Mora 2005**). Sin embargo, en el mismo periodo, llegó a México un gran número de inmigrantes del medio oriente, principalmente de Turquía y Líbano (**García-Ita 2005**); así como de China y Corea (**Instituto Nacional de Estadística y Geografía 2007**). Por lo tanto, no es sorprendente que las características genéticas de los mexicanos presenten similitudes con las poblaciones turcas (**Karahan et al. 2005**), afroamericanas (**Jenny et al. 2002, Nibali et al. 2009**) y asiáticas (**Furuta et al. 2002, Nibali et al. 2009, Um & Kim 2003**)

antes mencionadas. Sin embargo, las similitudes detectadas con la población de la República Checa (**Fassmann et al. 2003**); compuesta mayormente por mezclas de checos, alemanes, polacos, romanos y húngaros, son difíciles de explicar y merece exploraciones de patrones históricos de ascendencia e inmigración profundas que se salen de los alcances del presente trabajo. Así mismo, exceptuando el reporte citado de individuos de raza negra de Sudáfrica (**Corbett et al. 2002**), el resto de las discrepancias observadas con otros reportes, parecen lógicas siendo que todas las poblaciones en cuestión están compuestas primordialmente por individuos de raza caucásica y/o ascendencia anglosajona.

En el genoma descifrado por investigadores del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN); inspiró muchas teorías e hipótesis de la historia de los mexicanos, algunas se confirman y otras se descartan, por ejemplo, la teoría que suponía una alta presencia asiática en nuestro componente genético, estaba equivocada. En el genoma mexicano se ve un alto componente europeo en la región del norte del país, en Sonora, en contraste con la alta proporción del componente indígena en zonas centrales como Guanajuato y costeras como Veracruz y Guerrero, regiones de alta densidad indígena. En el genoma mexicano se cuantificaron las distancias genéticas entre las poblaciones mestizas de Guanajuato, Guerrero, Sonora, Veracruz, Yucatán y Zacatecas, con el grupo zapoteca y las tres poblaciones del HapMap lo que permitió distinguir los estados con mayor componente europeo como Sonora y con mayor componente indígena como Guerrero (**Anónimo 2009, Instituto Nacional de Medicina Genómica**).

Con el análisis de los zapotecos, del estado de Oaxaca, los investigadores han observado que los grupos indígenas tienen diferente origen histórico y distinto comportamiento demográfico como los mayas de la península de Yucatán o los tepehuanos de Durango. Al realizar el análisis de esas poblaciones en contraste con los mestizas de las mismas regiones para hacer correlaciones más profundas se puede observar que los patrones de mestizaje del país coinciden con los registros históricos **(Instituto Nacional de Medicina Genómica)**.

La variabilidad genética entre los seres humanos está en el 0.1 por ciento de su genoma y es justo en ese pequeño margen que los mexicanos tienen hasta un 35 por ciento de variaciones en comparación con otras poblaciones. La falta de información sobre poblaciones mestizas (genéticamente menos homogéneas respecto a las razas estudiadas) e indígenas generó dudas sobre la completa utilidad del HapMap para la población de México y Latinoamérica. Fue así que en el INMEGEN surgió el proyecto de crear el mapa genómico del mexicano. Este trabajo ha tenido como objetivos principales caracterizar la diversidad genética de la población mexicana, mestiza o indígena, y evaluar la posibilidad de que un trabajo así contribuya a nuestros estudios genéticos **(Instituto Nacional de Medicina Genómica)**. Surgió una iniciativa muy importante para analizar ese mínimo porcentaje restante que puede variar de persona en persona y que nos confiere individualidad, conocido como mapa de haplotipos o HapMap **(Anónimo 2009)**.

Al analizar la diversidad genética en la población mexicana se reportan frecuencias de variaciones genéticas muy diferentes de las otras poblaciones del mundo lo cual nos da las características genéticas particulares que se corroboran en el HapMap internacional

donde las poblaciones de África, Europa y Asia se muestran lejanas de la población indígena que se encuentra muy condensada y aislada en un extremo, mientras que los mestizos mexicanos representan toda una franja que une a los europeos e indígenas. Lo que lleva a pensar que los grupos indígenas mexicanos o amerindios son únicos y distintos a cualquier grupo ancestral como el caucásico, el asiático o el africano. También se obtuvieron variaciones genéticas (SNPs) que no se encontraron en las poblaciones del HapMap, son exclusivas de las poblaciones de México **(Anónimo 2009, Instituto Nacional de Medicina Genómica)**.

La parte de componente africano siempre es un tema a discusión, al ser el más ancestral ha habido interés por saber su presencia en las poblaciones y en la de México existen grupos mestizos que se acercan a los africanos, principalmente en los estados de Guerrero y Veracruz **(Anónimo 2009)**. Entre las poblaciones mestizas, la proporción del componente africano es de aproximadamente un 2 por ciento pero en ciertos estados del país como Guerrero y Veracruz hay individuos que tienen alrededor del 15 por ciento. El componente africano en México no llegó a través de los esclavos traídos durante la colonia sino a través de los españoles que tenían una fuerte influencia africana, es decir, está diluido dentro del componente europeo de los Españoles **(Instituto Nacional de Medicina Genómica)**.

El mapeo del genoma del mexicano arrojó varias conclusiones y posibilidades de desarrollo importantes. La primera de ellas, de gran utilidad para futuros análisis y estudios clínicos, es que se puede evidenciar claramente las diferencias genéticas en cada región de México, las cuales coinciden con nuestra historia demográfica: las personas del

norte tienen mayor aportación de genes europeos que las del centro y sur, donde se presenta una mayor proporción de contribución indígena, sin olvidar la existencia de cierto componente africano en Veracruz y Guerrero (sur del país) **(Anónimo 2009)**.

Uno de los aspectos más importantes, es que ahora contamos con un catálogo de diversidad genética que nos permite evaluar, si nuestra población posee las variantes genéticas que pudiera descubrirse que guardan relación con alguna enfermedad y la frecuencia con que se presenta **(Melgar 2009)**. Así, cuando se reporte en otra parte del mundo que se ha comprobado la relación de un gen determinado, por ejemplo, con un tipo de cáncer o problema hormonal, bastará con buscar en el mapa genómico del mexicano si esa porción de información genética existe y cuál es el grado en que nos afecta. Otro hecho importante del estudio fue el hallazgo de ciertas variaciones genéticas en indígenas y mestizos que no se habían observado en los grupos continentales (asiático, europeo o africano) **(Anónimo 2009, Instituto Nacional de Medicina Genómica)**.

Por otra parte, el contar con este mapa genómico representa varios logros para los mexicanos, pues fue construido por nosotros mismos y eso también nos ha permitido montar la tecnología necesaria y formar los recursos humanos que puedan trabajar en las vertientes involucradas, sin olvidar la contribución global que esta información representa para los estudios de genética humana que se realizan tanto por investigadores nacionales como extranjeros. Al ser la primera descripción genética amplia de poblaciones mexicanas mestizas e indígenas, también brinda información relevante de nuestra historia evolutiva. Un aporte más, fue la confirmación a través de cálculos matemáticos de que contar con un mapa genómico de población mexicana es de utilidad en la realización de estudios

clínicos. Latinoamérica tiene experiencia en este tipo de análisis, y esto puede dar pauta a que otros países de la región se unan a éste tipo de iniciativas y se beneficien con los resultados de la investigación.

### **Enfermedades de origen genético**

Cada vez se hace más difícil separar las afecciones de etiología ambiental de aquellas llamadas "genéticas puras". A modo de ejemplo, conviene recordar que para varias enfermedades típicamente ambientales, como infecciones bacterianas, parasitarias, etc., recientemente se ha demostrado una susceptibilidad genética individual. Las enfermedades genéticas corresponden a un grupo heterogéneo de afecciones que en su etiología presentan un componente genético (**Hassan et al. 2003**). Ello puede ser alguna alteración en un solo gen, en varios genes (poligenes) o en muchos genes (cromosomas). La alteración genética puede producir directamente la enfermedad por ejemplo, en el caso de la hemofilia o en otros casos puede interactuar con factores ambientales y formar parte de la predisposición genética en la etiología de enfermedades como la hipertensión arterial. Diversas enfermedades multifactoriales comunes tienden a prevalecer en familias, grupos étnicos y zonas geográficas (**Hassan et al. 2003**). Sin embargo, a pesar de que éstas se transmiten hereditariamente, su transmisión no se ajusta a los patrones Mendelianos de herencia. En la genética Mendeliana, las interacciones entre genes y factores ambientales de riesgo o microorganismos que dan como resultado un determinado fenotipo, son dominadas por los componentes genéticos. La mayor parte de las enfermedades asociadas con genes únicos que muestran patrones Mendelianos de herencia, como la fibrosis quística. En el caso de las enfermedades multifactoriales

comunes, se hereda el riesgo de desarrollar la enfermedad y no la certeza de presentarla **(Hart & Atkinson 2007)**. Para el estudio de la distribución de polimorfismos genéticos, los grupos étnicos seleccionados en el presente estudio, resultan particularmente interesantes. Las comunidades indígenas viven en un aislamiento cultural en una parte por la carencia de vías de acceso y comunicación con poblaciones civilizadas y en otra porque las comunidades tienen la necesidad de protegerse del "ataque de la civilización" que significaría perder su identidad como población indígena. En dichas poblaciones cerradas, la mezcla con otras poblaciones es poco frecuente, también la propagación, y por ende la frecuencia de alelos específicos tiende a concentrarse y sobre-representarse en comparación a poblaciones en las que existe un índice de mezcla más elevado.

### **Significado biológico de las variaciones genéticas**

El hallazgo de que muchas enfermedades y la existencia de diferencias fenotípicas entre individuos llevó a concluir que la diferencia entre un individuo sano y uno portador de una enfermedad se encontraba en la genética del individuo.

El primer polimorfismo detectado fue en grupos sanguíneos ABO en 1900 por Lansteiner. Inicialmente, el estudio de los polimorfismos se limitaba al campo de la inmunogenética, en 1955 con la llegada de la electroforesis se abrió la posibilidad de analizar una mayor cantidad de proteínas. El desarrollo del Southern blot en 1975 hizo posible examinar los polimorfismos genéticos dentro y fuera de las regiones codificadoras **(Southern 1975)**. A finales de la década de 1970 se detectó la primera variante de DNA en Southern blot mediante la restricción de longitud polimórfica (RLFP). Las diferencias se detectaban porque el DNA se ancla a sitios particulares, dependiendo de los polimorfismos

genéticos, permitiendo o evitando que una enzima de restricción reconozca secuencias específicas (4-6 nucleótidos) y se observan patrones diferentes entre individuos (**Botstein et al. 1980**). Estas variaciones físicas entre secuencias de DNA llevaron a concluir la existencia de mutaciones puntuales, sustituciones de un solo nucleótido, inserciones, deleciones y longitudes polimórficas de secuencias repetitivas.

Muchos estudios de secuenciación de DNA comprobaron que existe una diferencia física en el sitio polimórfico (**Bowcock et al. 1991, Kruglyak 1997, Landegren et al. 1988, Saleeba et al. 1992**) y se propuso que los SNPs podrían usarse como marcadores para hacer estudios comparativos en poblaciones humanas, comparando las frecuencias alélicas salud-enfermedad entre poblaciones, búsqueda de genes candidato para mutaciones versus polimorfismos y estudios evolutivos que comparen diversas poblaciones (**Cooper & Clayton 1988, Kwok et al. 1994**).

Los polimorfismos genéticos (SNPs) son variaciones comunes en el DNA de cada individuo. Estas variaciones entre individuos abarcan aproximadamente el 1% de su DNA total y es lo que los hace únicos dentro de una especie. Las variaciones genéticas de tipo SNP pueden afectar la estructura y composición de la proteína para la cual el gen codifica, cuando el nucleótido que se sustituye afecta la información del codón da como resultado la incorporación de un aminoácido diferente. Esto ocurre cuando la variación se localiza en regiones de exones que están sujetas al proceso de traducción, siempre y cuando la sustitución no produzca un codón con diferente secuencia pero con información redundante para el mismo aminoácido (**Takashiba & Naruishi 2006**). Los avances tecnológicos han permitido la comparación y análisis de secuencias de distintos individuos

mediante el marcaje de los SNPs como es de esperarse, los polimorfismos que sí caen dentro de una zona codificadora se han investigado ampliamente debido a que producen alteraciones en las funciones biológicas de una proteína, sin embargo ha sido una gran interrogante el significado de los polimorfismos que caen en las zonas contiguas a los genes. La mayoría de los polimorfismos caen en zonas no codificadoras, dado que sólo del 3 al 5% del DNA codifica para proteínas. En la mayoría de los casos, las variaciones de tipo SNP producen sustituciones en las regiones 5' o 3' no traducidas del gen, en intrones o en regiones cercanas al gen pero fuera de las secuencias codificantes (**Cabrera 2001, Higuchi et al. 1998**). Las variaciones en dichas regiones, no producen cambios en la estructura o composición de la proteína codificada, sino que generalmente influyen sobre los mecanismos que regulan la expresión del gen. De tal manera, que ante estímulos similares, la expresión del gen puede verse aumentada o disminuida cuando se presenta un alelo o genotipo determinado de la variación (**Hart & Kornman 1997**).

Actualmente se cree que la susceptibilidad, el riesgo y la respuesta al tratamiento de las enfermedades difieren entre individuos debido a la presencia de SNPs. En los últimos 30 años se han clonado, secuenciado y analizado una gran cantidad genes con el fin de encontrar los genes responsables de un defecto metabólico que producen una condición patológica con la técnica de clonación funcional (**Collins 1992**). En los siguientes años se desarrolló la técnica de clonación posicional, con la que no era necesario saber la base bioquímica de una enfermedad para encontrar los genes responsables, si no que analiza la función de un gen mediante la creación de mutaciones (SNPs) y evaluando las frecuencias alélicas en familias afectadas (**Lander & Schork 1994**). De manera que los investigadores

se concentraron en evaluar estas diferencias con el fin de hacer mapas genéticos y evaluar los patrones de herencia de los alelos mediante RLFP. De los estudios antes mencionados en los que se analizan secuencias de DNA para encontrar mutaciones, han sido estudiados muchos de ellos. El número de individuos que se requieren para tener una asociación significativa entre un SNP y una condición patológica depende de muchos factores como la frecuencia de la enfermedad, la proporción de pacientes portadores del alelo putativo, la significancia estadística y el poder de la prueba **(McCarthy & Hilfiker 2000)**. A pesar de que estos estudios hicieron que la genética molecular fuera una realidad y dirigió el mapeo de muchas enfermedades mendelianas, la frecuencia de los polimorfismos dentro de los RFLP no es suficiente como para hacer estudios de ligamiento **(Kruglyak 1997)**. Son polimorfismos cuyas frecuencias alélicas son demasiado bajas para tratar de hacer estudios de asociación. No obstante, es clara la necesidad de seguir estudiando las variaciones de tipo SNP en poblaciones homogéneas, para ir desenmascarando los genes más relevantes para el desarrollo de una determinada enfermedad. Las ventajas que ofrecen estos estudios son muchas por ejemplo, establecer ciertos SNPs como marcadores del riesgo a padecer enfermedades y que serán de utilidad en el pronóstico, severidad y extensión de una enfermedad, y representan ventajas en el desarrollo de pruebas de diagnóstico y de terapia individualizada **(Hassan *et al.* 2003, McCarthy & Hilfiker 2000)**.

La idea de que la detección de variaciones genéticas específicas, pudiera servir como una herramienta diagnóstica y predictiva útil en la práctica clínica para el manejo de enfermedades multifactoriales comunes, no es nueva. Una gama relativamente amplia de variaciones en genes que codifican para citocinas inflamatorias han sido propuestas como

marcadores de predisposición y riesgo a diversas enfermedades incluyendo la enfermedad coronaria (**Basso et al. 2002**), la artritis reumatoide (**Buchs et al. 2001, Jouvenne et al. 1999**), el síndrome de Sjögren primario (**Hulkkonen et al. 2001**), la esquizofrenia (**Katila et al. 1999**), la colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn (**Bioque et al. 1996, Bioque et al. 1995, Hacker et al. 1998, Heresbach et al. 1997, Nemetz et al. 1999, Stokkers et al. 1998**), la psoriasis (**Cork et al. 1993**), la enfermedad de Graves (**Blakemore et al. 1995**), el cáncer colorectal (**Landi et al. 2003**), la aterosclerosis (**Jenny et al. 2002**) y el lupus eritematoso (**Blakemore et al. 1994**). Las citocinas representan una familia de proteínas solubles reguladoras que intervienen en el crecimiento, migración, señalización y diferenciación de un gran número de líneas celulares. Dichas proteínas tienen un alto grado de pleotropía y redundancia; es decir, que varias citocinas pueden contribuir al desarrollo de la misma función en un determinado tipo celular y como consecuencia; en ausencia de una determinada citocina, sus funciones pueden ser reemplazadas total o parcialmente por otras. Esta característica complica tanto la separación de sus roles individuales dentro de las respuestas tisulares, como el entendimiento de las implicaciones funcionales de las variaciones en los genes que las codifican y la comprensión del fundamento biológico de las asociaciones que se han establecido entre dichas variaciones y enfermedades específicas en el ser humano (**Hassan et al. 2003**). A la fecha, algunos estudios han comenzado a abordar este problema describiendo interacciones complejas entre una gama relativamente amplia de citocinas y las variaciones genéticas que afectan su expresión (**Knight 2005, Peng et al. 2006, Smeltz et al. 2002**). La distribución de polimorfismos en genes que codifican para citocinas

inflamatorias varía importantemente no sólo entre individuos de diferentes zonas geográficas sino también entre grupos étnicos dentro una misma región (**Hoffmann et al. 2002**). Por lo tanto, las asociaciones de polimorfismos genéticos con diversas enfermedades, reportadas para una población determinada no pueden ser extrapoladas a otras poblaciones con diferentes características genéticas. La información sobre la distribución de frecuencias de polimorfismos que codifican para citocinas inflamatorias en poblaciones sanas es necesaria y de gran importancia para poder investigar y establecer las asociaciones de dichos polimorfismos con enfermedades específicas, en particular cuando dichas asociaciones se analizan utilizando diseños experimentales de casos y controles.

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

México constituye un espectáculo social sumamente diverso que lo hace único y al mismo tiempo proporciona herramientas abundantes para estudiar la población constituida en gran parte por una diversidad de etnias (pueblos indígenas) que habitan en el territorio y que enriquecen de manera importante el patrimonio genético de la población mexicana. Los pueblos indígenas están integrados por más de 12 millones de personas, que constituyen más de la décima parte de la población mexicana (**Comisión Nacional del Desarrollo de Pueblos Indígenas 2006a, Comisión Nacional del Desarrollo de Pueblos Indígenas 2006b**), siendo los que más aportan en recursos humanos, naturales, territoriales y culturales, a pesar de estar entre los más pobres de los mexicanos.

En la actualidad, existe un número significativo y creciente de publicaciones que reportan la distribución de polimorfismos genéticos en diversas poblaciones del mundo, sin embargo, la información publicada sobre la población mexicana y sus diferentes grupos étnicos, continúa siendo limitada.

La comprensión de las diferencias genéticas en nuestro país, nos dará el poder de diseñar herramientas terapéuticas y preventivas específicas para el control de enfermedades en nuestros grupos étnicos y también nos dará la capacidad de comparar nuestra población con otras del mundo. Se trata de poder hacer en poblaciones mexicanas lo que en otras ya ha sido estudiado para establecer con base a investigaciones propias las aplicaciones específicas para nuestra población.

## **OBJETIVOS**

- 1. Describir la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas de las variaciones genéticas IL1A:c.-949C>T (rs1800587), IL1B:c.315C>T (rs1143634), IL1B:c.-583T>C (rs16944), IL1RN:c.215-516(86)[2\_6] (rs2234663), IL6:c.-237C>G (rs1800795), IL8:c.-352A>T (rs4073), IL10:c.-627T>G (rs1800872), IL10:c.-854T>C (rs1800871), IL10:c.-1117A>G (rs1800896), IL12B:c.\*159A>C (rs3212227) y LTA:c.-10+90A>G (rs909253), en sujetos mexicanos mestizos (MES) y de 2 denominaciones indígenas (IND): mazahua (MAZ) y huichol (HUI).
- 2. Evaluar las asociaciones de genotipos individuales de las variaciones genéticas anteriormente descritas con los 3 grupos de estudio.
- 3. Determinar la capacidad de haplotipos complejos para marcar y separar específicamente a los grupos de estudio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

La presente investigación consistió en un estudio de tipo transversal en el que se evaluaron muestras de DNA provenientes de un total de 169 sujetos de estudio mexicanos mestizos (MES,  $n=133$ ) y de 2 denominaciones indígenas (IND): mazahua (MAZ,  $n=21$ ) y huichol (HUI,  $n=15$ ). Los sujetos fueron examinados en una sola visita en la que se realizó una evaluación de su estado de salud general, se registraron los datos clínicos y se recolectó la muestra. Las muestras de DNA fueron genotipificadas mediante RFLP (restriction fragment length polymorphism) y/o secuenciación para determinar la presencia de alelos y genotipos polimórficos de las 11 variaciones genéticas siguientes: IL1A:c.-949C>T (rs1800587), IL1B:c.315C>T (rs1143634), IL1B:c.-583T>C (rs16944), IL1RN:c.215-516(86)[2\_6] (rs2234663), IL6:c.-237C>G (rs1800795), IL8:c.-352A>T (rs4073), IL10:c.-627T>G (rs1800872), IL10:c.-854T>C (rs1800871), IL10:c.-1117A>G (rs1800896), IL12B:c.\*159A>C (rs3212227) y LTA:c.-10+90A>G (rs909253).

### POBLACIÓN DE ESTUDIO Y CRITERIOS DE SELECCIÓN

Los sujetos incluidos en el estudio fueron seleccionados con base a su origen étnico y ascendencia, así como a la ausencia de enfermedades sistémicas, autoinmunes e infecciosas. La población de estudio consistió de un total de 169 sujetos adultos sistémicamente sanos sin relación familiar sanguínea (MES  $n=133$ , IND  $n=36$ ). En la **tabla 1** se describen las características generales de la población de estudio.

En el caso de los individuos MES, todos los sujetos eran residentes del Distrito Federal o el área Metropolitana y eran mexicanos por nacimiento con ascendencia de ambos padres y 4 abuelos nacidos en México. Para los grupos IND, todos los sujetos fueron nacidos dentro de sus respectivas comunidades indígenas y tenían ascendencia de ambos padres y 4 abuelos nacidos dentro de la misma comunidad. Los IND MAZ pertenecían a la comunidad del Municipio de San Felipe del Progreso en el estado de México y los IND HUI a la comunidad de Guadalupe Ocotán del Municipio de La Yesca en el Estado de Nayarit.

Los criterios de exclusión incluyeron relación familiar con otros sujetos de estudio, embarazo y lactancia, así como la presencia de enfermedades sistémicas, autoinmunes e infecciosas incluyendo, entre otras, diabetes, VIH/SIDA, trastornos de la presión arterial, hemofilia, anemia, leucemia, asma, artritis, alergias, enfermedades inflamatorias intestinales y padecimientos cardiovasculares.

El propósito y los procedimientos para el estudio fueron explicados a cada sujeto de estudio quienes recibieron una copia de la forma de consentimiento informado aprobada por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, en la que se delineó explícitamente el protocolo del estudio (**Anexo 1**). Se pidió a cada sujeto que firmara dicha forma, con lo cual estableció su deseo voluntario de participar en el estudio.

## **EVALUACIÓN CLÍNICA**

Se realizó una evaluación clínica general, y se levantó un cuestionario médico y de antecedentes hereditarios a cada sujeto de estudio. Así mismo, se registraron mediciones de estatura, peso, porcentaje de grasa corporal, presión arterial y pulso. Tanto los sujetos MES como aquellos de las diferentes poblaciones IND fueron evaluados por el mismo grupo de clínicos.

## **EVALUACIÓN GENÉTICA**

Se evaluó la presencia de alelos y genotipos polimórficos de las 11 variaciones genéticas que se describen en las **tablas 2a, 2b y 3**, mediante las técnicas que se resumen en las **tablas 4a y 4b**.

### **Recolección y procesamiento de muestras**

Se obtuvo una muestra de DNA de cada sujeto de estudio mediante alguno de los métodos que se describen a continuación:

#### ***Muestras de sangre***

Se recolectaron 3 ml de sangre periférica total en un tubo vacutainer de 6 ml, que contenía 0.4 ml de solución de citrato ácido de dextrosa (ACD). Una alícuota de 200 µl fue procesada inmediatamente para la extracción y purificación de DNA genómico, el resto de la sangre fue almacenada en crioviales a -80°C. La extracción y purificación de DNA se realizó utilizando el kit QIAamp™ DNA Blood Mini (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. La cantidad y calidad del DNA obtenido se midió a partir de 2 µl de cada muestra utilizando el espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, DE, USA). El resto de la muestra de DNA

purificado fue almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento para la identificación de las variaciones genéticas.

### ***Muestras de células epiteliales de mejilla***

En algunos casos, se tomó una muestra de células epiteliales de la mucosa bucal, la cual fue recolectada utilizando hisopos estériles (Whatman, Clifton NJ, USA) y colocada en una tarjeta MiniCard FTA (Whatman) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se permitió que la muestra se seque sobre la tarjeta a temperatura ambiente durante 1 hora. Un disco de 2 mm de diámetro fue tomado de la muestra para la detección de cada una de las 11 variaciones genéticas evaluadas, utilizando un Uni-Core punch estéril (Whatman). Cada disco fue colocado individualmente en un tubo para PCR de 0.2 ml y procesado para la extracción y purificación de DNA genómico siguiendo las instrucciones del fabricante.

### **Detección de variaciones genéticas**

Los alelos y genotipos de cada variación se determinaron mediante reacciones individuales de PCR (polymerase chain reaction) utilizando los métodos que se describen en las **tablas 4a y 4b**. Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 50  $\mu\text{l}$  utilizando  $\approx 150$  ng de DNA genómico purificado, 2.5 unidades de *Taq* DNA polimerasa (Biogénica, México, D.F.), 0.2 mM de mezcla de dNTPs (Biogénica), 1 x *Taq* DNA polimerasa buffer (10 mM Tris-HCl (pH 9.0 a  $25^{\circ}\text{C}$ ), 50 mM KCl (Biogénica), 1.5 mM  $\text{MgCl}_2$  (Biogénica), 0.01% gelatina y 1  $\mu\text{M}$  de cada uno de los primers (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Las reacciones consistieron de una desnaturalización inicial a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 4min, seguida por 35 ciclos de desnaturalización a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 1 min, alineamiento de primers

durante 1 min a las temperaturas que se indican en las **tablas 4a y 4b**, y extensión a 72°C durante 1 min, después de lo cual se realizó una extensión final a 72°C durante 10 min. Todos los primers fueron diseñados con base a las secuencias de referencia de cada gen depositadas en las bases de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Así mismo, cada primer fue alineado *in silico* para comprobar su especificidad, localización y el tamaño del fragmento resultante. Para cada corrida de PCR, se incluyeron controles positivos utilizando DNA de sujetos previamente caracterizados mediante secuenciación como portadores de cada uno de los posibles genotipos de cada variación, y un control negativo sin templete de DNA.

El análisis de los fragmentos se llevó a cabo con 10 µl de los productos de PCR o digestión, dependiendo del caso. Se utilizaron geles de TBE en gradiente del 4 al 20% (Invitrogen), corridos a 200V (10V por cm entre electrodos) como indica el fabricante, en cámaras de electroforesis XCell SureLock™ (NOVEX, Invitrogen). Los geles se tiñeron durante 40 min con SYBR Green I (Molecular Probes, Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) para visualizar las bandas bajo luz ultravioleta (UV Transilluminator 2000, BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA). Se obtuvieron imágenes digitales de todos los geles utilizando el sistema de documentación DigiDoc (BioRad). El análisis del peso molecular de cada banda se realizó mediante la comparación con estándares de pesos moleculares conocidos (Invitrogen) utilizando el programa Quantity One (BioRad).

En el caso de las variaciones que fueron analizadas por secuenciación, la amplificación y verificación de los fragmentos se realizaron como se describió en los párrafos anteriores. La secuenciación de los fragmentos fue realizada en los laboratorios

de QIAGEN Genomic Services (Sequencing services, QIAGEN Str. 1, Hilden, Alemania) y los electroferogramas fueron analizados utilizando el programa Chromas 2.33 (Technelysium Pty Ltd., Tewantin, Australia).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS**

La distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas de las 11 variaciones genéticas evaluadas fue calculada para cada uno de los grupos de estudio mediante conteos directos. Las frecuencias de alelos y genotipos individuales fueron comparadas entre grupos de estudio considerando a cada población IND de manera independiente y en conjunto como un grupo general de IND. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba no-paramétrica  $U$  de Mann-Whitney (MW). Así mismo, se buscaron las asociaciones de alelos y genotipos individuales con los diferentes grupos de estudio utilizando la prueba exacta de Fisher (F) y se estimaron los índices de riesgo mediante la razón de momios (RM) común de Mantel-Haenszel (MH) utilizando intervalos de confianza al 95% (IC95%).

Siguiendo un enfoque multidisciplinario y menos ‘tradicionalista’ de exploración y análisis de la información genética, se diseñó un modelo matemático con el fin de identificar los haplotipos polimórficos que pudieran asociarse con y separar a los grupos de estudio, como se describe a continuación:

Desde una óptica analítica matemática, la cantidad de haplotipos que pueden llegar a producirse considerando los diferentes genotipos de las 11 variaciones evaluadas, rebasa las 354,000 posibilidades. Evidentemente no todas existen en la realidad; sin

embargo, el conjunto de haplotipos presentes, considerando variantes con dos, tres, cuatro, cinco y más genotipos, representa aún un número demasiado elevado de opciones para hacer los análisis factibles. Cuando este problema es atacado mediante la selección inicial de genotipos individuales que muestran una alta correlación con el fenómeno de interés (en este caso, el grupo de estudio) y a partir de ellos iniciar la generación de haplotipos, se corre el riesgo de omitir aquellas combinaciones relevantes en las cuales puede estar presente más de un genotipo con correlaciones individuales poco significativas. Por esta razón, el problema de identificación de haplotipos polimórficos se atacó sin descartar ninguno *a priori*, para tal efecto, se utilizó la técnica estadística conocida como análisis de vínculos<sup>1</sup>.

Para conducir este análisis se conceptualizó al genotipo presente para cada una de las 11 variaciones como el evento a ser vinculado, en este caso, por su portador. Los datos fueron separados en dos conjuntos, uno con la información de MES y otro con la información de IND, los cuales fueron estudiados de manera independiente para que la detección de haplotipos presentes en el grupo de MES o de IND se mantuviera libre de influencias cruzadas. En la búsqueda de asociaciones se contemplaron los casos de haplotipos (combinaciones) con hasta seis genotipos individuales, encontrándose en la práctica que la combinación relevante más extensa sólo fue de cinco, lo cual reveló que

---

<sup>1</sup> En el análisis de vínculos se busca detectar eventos que condicionan o favorecen la existencia de otros. Cuando un evento ocurre con mayor frecuencia ante la presencia de uno o más eventos combinados, se dice que se presenta una regla de asociación entre ellos. Para que la regla de asociación sea relevante, se requiere que se cumplan al menos un par de supuestos: a) que la regla se presente en un número suficiente de casos (soporte de la regla) para descartar que se trata de una singularidad y b) que el evento en cuestión ocurra predominantemente en conjunto con otros eventos y no sólo de forma aislada (confianza de la regla).

combinaciones de siete genotipos o más, si bien parecen atractivas, en realidad sólo representan singularidades.

Los haplotipos detectados para MES e IND fueron analizados en principio para identificar cuáles aparecieron en ambos grupos. Cabe señalar que existieron algunos haplotipos que permitieron marcar a un grupo, y de manera complementaria también al otro. Esto explica porqué fue posible captar ciertos haplotipos en ambos grupos al explorarlos de manera independiente; sin embargo, no puede generalizarse que todo haplotipo será bidireccional debido a los errores condicionales inherentes en la identificación de cada grupo.

Para todos los haplotipos detectados se procedió a calcular su nivel de riesgo mediante la razón de momios, su nivel de separación de Kolmogorov-Smirnov (KS), su potencia de discriminación global (capacidad predictiva) y su habilidad para identificar cada grupo (precisión individual). De manera complementaria a la precisión individual, se obtuvieron los errores tipo I y tipo II asociados. De particular importancia fue la potencia de discriminación global ya que ella nos brindó el valor esperado de aciertos como marcador genético, pero fue también importante que las precisiones individuales estuvieran balanceadas. Por esto, la selección de haplotipos se realizó creando un espacio de clasificación definido por la precisión individual para marcar al grupo IND *versus* la potencia de discriminación global, a saber:  $p(\text{GR}|i=1)$  vs. PG. En este sentido, la función descrita por el producto de dichas variables [ $Z=p(\text{GR}|i=1)PG$ ] es una excelente referencia para ordenar los haplotipos de acuerdo a su habilidad para marcar a la población de interés siendo ésta una medida de cobertura. Los mejores haplotipos en este sentido,

fueron seleccionados en base a su potencia de discriminación global y al buen equilibrio entre las precisiones individuales en cada grupo, es decir, se seleccionaron aquellas reglas que mostraron el mejor compromiso entre ambas variables.

Se consideró entonces al conjunto de haplotipos seleccionados como una plantilla de opciones  $y$ , bajo un modelo aditivo, se consideró  $\delta$  como una variable discreta con dominio  $[0, x]$  que cuantificó las combinaciones de la plantilla presentes en un individuo dado. De esta forma, entre más grande fuera  $\delta$ , mayor certeza se tuvo en la calificación de ese caso como un IND; por otra parte, mientras más pequeño fuera  $\delta$  o inclusive si fuera igual a cero, mayor certeza se tuvo en la calificación de ese caso como un MES. Dicho modelo fue aplicado a toda la población, encontrándose las frecuencias relativas acumuladas. Así mismo, se estableció un punto de corte en  $\delta$  para que actuara como límite en la calificación en un sentido o en el otro. El estadístico  $D_{KS}$  (Kolmogorov-Smirnov) para medir la separación entre las funciones de densidad de probabilidad acumulada o en su defecto entre las frecuencias relativas acumuladas, fue el punto de partida para elegir la región de corte. Se estableció el punto de corte en el nivel donde se lograra el máximo nivel de acierto con el nivel de error más bajo aceptable.

## RESULTADOS

La distribución de 11 variaciones en genes que codifican para citocinas pro y anti inflamatorias fue evaluada y comparada considerando alelos y genotipos individuales, así como haplotipos polimórficos en 169 individuos sistémicamente sanos y sin relación familiar, mexicanos MES e IND de 2 denominaciones.

### **DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS INDIVIDUALES (OBJETIVO 1)**

La distribución de frecuencias de alelos y genotipos individuales para las 11 variaciones estudiadas se sintetiza en la **tabla 5**. Las estadísticas comparativas, de asociación y las estimaciones de riesgo para cada alelo y genotipo individual en las comparaciones MAZ vs. HUI, MAZ vs. MES y HUI vs. MES, se presentan en las **tablas 6a-6c**. Todos los genotipos conocidos de cada una de la variaciones, fueron identificados en uno o más de los grupos de estudio exceptuando aquellos que incluían los alelos IL1RN:c.215-516(86)[3] y IL1RN:c.215-516(86)[6] de la variación de tipo VNTR IL1RN:c.215-516(86)[2\_6].

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos IND (comparación MAZ vs. HUI) para ninguno de los alelos o genotipos individuales. En total, 18 alelos ( $n=8$ ) y/o genotipos ( $n=10$ ) individuales de 7 de las 11 variaciones genéticas evaluadas, mostraron diferencias estadísticamente significativas (prueba  $U$  de Mann-Whitney) en la frecuencia de portadores, cuando se comparó a cada uno de los grupos IND con el grupo de MES (comparaciones MAZ vs. MES y HUI vs. MES, **tablas 6a-6c**). Sin

embargo, únicamente 9 de dichos alelos ( $n=3$ ) y/o genotipos ( $n=6$ ) individuales, presentaron además, asociaciones significativas con alguno de los grupos IND (prueba exacta de Fisher) y mostraron relevancia (razón de momios), así como significancia (prueba de Mantel-Haenszel) para marcar a alguno de los grupos IND del grupo MES.

Los alelos y genotipos individuales que fueron relevantes y significativos tanto en la comparación MAZ vs. MES como en HUI vs. MES, fueron IL8:c.[-352A], LTA:c.[-10+90A], IL8:c.[-352AT], IL10:c.[-627GG], IL10:c.[-854CC] y LTA:c.[-10+90AA]. Únicamente en la comparación MAZ vs. MES, fueron relevantes y significativos los genotipos IL1B:c.[315CC] IL1B:c.[-583[CC], y en la comparación HUI vs. MES el alelo IL10:c.[-1117G]. En ninguna de las comparaciones entre grupos se detectaron diferencias significativas en la frecuencia de alelos o genotipos individuales de las variaciones IL1A:c.-949C>T, IL1RN:c.215-516(86)[2\_6], IL6:c.-237C>G e IL12B:c.\*159A>C.

## **ASOCIACIÓN DE GENOTIPOS INDIVIDUALES (OBJETIVO 2)**

Debido a que no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos IND incluidos en el estudio (MAZ y HUI), y a que cada uno de dichos grupos presentó diferencias significativas en comparación al grupo MES. En los análisis que se describen a continuación los individuos MAZ y HUI fueron incluidos en un solo grupo descrito en el texto como “Indígena” o “IND” ( $n=36$ , **tabla 1**).

En la **figura 1** se presentan las frecuencias genotípicas individuales de las 11 variaciones genéticas evaluadas en los grupos MES e IND. Al analizar los datos considerando a individuos MAZ y HUI dentro de un solo grupo, los genotipos individuales

para los cuales se detectaron diferencias estadísticamente significativas en comparación al grupo de MES, así como asociaciones relevantes con el grupo de IND fueron IL1B:c.[315CC], IL1B:c.[-583CC], IL8:c.[-352AT], IL10:c.[-627GG], IL10:c.[-854CC] y LTA:c.[-10+90AA].

Cabe señalar, que con excepción del genotipo IL1B:c.[-583CC], todos los genotipos individuales que mostraron asociaciones relevantes con el grupo IND, estuvieron también positivamente asociados con los grupos MAZ y HUI en los análisis en los que estos dos grupos fueron evaluados individualmente.

### **EVALUACIÓN DE HAPLOTIPOS COMPLEJOS (OBJETIVO 3)**

Utilizando los métodos descritos en el inciso de análisis estadísticos de datos en la sección de Material y Métodos, se detectaron 324 haplotipos distintivos para el grupo MES y 422 para el grupo IND (**figura 2**). Al analizar dichos haplotipos se determinó que 79 de ellos fueron relevantes para ambos grupos. La **figura 2** representa el universo de los haplotipos que fueron encontrados después de eliminar el efecto de multiplicidad y redundancia.

La **figura 3** ilustra la distribución de los 667 haplotipos detectados, de acuerdo a su habilidad para marcar a la población de interés (IND). Dicha habilidad está representada por el tamaño de las burbujas en el gráfico. Los mejores haplotipos fueron identificados en la región cercana al cuadrante superior derecho debido a que presentaron valores en las abscisas cercanos en magnitud a los valores identificados en las ordenadas. Bajo este

criterio fueron seleccionados 10 haplotipos, los cuales se encuentran marcados dentro de la elipse punteada en la **figura 3**.

En la **figura 4** se presentan los resultados de las estadísticas para cada uno de los 10 haplotipos seleccionados en cuanto a su habilidad para marcar al grupo IND. Las estimaciones de riesgo (razón de momios, RM) para cada haplotipo variaron entre 2.0 y 9.0. Así mismo, el grupo IND presentó un mayor porcentaje de portadores de todos los haplotipos que el grupo MES. Las diferencias en el porcentaje de portadores entre dichos grupos ( $D_{max}$ ) variaron entre 16.7% y 50.0%. Cabe señalar que la composición de los 10 haplotipos seleccionados, incluyó genotipos de 8 de las 11 variaciones genéticas evaluadas incluyendo IL1A:c.[-949CC], IL1B:c.[315CC], IL1RN:c.215-516(86)[4]+[4], IL8:c.[-352AT], IL10:c.[-627TT], IL10:c.[-854TT], IL10:c.[-1117AG] e IL12B:c.[\*159AC]. Ocho de los 10 haplotipos seleccionados estuvieron constituidos por 2 genotipos individuales y 2 haplotipos por 3 genotipos. A pesar de que se encontraron haplotipos relevantes constituidos por cuatro o cinco genotipos individuales, ninguno de ellos cumplió con los criterios establecidos para la selección final.

Interesantemente, el genotipo IL1B:c.[315CC] formó parte de ocho de los 10 haplotipos seleccionados. Debido a que los haplotipos constituidos por 5 o más genotipos individuales representaron, en el mejor de los casos, únicamente marcadores débiles; y a que los haplotipos identificados con cuatro y cinco genotipos individuales no resultaron relevantes para marcar al grupo IND, se consideró que la posibilidad de identificar un porcentaje significativo de individuos portadores de los 10 haplotipos propuestos eran altamente improbable. Por lo tanto, se procedió a explorar la pertinencia de la utilización

de haplotipos aditivos como marcadores genéticos, utilizando un modelo diseñado específicamente para este propósito.

El conjunto de los 10 haplotipos seleccionados, fue considerado como una plantilla de opciones y bajo el modelo aditivo descrito en los textos que anteceden, se tomó  $\delta$  como una variable discreta con dominio  $[0, 10]$ . Al aplicar el modelo aditivo a la población de cada grupo de estudio, se encontraron las frecuencias relativas acumuladas que se describen en la **figura 5**. El punto de corte en  $\delta$  fue establecido en 4 haplotipos (cuadro punteado), un nivel previo a la diferencia máxima entre grupos, con el que se obtuvo el 75.0% de acierto, con un nivel de error de 28.6% y una separación entre grupos de 46.4%. En la **figura 5**, se presenta también de forma gráfica la separación que se produce entre los grupos de estudio MES e IND, la cual fue resultado de la habilidad del modelo aditivo basado en la plantilla de los 10 haplotipos seleccionados para marcar al grupo IND.

La **figura 4** presenta un resumen de las potencias individuales (sensibilidad y especificidad), así como de la potencia global (exactitud) del modelo aditivo propuesto. Se puede observar que la implementación de dicho modelo-aditivo; en el que se considera como marcador la presencia de 4 o más haplotipos de la plantilla de los 10 seleccionados y no alguno de ellos de forma individual, permite contar con un marcador genético para el grupo IND con valores altos de sensibilidad, especificidad y exactitud mayores al 71%, así como con bajos índices de falsos positivos y negativos del 25.0% al 28.6%.

La **figura 4** sintetiza las frecuencias y estadísticas relativas al modelo aditivo identificado como marcador del grupo IND. La diferencia en el porcentaje de portadores

entre el grupo IND y MES fue de 46.4% (MW  $p < 0.001$ ). Se determinó que dicho marcador, se asociaba significativamente con el grupo IND (F  $p < 0.001$ ), y que presentaba una estimación de riesgo significativa de 7.5 (IC95% 3.2-17.4, MH  $p < 0.001$ ). Cabe destacar que el marcador propuesto, presentó mejores valores estadísticos como marcador del grupo IND que cualquiera de los genotipos o alelos individuales.

## DISCUSIÓN

La trascendencia de dichos polimorfismos genéticos radica en que la susceptibilidad a enfermedades parece estar influenciada por este tipo de variantes en el genoma humano (**Hassan et al. 2003**). El rumbo actual de la ciencia dedicada al estudio de variaciones genéticas y su papel en el desarrollo de enfermedades, se dirige hacia optimizar los regímenes de inmunosupresión en base a los perfiles específicos de producción de citocinas presentes en cada paciente (**Hoffmann et al. 2002**) y a descubrir estrategias para modificar de manera selectiva genes candidato que influyen sobre la susceptibilidad a enfermedades comunes, específicamente aquellos genes relacionados con los procesos inflamatorios (**Takashiba & Naruishi 2006**). Lo anterior con el objeto de evitar el rechazo de injertos y trasplantes, así como la presencia y evolución desfavorable de enfermedades inflamatorias, autoinmunes o infecciosas donde se encuentran involucradas citocinas inflamatorias. Sin embargo, dichas metas se han visto obstaculizadas por los siguientes factores:

- El elevado número de variaciones presentes en los genes que codifican para citocinas inflamatorias en el ser humano, actualmente estimado en más de 7 millones (**Hinds et al. 2005**).
- Los complejos y muchas veces redundantes mecanismos mediante los cuales las citocinas inflamatorias influyen sobre la respuesta inmunológica y el desarrollo de diversas enfermedades.

- Las marcadas diferencias en la distribución de frecuencias de polimorfismos en genes que codifican para citocinas inflamatorias en diferentes grupos étnicos y zonas geográficas (**Hoffmann et al. 2002**).
- La dificultad para manejar, analizar e interpretar la gran cantidad de información que se genera en estudios sobre la prevalencia de polimorfismos genéticos y sus asociaciones con diversas enfermedades.

Debido a lo anterior, se carece aún de un entendimiento profundo y globalizado de la distribución de tales variantes genéticas y de sus efectos particulares en diferentes poblaciones del mundo. Por lo tanto, es de gran importancia ampliar la información, no sólo relativa a las asociaciones de polimorfismos con enfermedades específicas, sino también a su distribución en poblaciones sanas de diferentes regiones y grupos étnicos (**Kubistova et al. 2006**).

Para la década de 1990 el uso de las variaciones del DNA para el mapeo de enfermedades monogénicas estaba bien establecido, sin embargo muchas enfermedades comunes parecían ser resultado de la interacción de muchos genes. En estos casos la alteración de un sólo gen puede no ser determinante pero la combinación de ciertas variantes si pueden contribuir al fenotipo de la enfermedad en cuestión. Los factores genéticos podrían ser suficientes para disparar la enfermedad, aunque los factores ambientales y el estilo de vida suelen ser determinantes (**Schafer & Hawkins 1998**). Dichas enfermedades se transmiten hereditariamente, sin embargo, su transmisión no se ajusta a los patrones Mendelianos de herencia. En la genética Mendeliana, las interacciones entre genes y factores ambientales de riesgo o microorganismos que dan como resultado un

determinado fenotipo, son dominadas por los componentes genéticos. Es decir, los genes de susceptibilidad regulan el efecto de los factores ambientales y microorganismos haciendo que los eventos que dan inicio a la enfermedad sean más o menos probables **(Duff 2006)**.

En México existen ciertas variantes que están en la población de mestizos mexicanos e indígenas que no están presentes en otras poblaciones del mundo. Es una proporción muy pequeña en el genoma que le confiere a los mexicanos rasgos genéticos que parecen ser únicos de nuestra población. Estamos hablando de alrededor del 1 por ciento de las primeras 100 mil variables analizadas. Los científicos del INMEGEN analizaron si las variaciones de una misma región genética, vecinas de otra variación en otra región genética, pueden viajar juntas o no en el DNA, a través de generaciones. Por ello, estos cambios están relacionados con el tiempo que tiene una población en el mundo, es decir, con su ancestría. Por ejemplo, en poblaciones de origen africano estas correlaciones matemáticas son bajas, es decir, hay pocas variaciones genéticas que siempre viajen juntas, por el contrario, en los africanos estas variaciones están revueltas, pues a lo largo de miles de generaciones se han combinado genéticamente, por ello son poblaciones muy diversas. En contraste, en las poblaciones mexicanas se observa un comportamiento distinto frente a otras poblaciones. La distribución de polimorfismos en la población parece estar relacionada con sub-regiones específicas y se piensa que dicha diferencia genética es el reflejo de la historia étnica particular **(Kubistova et al. 2006)**. Al respecto, la población mexicana es un modelo de estudio potencial, particularmente útil debido a la

diversidad y número de etnias bien definidas, así como a las características muchas veces contrastantes de las mismas (**Instituto Nacional de Medicina Genómica**).

Se ha publicado que el grupo poblacional de mayor heterocigocidad es el africano y el de menos heterocigocidad es el zapoteco. Las poblaciones mestizas, dependiendo la región, muestran diferentes niveles que van de menor heterocigocidad, en los estados de Guerrero y Veracruz, y el de mayor heterocigocidad es Sonora por su componente indígena reducido. Estos resultados permiten observar, de manera inicial, que esta variabilidad podría ser mayor al 1 por ciento que tenemos hasta ahora. Es importante realizar experimentos dirigidos a buscar este tipo de variabilidad porque se puede identificar la susceptibilidad a enfermedades o determinar las variables genéticas que están detrás de nuestros rasgos y características. De esta información están surgiendo líneas de investigación futura en colaboración con antropólogos para la evaluación del genoma con otro tipo de marcadores genéticos como las variantes de cromosoma “Y” y el DNA mitocondrial, para evaluar linaje materno y paterno en la población mexicana. Finalmente un proyecto de aplicación biomédica nos proporciona datos sobre la historia y la antropología de México revelando la huella genética de nuestra historia y el conocimiento generado es de utilidad en el mundo para hacer estudios genéticos de enfermedades.

Los polimorfismos de tipo SNP (variaciones en un solo nucleótido) tienen 2 posibilidades de presentación definidas en la mayoría de los casos como alelos 1 y 2. La posibilidad definida como alelo 1 (A1), suelen referirse a la ausencia de cambio en el nucleótido específico, es decir, a la presentación considerada como “normal” la cual, rara

vez se asocia con la susceptibilidad y predisposición a enfermedades. En contraste, los nucleótidos definidos como alelo 2 (A2), se refieren a aquellos que presentan una variación en la secuencia típica y son los que generalmente se asocian con enfermedades específicas cuando se trata de polimorfismos funcionales. Para identificar algunos factores genéticos que interactúan con el medio ambiente e investigar los efectos sobre la salud humana, unos investigadores utilizaron una estrategia de bioinformática que acopla la detección de la expresión de factores de transcripción sensibles al medio ambiente con polimorfismos para predecir *locus* genéticos que modulan la respuesta transcripcional en ambientes estresantes. En los estudios de validación in vivo confirmaron que existen vínculos entre las condiciones sociales adversas y el aumento de la transcripción en los genes blanco de GATA1 localizados en tejido neuronal, el sistema inmune y las células cancerosas. La identificación de la activación de  $\beta$ -adrenérgicos de GATA1 como una vía molecular por el cual la adversidad social puede alterar la salud humana de manera selectiva en función del estado genético individual en el gen de IL6 (Cole *et al.* 2009) es un hallazgo interesante para observar el papel de una de las proteínas que evaluamos y que parecía sumamente específica del proceso inflamatorio, sin embargo se constata con la anterior investigación que existen relaciones entre las variaciones y las proteínas que son más complejas de lo que creíamos, además podemos vislumbrar que el medio ambiente es un factor determinante del desarrollo de enfermedades, así como de la diversidad entre los humanos y sin lugar a duda también entre sus poblaciones. Otra enfermedad es la epilepsia la cual afecta aproximadamente a un 3 por ciento de la población general, es una enfermedad compleja donde al menos 11 genes han sido asociados a la epilepsia

humana y 50 genes más se han identificado en modelos animales. Las interacciones de los genes con el medio ambiente pueden hablar de la susceptibilidad a la epilepsia y de la respuesta a los fármacos antiepilépticos. Los pensamientos de Darwin sobre la evolución son relevantes para comprender estas interacciones contribuyendo al desarrollo de los nuevos tratamientos y la prevención de enfermedades crónicas, como la epilepsia (**Scorza et al. 2009**) u otras de similar etiología.

Se ha demostrado que los polimorfismos funcionales en genes que codifican para citocinas inflamatorias y sus receptores, juegan un papel particularmente importante en la patogenia de enfermedades complejas y multifactoriales comunes (**Bidwell et al. 1999, Costeas et al. 2003, Knight 2005, Meenagh et al. 2002, Trejaut et al. 2004**). Considerando por una parte, que la patogenia de las enfermedades inflamatorias e infecciosas involucra una extensa gama de citocinas inflamatorias; y por la otra, la compleja y redundante regulación de las cascadas de producción de dichas citocinas durante los procesos inflamatorios, es improbable que una o dos variaciones genéticas individuales, tengan un efecto representativo de la complejidad de dichos procesos, influyendo cualitativa y/o cuantitativamente sobre los mismos.

La diversidad genética entre poblaciones, razas y grupos étnicos humanos ha sido un tópico de intensa investigación durante las tres últimas décadas. En la actualidad, existe un interés particular por estudiar el papel conjunto de las variaciones genéticas y los factores ambientales de riesgo, en la etiología y susceptibilidad a ciertas enfermedades en diferentes poblaciones (**Hassan et al. 2003**). Se reconoce que la frecuencia de variaciones genéticas, puede diferir significativamente entre poblaciones, zonas geográficas y/o

grupos étnicos (**Hoffmann et al. 2002**). El reconocimiento de las diferencias genéticas entre grupos similares de seres humanos, es importante para poder diseñar y crear mapas de asociación donde se pueda relacionar a las variaciones genéticas con enfermedades que afectan de manera particular a determinadas poblaciones (**Hassan et al. 2003**). Se ha demostrado que incluso dentro de una misma población, las frecuencias alélicas y genotípicas de variaciones, pueden ser notablemente diferentes. La distribución de variaciones en la población parece estar relacionada con sub-regiones específicas y se piensa que dicha diferencia genética es el reflejo de la historia étnica particular (**Kubistova et al. 2006**). En este sentido, es importante señalar que en los textos del presente trabajo, se hace referencia a la población incluida en el estudio indistintamente como “población mexicana” o “población de mestizos mexicanos”. Considerando que todos los sujetos incluidos en el estudio fueron seleccionados con base a que eran mexicanos tanto por nacionalidad como por nacimiento, y que sus padres y por lo menos dos de sus abuelos también lo eran, los términos anteriores no son imprecisos. Sin embargo, cabe destacar que la mayoría de los sujetos incluidos en el estudio eran originarios del Distrito Federal y área Metropolitana. Por lo tanto, a pesar de que es correcto referirse a la población evaluada como una “población mexicana” o “población de mestizos mexicanos”, los alcances del presente estudio, no permiten garantizar que los resultados sean representativos de mestizos mexicanos en todas y cada una de las regiones geográficas del país.

Para el estudio de la distribución de polimorfismos genéticos, los grupos étnicos seleccionados en el presente estudio, resultan particularmente interesantes. Nuestros

resultados, revelan que las poblaciones indígenas estudiadas tienden a presentar frecuencias más altas de los genotipos homocigóticos de A1 (1/1) que el grupo de mestizos, para la mayor parte de los polimorfismos evaluados incluyendo IL-1B+3954 (C>T), IL-1RN Int. 2 (86bp VNTR), IL-1B-511 (C>T), TNF-B+252 (A>G), IL-6-174 (G>C), IL-10-592 (C>A), IL-10-1082 (G>A) e IL-10-819 (C>T). En estudios de asociación con enfermedades, estas poblaciones ya caracterizadas podrían servir como buenos grupos control al ser contrastados con poblaciones en las que se sabe que variaciones específicas de ciertos genes, asociadas con alguna enfermedad en particular, se presentan con mayor frecuencia.

Una de las mayores dificultades que se presentan en la exploración de los datos derivados del estudio de variaciones genéticas y sus asociaciones con enfermedades, es la de vincular la información de múltiples alelos y genotipos de un número extenso de variaciones, asociándolos no sólo con estados patológicos sino también con los posibles efectos funcionales de tales genotipos complejos.

Se calcula que en el genoma humano existen entre 7 y 10 millones de variaciones de tipo SNP de los 3 billones de nucleótidos que contiene (**Hinds et al. 2005**). También se tiene el acceso a métodos eficientes y de bajo costo para la genotipificación de variaciones genéticas de tipo SNP y por lo tanto se ha conducido a la identificación de un número elevado de dichas variaciones en el genoma humano; así como a un vertiginoso desarrollo y publicación de una multitud de métodos para determinar las asociaciones de dichas variaciones con enfermedades específicas. A la fecha, la cantidad y complejidad de los datos generados en este tipo de estudios, ha excedido por mucho a la presentación de

propuestas de modelos de análisis para procesar e interpretar adecuadamente dicha información. Por lo tanto, la mayoría de los estudios continúan utilizando modelos relativamente simples y limitados de análisis de datos, reportando generalmente sólo la frecuencia de portadores de alelos o genotipos de variaciones individuales como fenómenos independientes de otras variaciones en el mismo o en diferentes genes **(Greisenegger et al. 2003, Mohlig et al. 2004, Morahan et al. 2002, Padovani et al. 2000, Rasmussen et al. 2000, Vendrell et al. 2003, Walston et al. 1999)**. A pesar de esto, la tendencia en estudios recientes es reportar alelos o genotipos combinados; sin embargo, los estudios que han llevado esto a cabo, generalmente incluyen únicamente un número muy limitado de variaciones en sus análisis **(Fernandez et al. 2005, Karahan et al. 2005, Nibali et al. 2009, Schulz et al. 2008, Yang et al. 2005)**. La complejidad en los datos generados en este tipo de estudios, obliga a las ciencias biológicas a adoptar estrategias multidisciplinarias de mayor alcance que faciliten el diseño de modelos matemáticos y estadísticos nuevos que sirvan como herramientas útiles, que permitan para procesar, analizar e interpretar con mayor rapidez y eficiencia la información generada. Esto permitirá evaluar e identificar en el corto plazo, la relevancia de marcadores genéticos específicos en la susceptibilidad, desarrollo, pronóstico y tratamiento de enfermedades **(Márquez Piñero 1995)**. En este sentido, el presente estudio describe no sólo la distribución de frecuencias de 11 polimorfismos en genes que codifican para citocinas inflamatorias en grupos de mexicanos mestizos e indígenas sanos, sino que también presenta el diseño y uso de un novedoso modelo matemático diseñado para identificar perfiles genéticos polimórficos que pudieran estar asociados con y/o separar a, grupos

dentro de poblaciones en estudios de tipo caso-control, así como a etnias en estudios poblacionales.

En un artículo publicado en la revista Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) se demuestra que la selección natural sigue operando en los humanos contemporáneos, pudiendo predecir futuros cambios evolutivos para características específicas médicamente significativas y también se pueden hacer predicciones a corto plazo sobre el futuro de nuestra evolución, y sobre rasgos determinados. Aunque con el paso del tiempo los avances en la medicina han mejorado el nivel de vida de los seres humanos, nuestra especie sigue sometida a las fuerzas de la selección natural, por lo que la idea de que la selección natural ha dejado de funcionar en los humanos porque ahora somos mejores al mantener a la gente viva es completamente falsa. Los resultados de la investigación han demostrado, por otra parte, que los humanos evolucionamos al mismo ritmo que otras formas de vida del planeta **(Byarsa et al. 2009)**. 1-5

La genética humana puede contribuir a los estudios de genética poblacional o análisis de migraciones aunque el objetivo es buscar su aplicación en investigación clínica y biomédica **(Márquez Piñero 1995)**. Por ejemplo, en la reducción de costos en investigación, haciendo una selección inteligente de qué variantes genéticas se deben incluir en los estudios clínicos, a su vez puede acelerar el desarrollo de proyectos para entender las bases genéticas de las enfermedades en los mexicanos y a mejorar el análisis de los resultados. Se puede utilizar esto como un mecanismo para dar prioridad o no a ciertas áreas de investigación en nuestro país, porque claramente encontraremos cuáles son nuestros problemas genéticos. Tenemos razones para celebrar: la obtención del mapa

genético de la población mexicana el cual permitirá el desarrollo de tratamientos médicos preventivos y terapéuticos más individualizados ya que se basarán en las variaciones genéticas que nos hacen propensos a enfermedades. Los resultados obtenidos serán ampliamente satisfactorios y todavía se enriquecerán en el corto y mediano plazo **(Instituto Nacional de Medicina Genómica)**.

El acceso a marcadores genéticos específicos de poblaciones humanas puso en conjunción dos tipos de componentes poblacionales, el étnico y el genético. La obtención del mapa genómico de la población mexicana ha reiniciado el debate en algunos sectores de la sociedad respecto al mal uso que pudiera hacerse de análisis genéticos personalizados, por ejemplo, al contratar algún seguro, buscar un empleo o solicitar la inscripción de un alumno en alguna escuela, es decir que, la información genética obtenida sea usada para fines políticos o de discriminación e inclusive que se promueva el racismo, el debate se inicia al observar los prejuicios más que la utilidad o el beneficio que puede acarrearle a nuestra población. Definitivamente, se teme a la discriminación, estigmatización y mal uso de la información genética **(Chomali *et al.* 1999, Sabatti 2003, Varmus 2003, Yañez Pareja 1997)**.

El acceso a información proveniente de sistemas genéticos genera una serie de interrogantes éticos y la posibilidad de enfrentamos al riesgo de la utilización de este tipo de información en la racionalización de prejuicios étnicos o raciales. El análisis genético relacionado con enfermedades es delicado y se discute en todo el mundo para sopesar los beneficios y las potenciales implicaciones negativas. Sin embargo, la correspondencia

entre la ética y la genética, debido a la historia particular de contactos interétnicos y mezcla génica entre las poblaciones humanas, cada día se confunde más.

## **CONCLUSIONES**

De acuerdo con los resultados de los análisis estadísticos realizados, se presentan las conclusiones que atañen de manera particular a cada uno de los objetivos del presente estudio.

### **DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS INDIVIDUALES (OBJETIVO 1)**

Todos los genotipos conocidos de cada una de la variaciones, fueron identificados en uno o más de los grupos de estudio exceptuando aquellos que incluían 2 alelos de la variación de tipo VNTR IL1RN:c.215-516(86)[2\_6].

Mientras que se pudieron detectar alelos y genotipos individuales que fueron relevantes y significativos tanto para la comparación MAZ vs. MES como en la de HUI vs. MES, también se encontraron comparaciones que fueron exclusivas de MAZ vs. MES y HUI vs. MES, por otro lado se presentan comparaciones entre los grupos donde no se detectaron diferencias significativas para 3 de las variaciones estudiadas.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos IND (comparación MAZ vs. HUI) para ninguno de los alelos o genotipos individuales por lo que ambos se incluyeron en un solo grupo IND.

### **ASOCIACIÓN DE GENOTIPOS INDIVIDUALES (OBJETIVO 2)**

Al analizar los datos considerando a individuos MAZ y HUI dentro de un solo grupo, se localizaron genotipos individuales para los cuales se detectaron diferencias

estadísticamente significativas en comparación al grupo de MES, así como asociaciones relevantes con el grupo de IND.

A excepción del genotipo IL1B:c.[-583CC], todos los genotipos individuales que mostraron asociaciones relevantes con el grupo IND, estuvieron también positivamente asociados con los grupos MAZ y HUI cuando los grupos fueron evaluados individualmente.

### **EVALUACIÓN DE HAPLOTIPOS COMPLEJOS (OBJETIVO 3)**

Utilizando el modelo estadístico antes descrito, se detectaron 324 haplotipos distintivos para el grupo MES y 422 para el grupo IND. Al analizar dichos haplotipos se determinó que 79 de ellos fueron relevantes para ambos grupos y únicamente 10 haplotipos fueron seleccionados como marcadores del grupo IND

Ocho de los 10 haplotipos seleccionados estuvieron constituidos por 2 genotipos individuales y 2 haplotipos por 3 genotipos. A pesar de que se encontraron haplotipos constituidos por cuatro o cinco genotipos individuales, ninguno resultó relevante para marcar al grupo IND.

Al explorar la pertinencia de la utilización de haplotipos aditivos como marcadores genéticos utilizando un modelo diseñado específicamente para este propósito se encontraron 4 haplotipos con la habilidad para marcar al grupo IND, lo que nos permite asegurar que contamos con un marcador genético para el grupo IND altamente eficiente.

### **CONCLUSIÓN FINAL-APLICACIONES**

La determinación de las distribuciones de frecuencias alélicas y genotípicas de variaciones genéticas en diferentes poblaciones del mundo, así como en diversos grupos

raciales y étnicos dentro de regiones geográficas particulares, es especialmente importante para garantizar una correcta interpretación de los resultados de estudios en los que se buscan asociaciones entre dichas variaciones y procesos patológicos específicos.

La comprensión de las diferencias genéticas en nuestro país, nos dará el poder de diseñar herramientas terapéuticas y preventivas específicas para el control de enfermedades en nuestros grupos étnicos y también nos dará la capacidad de comparar nuestra población con otras del mundo.

Por otra parte, el modelo matemático y estadístico aquí descrito, desarrollado para identificar y evaluar haplotipos aditivos complejos, permitió identificar un perfil genético polimórfico característico de las poblaciones indígenas. Dicho perfil, representa una forma novedosa y dinámica de conceptualizar a los marcadores genéticos de susceptibilidad y riesgo a enfermedades, al permitir la discriminación y asociación con una determinada población, permitiendo la separación genética entre grupos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aminkeng F, Van Autreve JE, Koeleman BP, *et al.* TNFa microsatellite polymorphism modulates the risk of type 1 diabetes in the Belgian population, independent of HLA-DQ. *Hum Immunol* **2007**; 68(8): 690-697.
- Anónimo. Podrán diagnosticar y tratar obesidad, diabetes, hipertensión y cáncer. *Crónica* **2009**; 11: 11/12.
- Arisawa T, Tahara T, Shibata T, *et al.* The influence of polymorphisms of interleukin-17A and interleukin-17F genes on the susceptibility to ulcerative colitis. *J Clin Immunol* **2008**; 28(1): 44-49.
- Aubert-Marson D. [Sir Francis Galton: the father of eugenics]. *Med Sci (Paris)* **2009**; 25(6-7): 641-645.
- Bagnoli S, Cellini E, Tedde A, *et al.* Association of IL10 promoter polymorphism in Italian Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **2007**; 418(3): 262-265.
- Bai J, Lin M, Zeng X, *et al.* Association of polymorphisms in the human IFN-gamma and IL-4 gene with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese cohort. *J Interferon Cytokine Res* **2008**; 28(6): 351-358.
- Baran W, Szepietowski JC, Mazur G, Baran E. TGF-beta(1) gene polymorphism in psoriasis vulgaris. *Cytokine* **2007**; 38(1): 8-11.
- Basso F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE. Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2002**; 22(4): 599-604.
- Bidwell J, Keen L, Gallagher G, *et al.* Cytokine gene polymorphism in human disease: on-line databases. *Genes Immun* **1999**; 1(1): 3-19.
- Bioque G, Bouma G, Crusius JB, *et al.* Evidence of genetic heterogeneity in IBD: 1. The interleukin-1 receptor antagonist in the predisposition to suffer from ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **1996**; 8(2): 105-110.

- Bioque G, Crusius JB, Koutroubakis I, *et al.* Allelic polymorphism in IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* **1995**; 102(2): 379-383.
- Blakemore AI, Tarlow JK, Cork MJ, Gordon C, Emery P, Duff GW. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **1994**; 37(9): 1380-1385.
- Blakemore AI, Watson PF, Weetman AP, Duff GW. Association of Graves' disease with an allele of the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Clin Endocrinol Metab* **1995**; 80(1): 111-115.
- Bonilla C, Gutierrez G, Parra EJ, Kline C, Shriver MD. Admixture analysis of a rural population of the state of Guerrero, Mexico. *Am J Phys Anthropol* **2005**; 128(4): 861-869.
- Bossu P, Ciaramella A, Moro ML, *et al.* Interleukin 18 gene polymorphisms predict risk and outcome of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **2007**; 78(8): 807-811.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* **1980**; 32(3): 314-331.
- Bowcock AM, Kidd JR, Mountain JL, *et al.* Drift, admixture, and selection in human evolution: a study with DNA polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1991**; 88(3): 839-843.
- Buchs N, di Giovine FS, Silvestri T, Vannier E, Duff GW, Miossec P. IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels. *Genes Immun* **2001**; 2(4): 222-228.
- Bustamante M, Nogues X, Mellibovsky L, *et al.* Polymorphisms in the interleukin-6 receptor gene are associated with bone mineral density and body mass index in Spanish postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* **2007**; 157(5): 677-684.
- Byarsa SG, Ewbank D, Govindarajuc DR, Stearnsa SC. *Natural selection in a contemporary human population* **2009**.  
<http://www.pnas.org/content/early/2009/10/23/0906199106.full.pdf+html>.
- Cabrera JL. *Biología molecular e ingeniería genética* **2001**, ed. 1, Alcalá de Henares. Madrid.,
- Celik Y, Dagli U, Kilic MY, *et al.* Cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* **2006**; 41(5): 559-565.

- Cimaz R, Cazalis MA, Reynaud C, *et al.* IL1 and TNF gene polymorphisms in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with TNF inhibitors. *Ann Rheum Dis* **2007**; 66(7): 900-904.
- Clarke R, Xu P, Bennett D, *et al.* Lymphotoxin-alpha gene and risk of myocardial infarction in 6,928 cases and 2,712 controls in the ISIS case-control study. *PLoS Genet* **2006**; 2(7): e107.
- Cole SW, Arevalo JMG, Takahashi R, *et al.* Computational identification of gene-social environment interaction at the human IL6 locus **2009**.  
<http://www.pnas.org/content/early/2010/02/17/0911515107.full.pdf>.
- Collins FS. Positional cloning: let's not call it reverse anymore. *Nat Genet* **1992**; 1(1): 3-6.
- Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science* **2003**; 300(5617): 286-290.
- Comisión Nacional del Desarrollo de Pueblos Indígenas. *Los pueblos Indígenas de México: Huicholes* **2006a**.  
[http://cdi.gob.mx/index.php?id\\_seccion=289](http://cdi.gob.mx/index.php?id_seccion=289).
- Comisión Nacional del Desarrollo de Pueblos Indígenas. *Los pueblos Indígenas de México: Otomías del Valle del Mezquital - Hñä hñu*. **2006b**.  
[http://cdi.gob.mx/index.php?id\\_seccion=327](http://cdi.gob.mx/index.php?id_seccion=327).
- Cook-Deegan R. Origins of the Human Genome Project. *Risk Journal* **1994**;
- Cooper DN, Clayton JF. DNA polymorphism and the study of disease associations. *Hum Genet* **1988**; 78(4): 299-312.
- Corbett EL, Mozzato-Chamay N, Butterworth AE, *et al.* Polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter may predispose to severe silicosis in black South African miners. *Am J Respir Crit Care Med* **2002**; 165(5): 690-693.
- Cork MJ, Tarlow JK, Blakemore AI, *et al.* Psoriasis and interleukin-1. A translation. *J R Coll Physicians Lond* **1993**; 27(4): 366.
- Costeas PA, Koumas L, Koumouli A, Kyriakou-Giantsiou A, Papaloizou A. Cytokine polymorphism frequencies in the Greek Cypriot population. *Eur J Immunogenet* **2003**; 30(5): 341-343.

- Cucchiara S, Latiano A, Palmieri O, *et al.* Polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha but not MDR1 influence response to medical therapy in pediatric-onset inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **2007**; 44(2): 171-179.
- Chomali F, Madrid R, Repetto G, *et al.* Proyecto Genoma Humano. Presente y perspectivas futuras. Consideraciones biológicas, médicas, filosóficas, jurídicas y éticas. *Rev Humanitas* **1999**; 15: 1-32.
- De Ojeda J, Erdozain JG, Ruiz Zambrana A, Gaytan de Ayala L. *Clonación y células madre* **2008**.  
<http://www.embrios.org/celula/celula.htm>.
- Deja G, Jarosz-Chobot P, Polanska J, Siekiera U, Malecka-Tendera E. Is the association between TNF-alpha-308 A allele and DMT1 independent of HLA-DRB1, DQB1 alleles? *Mediators Inflamm* **2006**; 2006(4): 19724.
- Del Arco J. *La era de la neurofilosofía* **2008**.  
[http://www.filosofia.mx/index.php?/forolibre/archivos/la\\_era\\_de\\_la\\_neurofilosofia/](http://www.filosofia.mx/index.php?/forolibre/archivos/la_era_de_la_neurofilosofia/).
- Duff GW. Evidence for genetic variation as a factor in maintaining health. *Am J Clin Nutr* **2006**; 83(2): 431S-435S.
- Fassmann A, Holla LI, Buckova D, Vasku A, Znojil V, Vanek J. Polymorphisms in the +252(A/G) lymphotoxin-alpha and the -308(A/G) tumor necrosis factor-alpha genes and susceptibility to chronic periodontitis in a Czech population. *J Periodontal Res* **2003**; 38(4): 394-399.
- Fei BY, Lv HX, Yang JM, Ye ZY. Association of MIF-173 gene polymorphism with inflammatory bowel disease in Chinese Han population. *Cytokine* **2008**; 41(1): 44-47.
- Fernandez L, Martinez A, Mendoza JL, *et al.* Interleukin-10 polymorphisms in Spanish patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* **2005**; 11(8): 739-743.
- Furuta M, Yano Y, Ito K, *et al.* Relationship of the tumor necrosis factor-alpha -308 A/G promoter polymorphism with insulin sensitivity and abdominal fat distribution in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* **2002**; 56(2): 141-145.
- Garcia-Ita RE. Los árabes de México. Asimilación y herencia cultural. *CONfines* **2005**; 1: 107-109.
- Gellner E. *Naciones y nacionalismo* **1988**.  
<http://www.scribd.com/doc/8789839/Ernest-Gellner-Naciones-y-Nacionalismo>.

- Gomez LM, Ruiz-Narvaez EA, Pineda-Tamayo R, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. TNF microsatellites polymorphism is associated with rheumatoid arthritis. Confirming evidence in northwestern Colombians. *Clin Exp Rheumatol* **2007**; 25(3): 443-448.
- Goseki-Sone M, Sogabe N, Fukushi-Irie M, *et al.* Functional analysis of the single nucleotide polymorphism (787T>C) in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene associated with BMD. *J Bone Miner Res* **2005**; 20(5): 773-782.
- Greisenegger S, Endler G, Haering D, *et al.* The (-174) G/C polymorphism in the interleukin-6 gene is associated with the severity of acute cerebrovascular events. *Thromb Res* **2003**; 110(4): 181-186.
- Griffiths AJF. *Genética moderna* **2004**, ed. 1, Mc Graw-Hill Interamericana, 676pp.
- Guibernau M. *Los nacionalismos* **1996**.  
<http://www.aceprensa.com/articulos/1997/apr/30/los-nacionalismos/>.
- Hacker UT, Bidlingmaier C, Gomolka M, *et al.* Inflammatory bowel disease: no association between allele combinations of the interleukin (IL) I beta and IL-I receptor antagonist gene polymorphisms. *Eur J Clin Invest* **1998**; 28(3): 214-219.
- Harada M, Nakashima K, Hirota T, *et al.* Functional polymorphism in the suppressor of cytokine signaling 1 gene associated with adult asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* **2007**; 36(4): 491-496.
- Hart TC, Atkinson JC. Mendelian forms of periodontitis. *Periodontol 2000* **2007**; 45: 95-112.
- Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000* **1997**; 14: 202-215.
- Hassan MI, Aschner Y, Manning CH, Xu J, Aschner JL. Racial differences in selected cytokine allelic and genotypic frequencies among healthy, pregnant women in North Carolina. *Cytokine* **2003**; 21(1): 10-16.
- Heresbach D, Alizadeh M, Dabadie A, *et al.* Significance of interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist genetic polymorphism in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* **1997**; 92(7): 1164-1169.
- Higuchi T, Seki N, Kamizono S, *et al.* Polymorphism of the 5'-flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene in Japanese. *Tissue Antigens* **1998**; 51(6): 605-612.

- Hinds DA, Stuve LL, Nilsen GB, *et al.* Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations. *Science* **2005**; 307(5712): 1072-1079.
- Hobsbawm EJ. *Naciones y nacionalismo desde 1780* **1992**.  
<http://www.lecturalia.com/libro/36933/naciones-y-nacionalismos-desde-1780>.
- Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, *et al.* Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am J Transplant* **2002**; 2(6): 560-567.
- Hosseini-Farahabadi S, Tavakkol-Afshari J, Rafatpanah H, Farid Hosseini R, Khaje Daluei M. Association between the polymorphisms of IL-4 gene promoter (-590C>T), IL-13 coding region (R130Q) and IL-16 gene promoter (-295T>C) and allergic asthma. *Iran J Allergy Asthma Immunol* **2007**; 6(1): 9-14.
- Hulkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A, Hurme M. Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology (Oxford)* **2001**; 40(6): 656-661.
- Huynh-Ba G, Lang NP, Tonetti MS, Salvi GE. The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. *J Clin Periodontol* **2007**; 34(4): 305-317.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Los extranjeros en México. *INEGI* **2007**.
- Instituto Nacional de Medicina Genómica. *Proyecto del genoma humano* **2009**.  
[http://www.inmegen.gob.mx/index.php?option=com\\_content&task=view&id=88&Itemid=140](http://www.inmegen.gob.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=88&Itemid=140).
- Jenny NS, Tracy RP, Ogg MS, *et al.* In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G>C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2002**; 22(12): 2066-2071.
- Jouvenne P, Chaudhary A, Buchs N, Giovine FS, Duff GW, Miossec P. Possible genetic association between interleukin-1alpha gene polymorphism and the severity of chronic polyarthritis. *Eur Cytokine Netw* **1999**; 10(1): 33-36.
- Karahan ZC, Deda G, Sipahi T, Elhan AH, Akar N. TNF-alpha -308G/A and IL-6 -174 G/C polymorphisms in the Turkish pediatric stroke patients. *Thromb Res* **2005**; 115(5): 393-398.

- Katila H, Hanninen K, Hurme M. Polymorphisms of the interleukin-1 gene complex in schizophrenia. *Mol Psychiatry* **1999**; 4(2): 179-181.
- Kim JG, Lim KS, Ku SY, Kim SH, Choi YM, Moon SY. Relations between interleukin-1, its receptor antagonist gene polymorphism, and bone mineral density in postmenopausal Korean women. *J Bone Miner Metab* **2006**; 24(1): 53-57.
- Kim YK, Pyo CW, Choi HB, Kim SY, Kim TY, Kim TG. Associations of IL-2 and IL-4 gene polymorphisms with psoriasis in the Korean population. *J Dermatol Sci* **2007**; 48(2): 133-139.
- Knight JC. Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. *J Mol Med* **2005**; 83(2): 97-109.
- Koch W, Hoppmann P, Mueller JC, Schomig A, Kastrati A. Association of transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms with myocardial infarction in patients with angiographically proven coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2006**; 26(5): 1114-1119.
- Koivisto AM, Helisalmi S, Pihlajamaki J, *et al.* Interleukin-6 promoter polymorphism and late-onset Alzheimer's disease in the Finnish population. *J Neurogenet* **2005**; 19(3-4): 155-161.
- Koonin EV, Wolf YI. Is evolution Darwinian or/and Lamarckian? *Biol Direct* **2009**; 4: 42.
- Kruglyak L. The use of a genetic map of biallelic markers in linkage studies. *Nat Genet* **1997**; 17(1): 21-24.
- Kubistova Z, Mrazek F, Tudos Z, *et al.* Distribution of 22 cytokine gene polymorphisms in the healthy Czech population. *Int J Immunogenet* **2006**; 33(4): 261-267.
- Kwok PY, Carlson C, Yager TD, Ankener W, Nickerson DA. Comparative analysis of human DNA variations by fluorescence-based sequencing of PCR products. *Genomics* **1994**; 23(1): 138-144.
- Landegren U, Kaiser R, Caskey CT, Hood L. DNA diagnostics--molecular techniques and automation. *Science* **1988**; 242(4876): 229-237.
- Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* **1994**; 265(5181): 2037-2048.
- Landi S, Moreno V, Gioia-Patricola L, *et al.* Association of common polymorphisms in inflammatory genes interleukin (IL)6, IL8, tumor necrosis factor alpha, NFKB1, and peroxisome

proliferator-activated receptor gamma with colorectal cancer. *Cancer Res* **2003**; 63(13): 3560-3566.

Lewin B. *Genes VIII* **2004**, ed. 8, Oxford University Press.

Li C, Wang G, Gao Y, Liu L, Gao T. TNF-alpha gene promoter -238G>A and -308G>A polymorphisms alter risk of psoriasis vulgaris: a meta-analysis. *J Invest Dermatol* **2007**; 127(8): 1886-1892.

Márquez Piñero R. *Perspectivas penales del desarrollo de la ingeniería genética* **1995**.

<http://www.juridicas.unam.mx/publica/librev/rev/derhum/cont/57/pr/pr31.pdf>.

Marsh DE. The origins of diversity: Darwin's conditions and epigenetic variations. *Nutr Health* **2007**; 19(1-2): 103-132.

Masters RD. Historical change and evolutionary theory. *Politics Life Sci* **2007**; 26(2): 46-74.

McCarthy JJ, Hilfiker R. The use of single-nucleotide polymorphism maps in pharmacogenomics. *Nat Biotechnol* **2000**; 18(5): 505-508.

Meenagh A, Williams F, Ross OA, *et al*. Frequency of cytokine polymorphisms in populations from western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America. *Hum Immunol* **2002**; 63(11): 1055-1061.

Melgar I. Mapa del genoma abre era en investigación médica. *Excelsior* **2009**.

Mohlig M, Boeing H, Spranger J, *et al*. Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**; 89(4): 1885-1890.

Morahan G, Huang D, Wu M, *et al*. Association of IL12B promoter polymorphism with severity of atopic and non-atopic asthma in children. *Lancet* **2002**; 360(9331): 455-459.

Moreira PR, Costa JE, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO. The IL1A (-889) gene polymorphism is associated with chronic periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *J Periodontal Res* **2007a**; 42(1): 23-30.

Moreira PR, Lima PM, Sathler KO, *et al*. Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol* **2007b**; 148(1): 119-126.

- Nemec P, Pavkova-Goldbergova M, Stouracova M, Vasku A, Soucek M, Gatterova J. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter is associated with severity of rheumatoid arthritis in the Czech population. *Clin Rheumatol* **2008**; 27(1): 59-65.
- Nemetz A, Nosti-Escanilla MP, Molnar T, *et al.* IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. *Immunogenetics* **1999**; 49(6): 527-531.
- Nibali L, D'Aiuto F, Donos N, *et al.* Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine* **2009**; 45(1): 50-54.
- Padovani JC, Pazin-Filho A, Simoes MV, Marin-Neto JA, Zago MA, Franco RF. Gene polymorphisms in the TNF locus and the risk of myocardial infarction. *Thromb Res* **2000**; 100(4): 263-269.
- Palma-Mora M. Asociaciones de inmigrantes extranjeros en la Ciudad de México. Una mirada a finales del siglo XX. *Migraciones Internacionales* **2005**; 3(2): 29-57.
- Pawlik A, Kaminski M, Kusnierczyk P, *et al.* Interleukin-18 promoter polymorphism in patients with atopic asthma. *Tissue Antigens* **2007**; 70(4): 314-318.
- Peng JC, Abu Bakar S, Richardson MM, *et al.* IL10 and IL12B polymorphisms each influence IL-12p70 secretion by dendritic cells in response to LPS. *Immunol Cell Biol* **2006**; 84(2): 227-232.
- Qi L, Rifai N, Hu FB. Interleukin-6 receptor gene variations, plasma interleukin-6 levels, and type 2 diabetes in U.S. Women. *Diabetes* **2007**; 56(12): 3075-3081.
- Rasmussen SK, Urhammer SA, Jensen JN, Hansen T, Borch-Johnsen K, Pedersen O. The -238 and -308 G-->A polymorphisms of the tumor necrosis factor alpha gene promoter are not associated with features of the insulin resistance syndrome or altered birth weight in Danish Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**; 85(4): 1731-1734.
- Reich K, Huffmeier U, Konig IR, *et al.* TNF polymorphisms in psoriasis: association of psoriatic arthritis with the promoter polymorphism TNF\*-857 independent of the PSORS1 risk allele. *Arthritis Rheum* **2007**; 56(6): 2056-2064.
- Sabatti NFC. The Human Phenome Project. *Nature Genetics* **2003**; 34: 15-21.
- Saleeba JA, Ramus SJ, Cotton RG. Complete mutation detection using unlabeled chemical cleavage. *Hum Mutat* **1992**; 1(1): 63-69.

- Santos M, Morizon G. *Enfermedades genéticas en el RN: enfoque clínico* **2000**, ed. 2, Chile, Fac. Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, 120pp.
- Sbarsi I, Falcone C, Boiocchi C, *et al.* Inflammation and atherosclerosis: the role of TNF and TNF receptors polymorphisms in coronary artery disease. *Int J Immunopathol Pharmacol* **2007**; 20(1): 145-154.
- Scorza FA, Terra VC, Scorza CA, Arida RM, Cavalheiro EA. Epilepsy research 150 years after Darwin's theory of evolution. *Arq Neuropsiquiatr* **2009**; 67(4): 1114-1116.
- Schafer AJ, Hawkins JR. DNA variation and the future of human genetics. *Nat Biotechnol* **1998**; 16(1): 33-39.
- Schulz S, Machulla HK, Altermann W, *et al.* Genetic markers of tumour necrosis factor alpha in aggressive and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **2008**; 35(6): 493-500.
- Shields SA, Bhatia S. Darwin on race, gender, and culture. *Am Psychol* **2009**; 64(2): 111-119.
- Sie MP, Sayed-Tabatabaei FA, Oei HH, *et al.* Interleukin 6 -174 g/c promoter polymorphism and risk of coronary heart disease: results from the rotterdam study and a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2006**; 26(1): 212-217.
- Smeltz RB, Chen J, Ehrhardt R, Shevach EM. Role of IFN-gamma in Th1 differentiation: IFN-gamma regulates IL-18R alpha expression by preventing the negative effects of IL-4 and by inducing/maintaining IL-12 receptor beta 2 expression. *J Immunol* **2002**; 168(12): 6165-6172.
- Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* **1975**; 98(3): 503-517.
- Stokkers PC, van Aken BE, Basoski N, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ. Five genetic markers in the interleukin 1 family in relation to inflammatory bowel disease. *Gut* **1998**; 43(1): 33-39.
- Stringer C. Modern human origins: progress and prospects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **2002**; 357(1420): 563-579.
- Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu H, Bagci H. Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *J Periodontol* **2007**; 78(3): 493-497.

- Takashiba S, Naruishi K. Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000 **2006**; 40: 94-106.
- Trejaut JA, Tsai ZU, Lee HL, Chen ZX, Lin M. Cytokine gene polymorphisms in Taiwan. *Tissue Antigens* **2004**; 64(4): 492-499.
- Um JY, Kim HM. Frequencies of the tumor necrosis factor gene polymorphisms in the Korean population. *Hereditas* **2003**; 139(3): 184-188.
- van Oijen M, Arp PP, de Jong FJ, *et al.* Polymorphisms in the interleukin 6 and transforming growth factor beta1 gene and risk of dementia. The Rotterdam Study. *Neurosci Lett* **2006**; 402(1-2): 113-117.
- Varmus H. Genomic empowerment: the importance of public databases. *Nature Genetics* **2003**; 35(3).
- Vázquez-Contreras E. *Bioquímica y biología molecular en línea* **2003**.  
<http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/descubrimiento%20dna.html>.
- Vendrell J, Fernandez-Real JM, Gutierrez C, *et al.* A polymorphism in the promoter of the tumor necrosis factor-alpha gene (-308) is associated with coronary heart disease in type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis* **2003**; 167(2): 257-264.
- Walston J, Seibert M, Yen CJ, Cheskin LJ, Andersen RE. Tumor necrosis factor-alpha-238 and -308 polymorphisms do not associated with traits related to obesity and insulin resistance. *Diabetes* **1999**; 48(10): 2096-2098.
- Watson JD, Crick FHC. Genetic implications of the structure of Deoxyribonucleid Acid. *Nature* **1953a**; 171: 964-967.
- Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **1953b**; 171: 737-738.
- Yang IA, Holz O, Jorres RA, *et al.* Association of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms and ozone-induced change in lung function. *Am J Respir Crit Care Med* **2005**; 171(2): 171-176.
- Yañez Pareja E. *Introducción a los Proyectos Genoma. Proyecto de Diversidad del Genoma Humano* **1997**.  
<http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/genoma-5.html>.

You CG, Li JF, Xie XD, Zhu Y, Li PQ, Chen YR. Association of interleukin-1 genetic polymorphisms with the risk of rheumatoid arthritis in Chinese population. *Clin Chem Lab Med* **2007**; 45(8): 968-971.

Zhang H, Zhang Q, Wang L, *et al.* Association of IL4R gene polymorphisms with asthma in Chinese populations. *Hum Mutat* **2007**; 28(10): 1046.

Zhou Q, Wang W. On the origin and evolution of new genes--a genomic and experimental perspective. *J Genet Genomics* **2008**; 35(11): 639-648.

## TABLAS

**Tabla 1.** Características generales de la población de estudio ( $n=169$ ).

	Mestizo ( $n=133$ )			Indígena* ( $n=36$ )			Mazahua ( $n=21$ )			Huichol ( $n=15$ )		
	Media	DE†	Rango	Media	DE†	Rango	Media	DE†	Rango	Media	DE†	Rango
Edad (años)	33.5	12.2	18-75	40.9	13.3	21-73	39.9	11.0	22-73	42.4	16.4	21-72
Género (% de mujeres)	57.1			77.8			85.7			66.7		
Estatura (m)	1.61	0.11	1.39-1.86	1.58	0.11	1.40-1.80	1.55	0.13	1.40-1.80	1.61	0.09	1.45-1.72
Peso (kg)	65.8	16.3	35.2-123.5	65.1	13.7	35.2-85.0	68.4	9.2	59-85	62.8	16.1	35.2-83.4
Índice de masa corporal‡	25.1	5.1	15.2-43.8	25.3	4.8	15.2-30.9	27.1	2.2	25.5-30.9	24.2	5.6	15.2-30.9
Fumadores actuales (%)	23.3			13.9			14.3			13.3		

\* Incluye los grupos indígenas mazahua y huichol. † Desviación estándar. ‡ IMC=Peso (kg)/Estatura<sup>2</sup> (m).

**Tabla 2a.** Descripción de las variaciones genéticas evaluadas.

	IL1A:c.-949C>T	IL1B:c.315C>T	IL1B:c.-583T>C	IL1RN:c.215-516(86)[2_6]	IL6:c.-237C>G
ID de referencia en NCBI dbSNP (rs#)	rs1800587	rs1143634	rs16944	rs2234663	rs1800795
ID del Lab. GM UNAM en NCBI dbSNP (ss#)	NA	104807662	104831320	NA	NA
Versión NCBI (Build)	130	130	130	130	130
Nomenclatura	NM_000575.3:c.-949C>T NT_022135.15:g.2250883G>A NG_008850.1:g.5012C>T	NM_000576.2:c.315C>T NT_022135.15:g.2298312G>A NP_000567.1:p.F105F NG_008851.1:g.8967C>T	NM_000576.2:c.-583T>C NT_022135.15:g.2302790A>G NG_008851.1:g.4490T>C	NM_173841.1:c.215-516ATCCTGGGGAAAGTGAGGGAAATA TGGACATCACATGGAACAACATCCAGGAGACTCAGGCCTCTAGG AGTAACTGGGTAGTGTGC(2_6)	NM_000600.2:c.-237C>G NT_007819.16:g.22255603C>G
Abreviación	IL1A:c.-949C>T IL1A:g.2250883G>A	IL1B:c.315C>T IL1B:g.2298312G>A IL1B:p.F105F	IL1B:c.-583T>C IL1B:g.2302790A>G	IL1RN:c.215-516ATCCTGGGGAAAGTGAGGGAAATATGGACA TCACATGGAACAACATCCAGGAGACTCAGGCCTCTAGGAGTAA CTGGGTAGTGTGC(2_6)	IL6:c.-237C>G IL6:g.22255603C>G
Sinónimos	IL1A-889	IL1B+3953 IL1B+3954	IL1B-511	IL1RN int2 IL1RN_STR (int 2) IL1RN (86bp VNTR)	IL6-174
Clase	SNP	SNP	SNP	VNTR	SNP
Tipo	No-codificante	Codificante (sinónima)	No-codificante	No-codificante	No-codificante
Localización	Exón 1 (5'UTR)	Exón 5 (+14)	5' cercana al gen	Intrón 2 (isoforma 1) Intrón 4 (isoforma 2)	5' cercana al gen
Posición en cromosoma	113,259,431	113,306,861	113,311,338	113,604,577	22,733,170
Posición en contig	2,250,883	2,298,313	2,302,790	2,596,029	22,255,603
Posición en mRNA	12	402	NA	NA	NA
Posición en codón	NA	3	NA	NA	NA
Posición en proteína	NA	105	NA	NA	NA
Aminoácidos	NA	Phe>Phe	NA	NA	NA
Secuencia 5' (30bp)	AAATTCTTTA ATAATAGTAA CCAGGCAACA	TGTGCTCCAC ATTTCAGAAC CTATCTTCTT	CAGAGGCTCC TGCAATTGAC AGAGAGCTCC	GCAACACTCC TATTGACCTG GAGCACAGGT (ATCCTGGGGAAAGTGAGGGAAATATGGACATCACATGGAACAACA TCCAGGAGACTCAGGCCTCTAGGAGTAACTGGGTAGTGTGC) 2 a 6	GCTGCACTTT TCCCCCTAGT TGTGTCTTGC
Alelos	(C>T)	(C>T)	(T>C)	(C>G)	(C>G)
Secuencia 3' (30bp)	CATTGAAGGC TCATATGTAA AAATCCATGC	GACACATGGG ATAACGAGGC TTATGTGCAC	GAGGCAGAGA ACAGCACCCA AGGTAGAGAC	ATCCTGGGGA AAGTGAGGGA AATATGGACA (4 repeticiones)	ATGCTAAAGG ACGTCACATT GCACAATCTT
Alelo ancestral	(C)	(C)	(T)	(4 repeticiones)	(C)

**ID:** número de identificación. **NCBI:** National Center for Biotechnology Information. **Lab. GM UNAM:** Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Odontología, UNAM. **SNP:** single nucleotide polymorphism. **VNTR:** variable number of tandem repeats. **bp:** base pairs. **NA:** no aplica.

**Tabla 2b.** Descripción de las variaciones genéticas evaluadas (continuación).

	IL8:c.-352A>T	IL10:c.-627T>G	IL10:c.-854T>C	IL10:c.-1117A>G	IL12B:c.*159A>C	LTA:c.-10+90A>G
ID de referencia en NCBI dbSNP (rs#)	rs4073	rs1800872	rs1800871	rs1800896	rs3212227	rs909253
ID del Lab. GM UNAM en NCBI dbSNP (ss#)	104828688	104829939	104830706	104810155	104807663	104807664
Versión NCBI (Build)	130	130	130	130	130	130
Nomenclatura	NM_000584.2:c.-352A>T NT_006216.14:g.3113034A>T	NM_000572.2:c.-627T>G NT_021877.18:g.464186A>C	NM_000572.2:c.-854T>C NT_021877.18:g.464413A>G	NM_000572.2:c.-1117A>G NT_021877.18:g.464676T>C	NM_002187.2:c.*159A>C NT_023133.12:g.3552508T>G	NM_000595.2:c.-10+90A>G NT_007592.14:g.22398564A>G NG_007462.1:g.1964A>G
Abreviación	IL8:c.-352A>T IL8:g.3113034A>T	IL10:c.-627T>G IL10:g.464186A>C	IL10:c.-854T>C IL10:g.464413A>G	IL10:c.-1117A>G IL10:g.464676T>C	IL12B:c.*159A>C IL12B:g.3552508T>G	LTA:c.-10+90A>G LTA:g.22398564A>G
Sinónimos	IL8-251	IL10-592	IL10-819	IL10-1082	IL12B+1188 IL12+1188	LTA+252 TNF-B+252
Clase	SNP	SNP	SNP	SNP	SNP	SNP
Tipo	No-codificante	No-codificante	No-codificante	No-codificante	No-codificante	No-codificante
Localización	5' cercana al gen	5' cercana al gen	5' cercana al gen	5' cercana al gen	Exón 8 (+159), 3' UTR	Intrón 1 (+90)
Posición en cromosoma	74,824,888	205,013,030	205,013,257	205,013,520	158,675,528	31,648,292
Posición en contíg	3,113,034	464,186	464,413	464,676	3,552,508	22,398,564
Posición en mRNA	NA	NA	NA	NA	1188	NA
Posición en codón	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Posición en proteína	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Aminoácidos	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Secuencia 5' (30bp)	TAAAGTTATC TAGAAATAAA AAAGCATACA	TTTACTTTC CAGAGACTGG CTTCTACAG	CACTGGTGTA CCCTTG TACA GGTGATG TAA	CAAGACAACA C TACTAAGGC TTCTTTGGGA	CAATGATATC TTTGCTGTAT TTGTATAGTT	CTCTGTCACA CATTCTCTGT TTCTGCCATG
Alelos	(A>T)	(T>G)	(T>C)	(A>G)	(A>C)	(A>G)
Secuencia 3' (30bp)	TTGATAATTC ACCAAATTGT GGAGCTTCAG	ACAGGCGGGG TCACAGGATG TGTTCCAGGC	ATCTCTGTGC CTCAGTTTGC TCACTATAAA	GGGGAAGTAG GGATAGGTAA GAGGAAAAGTA	GATGCTAAAT GCTCATTGAA ACAATCAGCT	TTCTCTCTG TTCCTTCTCT GTCTCTCTCT
Alelo ancestral	(A)	(T)	(T)	(A)	(A)	(A)

**ID:** número de identificación. **NCBI:** National Center for Biotechnology Information. **Lab. GM UNAM:** Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México. **SNP:** single nucleotide polymorphism. **bp:** base pairs. **NA:** no aplica.

**Tabla 3.** Descripción de los genes en los que se localizan las variaciones evaluadas.

	IL1A:c.-949C>T	IL1B:c.315C>T	IL1B:c.-583T>C	IL1RN:c.215-516(86)[2_6]	IL6:c.-237C>G
ID en NCBI	3552	3553	3553	3557	3569
Versión en NCBI (Build)	36.3	36.3	36.3	36.3	36.3
Símbolo	IL1A	IL1B	IL1B	IL1RN	IL6
Nombre oficial	Interleucina 1, alfa	Interleucina 1, beta	Interleucina 1, beta	Interleucina 1, antagonista del receptor (isoforma 1, precursor)	Interleucina 6
Sinónimos					Interferón, beta 2
Tipo	Codificador de proteína	Codificador de proteína	Codificador de proteína	Codificador de proteína	Codificador de proteína
Localización	chr2q14	chr2q14	chr2q14	chr2q14.2	chr7p21
Posición de inicio	113247963	113303808	113303808	113591941	22733343
Posición de terminación	113259442	113310827	113310827	113608064	22738145
Posición codón de inicio	113257818	113310277	113310277	113606919	22737717
Tamaño (kbp)	11.48	7.02	7.02	16.12	4.80

	IL8:c.-352A>T	IL10:c.-627T>G	IL10:c.-854T>C	IL10:c.-1117A>G	IL12B:c.*159A>C	LTA:c.-10+90A>G
ID en NCBI	3576	3586	3586	3586	3593	4049
Versión (Build)	36.3	36.3	36.3	36.3	36.3	36.3
Símbolo	IL8	IL10	IL10	IL10	IL12B	LTA
Nombre oficial	Interleucina 8	Interleucina 10	Interleucina 10	Interleucina 10	Interleucina 12B	Linfotoxina alfa
Sinónimos					Factor estimulador 2 de células NK Factor 2 de maduración de linfocitos citotóxicos IL12 p40	Superfamilia de TNF, miembro 1
Tipo	Codificador de proteína	Codificador de proteína				
Localización	chr4q13-q21	chr1q31-q32	chr1q31-q32	chr1q31-q32	chr5q31.1-q33.1	chr6p21.3
Posición de inicio	74825139	205012462	205012462	205012462	158690059	31648072
Posición de terminación	74828297	205007571	205007571	205007571	158674369	31650077
Posición codón de inicio	74827045	205012403	205012403	205012403	158686368	31649449
Tamaño (kbp)	3.16	4.89	4.89	4.89	15.69	2.01

**ID:** número de identificación. **NCBI:** National Center for Biotechnology Information. **kbp:** pares de kilobases.

**Tabla a.** Descripción de los métodos empleados para la detección de variaciones genéticas.

	IL1A:c.949C>T	IL1B:c.315C>T	IL1B:c.-583T>C	IL1RN:c.215-516(86)[2_6]	IL6:c.-237C>G	
<b>RFLP</b>						
5'-3' secuencia primer-F (m.t. C°)	ACTAGGCTGGCCACAGGAATT (62.2)	GTTGTCATCAGACTTTGACC (52.8)	TGGCATTGATCTGGTTCATC (59.5)	CTCAGCAACTCCTAT (45.5)		
5'-3' secuencia primer-R (m.t. C°)	GTAGAAGAAGGTGTGCAAGCC (62.4)	TTCAGTTCATATGACCAGA (53.9)	GTTTAGGAATCTTCCCATT (52.5)	TCCTGGTCTGCAGGTAA (53.1)		
Temp. alineamiento (C°)	59	55	55	54		
Tamaño del producto (bp)	190	250	305	412		
Secuencia del producto	ACTAGGCTGGCCACAGGAATTataaagct gagaaattctttaataataaaccaggcaaac cattgaaggctcatagtataaaatccaagcctct ttctccaactccaatcccaacttagccaatggc ttctggctgagggccttagcacaactccggGGCT TGCACACACTCTTCTTCTAC	GTTGTCATCAGACTTTGACCgtatgtctcag gtgtctccaagaatcaaatttgcccctcgcct cagaggcctgcccctctgattataaccataaca catgtgtctccaactttagacaactctcttcgaca cattggataacgaggcttagtgcaagatgcaact gtacgatcactgaactgcaagctccgggacaca gcaaaaaagcttggtgagTCTGTCCATATG AACTGAA	TGGCATTGATCTGGTTCATCcatgagattggc tagggtaacagcaccctgtcttgcagggtgtgtga gcttatctccagggtgcccacaactcctcaggaagc ctgaaacctgcaaccgtagtctctgcccagcc aagaaaggtaattttctctcagggctctgca attgacagagagctctcaggcagagaacagca cccaaggtagagaccacaacctcaatacagaca agggaaggcttagggccttcatgtaaccaattatc catctgtAAGTGGGAAGATTCTAAAC	CTCAGCAACTCCTATtgaactggagcagag gtactctggggaagtgaaggaaataaggacatc acatggaacaacatccaaggacatcaggcctcta ggagtaactgggtagtgctcctctggggaagtgtg agggaaataggacatcaatggaacaacatcc agggaactcaggcctctaaggataactgggtagtg tgactctggggaagtgaaggaaataggacatc acatggaacaacatccaaggacatcaggcctcta ggagtaactgggtagtgctcctggggaagtgtg agggaaataggacatcaatggaacaacatcc agggaactcaggcctctaaggataactgggtagtg tgcttggttaactcttctattTACCTGCAGACCAG GA		
Localización chr del producto	chr2:113259305-113259494	chr2:113306748-113306997	chr2:113311225-113311529	chr2:113604543+113604954		
Enzima de restricción	3U Bsb I 37°C 3h (inactivación 65°C 20m)	3U Taq I 65°C 3h (inactivación 80°C 20m)	3U Ava I 37°C 3h (inactivación 80°C 20m)	NA		
Fragmentos de restricción (bp)	<b>Alelo C:</b> 85+105 <b>Alelo T:</b> 190	<b>Alelo C:</b> 136+114 <b>Alelo T:</b> 250	<b>Alelo T:</b> 305 <b>Alelo C:</b> 190+115	<b>2 rep:</b> 240, <b>3 rep:</b> 326, <b>4 rep:</b> 412, <b>5 rep:</b> 498, <b>6 rep:</b> 584		
<b>SECUENCIACIÓN</b>						
5'-3' secuencia primer-F (m.t. C°)	TTTATTATTTTTAGAGATGGGGG (57.0)	TCCAGTGTCTTAGGCCACCC (60.1)	GGTAACAGCACCTGGTCTTGC (62.0)	ACTCCTATTGACCTGGAGCACAGGT (65.5)	TTTCTTTGTAAAACCTCGTGC (57.8)	
5'-3' secuencia primer-R (m.t. C°)	CGGGAGGTATGCGTAAGG (59.1)	CAGGATGTTCCATTACTCTG (58.5)	GCACATACTTTTCTTACTTCTC (58.5)	TTGGTTTAATCTTCTATTACCTGC (57.3)	GAGCCTCAGACATCTCCAGTC (59.0)	
Tamaño del producto (bp)	387	351	306	394	347	
Secuencia del producto	TTTATTATTTTTAGAGATGGGGGcttcaacta tgttgcaccaactggactaaaactctggcctca gtgattgtctgctcctcactcctgaaatagctggga ctacagggcctgccaactcaactatgcttctct ctattttaaatacatggcttaaactccaactggg aacccaaaacttacttgaagactctgggtgttc taaccactgaactaggctgccaaggaaattata aaactctgagaattctttaataataagcaaggc aacccaattgaaggctcatagtataaaatcctag cctctcttcccaactcctattcccaacttagcc actgctcttgctgaggCCTTACGCATACCTC CCG	TCCAGTGTCTTAGGCCACCCcaactccagctt catccctactgggtgtgtcactcagaacttgaactgat atgctcaagggtctctccaagaataaaatgtgccc cctcgcctcagaggcctgcccctctgatttatacc ttaaacacaatgtgctccaactttagaagactatctt cttcgacacaaggataacgaggcttagtgcaagc atgcaactgtacgactcagactgcaactgctccgg gactcaagcaaaaacttggtgtagtctgtgctc atatgactgaaagctctcactccagggaagag gataggagcaCAAGGTAATGGAACATC CTG	GGTAACAGCACCTGGTCTTGCagggttgtgtg agcttatctcagggtgcccacaactcctcaggaag cctgtaacctgcaactcgtatgttctctgcccagc cagaagaaggtaattttctcctcagaggctcctgc atgtaagagagctcctgaggcagagaacagc accgaaggtagagaccacaacctcaatacaga cagggaaggcttagggccttcatgtaaccaattat ccaactgtaaggggagaatctcaactaaatgta caaaGAAGTGAATGAAGAAAAGTATGTGC	ACTCCTATTGACCTGGAGCACAGGTatcct ggggaaagtgaaggaaataggacatcaatgga acaactccaaggagactcaggcctcaggagta ctgggtagtgctcctcgggaaagtgaaggaa taggacatcaatggaacaactcagggaact caggcctcaggagtaactgggtagtgctcctg gggaaagtgaaggaaataggacatcaatgga acaactccaaggagactcaggcctcaggagta ctgggtagtgctcctcgggaaagtgaaggaa taggacatcaatggaacaactcagggaact caggcctcaggagtaactgggtagtgctcctg TTAATCTTCTATTACCTGC	TTTCTTTGTAAAACCTCGTGCatgacttca gctttactcttgtcagaactgcccagaactgctgagt cactataaaagaaaaaagaagtaagga agagtggttctgctcttagcctagcctcaatgacg acctaatgctcactttcccttagtgtgcttggc atgctaaagagcgtcaatgcaacaacttaata gggttccaatcagccccaccctgctggccccacc ctcaacctcaacaagatttaacaatgtgggat tttccaatgactcaataatgagctcaaccccc ataataatagGACTGGAGATGCTGAGGC TC	
Localización chr del producto	chr2:113259329-113259715	chr2:113306692-113307042	chr2:113311189-113311494	chr2:113604552+113604945	chr7:22732997+22733343	

**RFLP:** restriction fragment length polymorphism. **bp:** base pairs. **m.t.:** melting temperature. **NA:** no aplica.



	%	n=1	%	n=1	%	n=1
<b>IL1A:c.-949C&gt;T</b>						
[CC]	63.6	82	68.4	13	53.3	8
[CT]	31.8	41	31.6	6	33.3	5
[TT]	4.7	6	0	0	13.3	2
[C]	95.3	123	100	19	86.7	13
[T]	36.4	47	31.6	6	46.7	7
<b>IL1B:c.315C&gt;T</b>						
[CC]	69.9	93	95.0	19	100	15
[CT]	24.8	33	5.0	1	0	0
[TT]	5.3	7	0	0	0	0
[C]	94.7	126	100	20	100	15
[T]	30.1	40	5.0	1	0	0
<b>IL1B:c.-583T&gt;C</b>						
[TT]	37.6	50	47.6	10	40.0	6
[TC]	60.9	81	38.1	8	53.3	8
[CC]	1.5	2	14.3	3	6.7	1
[T]	98.5	131	85.7	18	93.3	14
[C]	62.4	83	52.4	11	60.0	9
<b>IL1RN:c.215-516(86)[2_6]*</b>						
[2]+[2]	18.3	24	10.0	2	20.0	3
[2]+[4]	42.0	55	55.0	11	20.0	3
[2]+[5]	1.5	2	5.0	1	0	0
[4]+[4]	38.9	51	35.0	7	60.0	9
[4]+[5]	0.8	1	0	0	0	0
[2]	61.8	81	70.0	14	40.0	6
[4]	81.7	107	90.0	18	80.0	12
[5]	2.3	3	5.0	1	0	0

	%	n=1	%	n=1	%	n=1
<b>IL6:c.-237C&gt;G</b>						
[CC]	1.6	2	0	0	0	0
[CG]	22.0	28	0	0	0	0
[GG]	76.4	97	100	2	0	0
[C]	23.6	30	0	0	0	0
[G]	98.4	125	100	2	0	0
<b>IL8:c.-352A&gt;T</b>						
[AA]	28.7	37	10.5	2	20.0	3
[AT]	34.9	45	78.9	15	73.3	11
[TT]	36.4	47	10.5	2	6.7	1
[A]	63.6	82	89.5	17	93.3	14
[T]	71.3	92	89.5	17	80.0	12
<b>IL10:c.-627T&gt;G</b>						
[TT]	13.5	18	5.0	1	6.7	1
[TG]	55.6	74	40.0	8	33.3	5
[GG]	30.8	41	55.0	11	60.0	9
[T]	69.2	92	45.0	9	40.0	6
[G]	86.5	115	95.0	19	93.3	14
<b>IL10:c.-854T&gt;C</b>						
[TT]	21.1	28	10.0	2	6.7	1
[TC]	55.6	74	35.0	7	33.3	5
[CC]	23.3	31	55.0	11	60.0	9
[T]	76.7	102	45.0	9	40.0	6
[C]	78.9	105	90.0	18	93.3	14

	%	n=1	%	n=1	%	n=1
<b>IL10:c.-1117A&gt;G</b>						
[AA]	56.8	75	52.6	10	26.7	4
[AG]	39.4	52	42.1	8	60.0	9
[GG]	3.8	5	5.3	1	13.3	2
[A]	96.2	127	94.7	18	86.7	13
[G]	43.2	57	47.4	9	73.3	11
<b>IL12B:c.*159A&gt;C</b>						
[AA]	28.6	38	25.0	5	33.3	5
[AC]	51.9	69	60.0	12	53.3	8
[CC]	19.5	26	15.0	3	13.3	2
[A]	80.5	107	85.0	17	86.7	13
[C]	71.4	95	75.0	15	66.7	10
<b>LTA:c.-10+90A&gt;G</b>						
[AA]	9.8	13	45.0	9	40.0	6
[AG]	40.6	54	35.0	7	40.0	6
[GG]	49.6	66	20.0	4	20.0	3
[A]	50.4	67	80.0	16	80.0	12
[G]	90.2	120	55.0	11	60.0	9

\* Los alelos y genotipos con 3 y 6 repeticiones no se reportan debido a que no se detectaron en la población de estudio. %: porcentaje de portadores. n=1: número de portadores.

**Tabla 6a.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio.

	Mazahua vs. Huichol <sup>€</sup>			Mazahua vs. Mestizo						Huichol vs. Mestizo					
	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ =) <sup>§</sup>	F ( $p$ =) <sup>‡</sup>	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ =) <sup>§</sup>	F ( $p$ =) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p$ =) <sup>£</sup>	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ =) <sup>§</sup>	F ( $p$ =) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p$ =) <sup>£</sup>
<b>IL1A:c.-949C&gt;T</b>															
[CC]	15.1	ns	ns	4.9	ns	ns	na	na	ns	-10.2	ns	ns	na	na	ns
[CT]	-1.8	ns	ns	-0.2	ns	ns	na	na	ns	1.6	ns	ns	na	na	ns
[TT]	-13.3	ns	ns	-4.7	ns	ns	na	na	ns	8.7	ns	ns	na	na	ns
[C]	13.3	ns	ns	4.7	ns	ns	na	na	ns	-8.7	ns	ns	na	na	ns
[T]	-15.1	ns	ns	-4.9	ns	ns	na	na	ns	10.2	ns	ns	na	na	ns
<b>IL1B:c.315C&gt;T</b>															
[CC]	-5.0	ns	ns	25.1	0.0186	0.0155	8.2	1.1-63.1	0.0440	30.1	0.0132	0.0115	na	na	na
[CT]	5.0	ns	ns	-19.8	0.0476	0.0476	0.2	0.02-1.2	ns	-24.8	0.0292	0.0238	na	na	na
[TT]	0.0	ns	ns	-5.3	ns	ns	na	na	ns	-5.3	ns	ns	na	na	ns
[C]	0.0	ns	ns	5.3	ns	ns	na	na	ns	5.3	ns	ns	na	na	ns
[T]	5.0	ns	ns	-25.1	0.0186	0.0155	0.1	0.02-0.95	0.0440	-30.1	0.0132	0.0115	na	na	na
<b>IL1B:c.-583T&gt;C</b>															
[TT]	7.6	ns	ns	10.0	ns	ns	na	na	ns	2.4	ns	ns	na	na	ns
[TC]	-15.2	ns	ns	-22.8	ns	ns	na	na	ns	-7.6	ns	ns	na	na	ns
[CC]	7.6	ns	ns	12.8	0.0022	0.0185	10.9	1.7-69.8	0.0116	5.2	ns	ns	na	na	ns
[T]	-7.6	ns	ns	-12.8	0.0022	0.0185	0.1	0.01-0.59	0.0116	-5.2	ns	ns	na	na	ns
[C]	-7.6	ns	ns	-10.0	ns	ns	na	na	ns	-2.4	ns	ns	na	na	ns
<b>IL1RN:c.215-516(86)[2_6]*</b>															
[2]+[2]	-10.0	ns	ns	-8.3	ns	ns	na	na	ns	1.7	ns	ns	na	na	ns
[2]+[4]	35.0	ns	ns	13.0	ns	ns	na	na	ns	-22.0	ns	ns	na	na	ns
[2]+[5]	5.0	ns	ns	3.5	ns	ns	na	na	ns	1.7	ns	ns	na	na	ns
[4]+[4]	-25.0	ns	ns	-3.9	ns	ns	na	na	ns	21.1	ns	ns	na	na	ns
[4]+[5]	0.0	ns	ns	-0.8	ns	ns	na	na	ns	-0.8	ns	ns	na	na	ns
[2]	30.0	ns	ns	8.2	ns	ns	na	na	ns	-21.8	ns	ns	na	na	ns
[4]	10.0	ns	ns	8.3	ns	ns	na	na	ns	-1.7	ns	ns	na	na	ns
[5]	5.0	ns	ns	2.7	ns	ns	na	na	ns	-2.3	ns	ns	na	na	ns

\* Los alelos y genotipos con 3 y 6 repeticiones no se reportan debido a que no fueron detectados en la población de estudio. € No se presenta la estimación de riesgo de genotipos y alelos debido a que las pruebas estadísticas de comparaciones y asociaciones no fueron estadísticamente significativas. † Diferencia en el porcentaje de portadores entre grupos. § Significancia de la diferencia entre grupos (prueba *U* de Mann-Whitney). ‡ Significancia de la asociación (prueba exacta de Fisher). ¶ Probabilidad de riesgo (razón de momios común de Mantel-Haenszel). £ Significancia de la razón de momios (prueba de Mantel-Haenszel). ¥ Intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. ns: no significativo. na: no aplica.

**Tabla 6b.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio (continuación).

	Mazahua vs. Huichol <sup>€</sup>			Mazahua vs. Mestizo						Huichol vs. Mestizo					
	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ ) <sup>§</sup>	F ( $p$ ) <sup>‡</sup>	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ ) <sup>§</sup>	F ( $p$ ) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p$ ) <sup>£</sup>	$D_{max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p$ ) <sup>§</sup>	F ( $p$ ) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p$ ) <sup>£</sup>
<b>IL6:c.-237C&gt;G</b>															
[CC]	0.0	na	na	-1.6	ns	ns	na	na	ns	-1.6	na	na	na	na	na
[CG]	0.0	na	na	-22.0	ns	ns	na	na	ns	-22.0	na	na	na	na	na
[GG]	100.0	na	na	23.6	ns	ns	na	na	ns	-76.4	na	na	na	na	na
[C]	0.0	na	na	-23.6	ns	ns	na	na	ns	-23.6	na	na	na	na	na
[G]	100.0	na	na	1.6	ns	ns	na	na	ns	-98.4	na	na	na	na	na
<b>IL8:c.-352A&gt;T</b>															
[AA]	-9.5	ns	ns	-18.2	ns	ns	na	na	ns	-8.7	ns	ns	na	na	ns
[AT]	5.6	ns	ns	44.1	0.0003	0.0004	7.0	2.2-22.3	0.0010	38.4	0.0040	0.0053	5.1	1.5-17.0	0.0076
[TT]	3.9	ns	ns	-25.9	0.0256	0.0344	0.2	0.04-0.93	0.0396	-29.8	0.0211	0.0207	0.1	0.02-0.98	0.0476
[A]	-3.9	ns	ns	25.9	0.0256	0.0344	4.9	1.1-22.0	0.0396	29.8	0.0211	0.0207	8.0	1.0-62.9	0.0476
[T]	9.5	ns	ns	18.2	ns	ns	na	na	ns	8.7	ns	ns	na	na	na
<b>IL10:c.-627T&gt;G</b>															
[TT]	-1.7	ns	ns	-8.5	ns	ns	na	na	ns	-6.9	ns	ns	na	na	ns
[TG]	6.7	ns	ns	-15.6	ns	ns	na	na	ns	-22.3	ns	ns	na	na	ns
[GG]	-5.0	ns	ns	24.2	0.0339	0.0433	2.7	1.0-7.1	0.0383	29.2	0.0240	0.0404	3.4	1.1-10.1	0.0301
[T]	5.0	ns	ns	-24.2	0.0339	0.0433	0.4	0.14-0.95	0.0383	-29.2	0.0240	0.0404	0.3	0.09-0.89	0.0301
[G]	1.7	ns	ns	8.5	ns	ns	na	na	ns	6.9	ns	ns	na	na	ns
<b>IL10:c.-854T&gt;C</b>															
[TT]	3.3	ns	ns	-11.1	ns	ns	na	na	ns	-14.4	ns	ns	na	na	ns
[TC]	1.7	ns	ns	-20.6	ns	ns	na	na	ns	-22.3	ns	ns	na	na	ns
[CC]	-5.0	ns	ns	31.7	0.0032	0.0059	4.0	1.5-10.6	0.0048	36.7	0.0025	0.0048	4.9	1.6-14.9	0.0048
[T]	5.0	ns	ns	-31.7	0.0032	0.0059	0.2	0.09-0.65	0.0048	-36.7	0.0025	0.0048	0.2	0.07-0.61	0.0048
[C]	-3.3	ns	ns	11.1	ns	ns	na	na	ns	14.4	ns	ns	na	na	ns
<b>IL10:c.-1117A&gt;G</b>															
[AA]	26.0	ns	ns	-4.2	ns	ns	na	na	ns	-30.2	0.0270	0.0311	0.3	0.08-0.91	0.0349
[AG]	-17.9	ns	ns	2.7	ns	ns	na	na	ns	20.6	ns	ns	na	na	ns
[GG]	-8.1	ns	ns	1.5	ns	ns	na	na	ns	9.5	ns	ns	na	na	ns
[A]	8.1	ns	ns	-1.5	ns	ns	na	na	ns	-9.5	ns	ns	na	na	ns
[G]	-26.0	ns	ns	4.2	ns	ns	na	na	ns	30.2	0.0270	0.0311	3.6	1.1-11.9	0.0349

€ No se presenta la estimación de riesgo de genotipos y alelos debido a que las pruebas estadísticas de comparaciones y asociaciones no fueron estadísticamente significativas. † Diferencia en el porcentaje de portadores entre grupos. ‡ Prueba exacta de Fisher. § Prueba *U* de Mann-Whitney. ¶ Razón de momios. £ Significancia de la razón de momios. ¥ Intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. ns: no significativo. na: no aplica.

**Tabla 6c.** Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio (continuación).

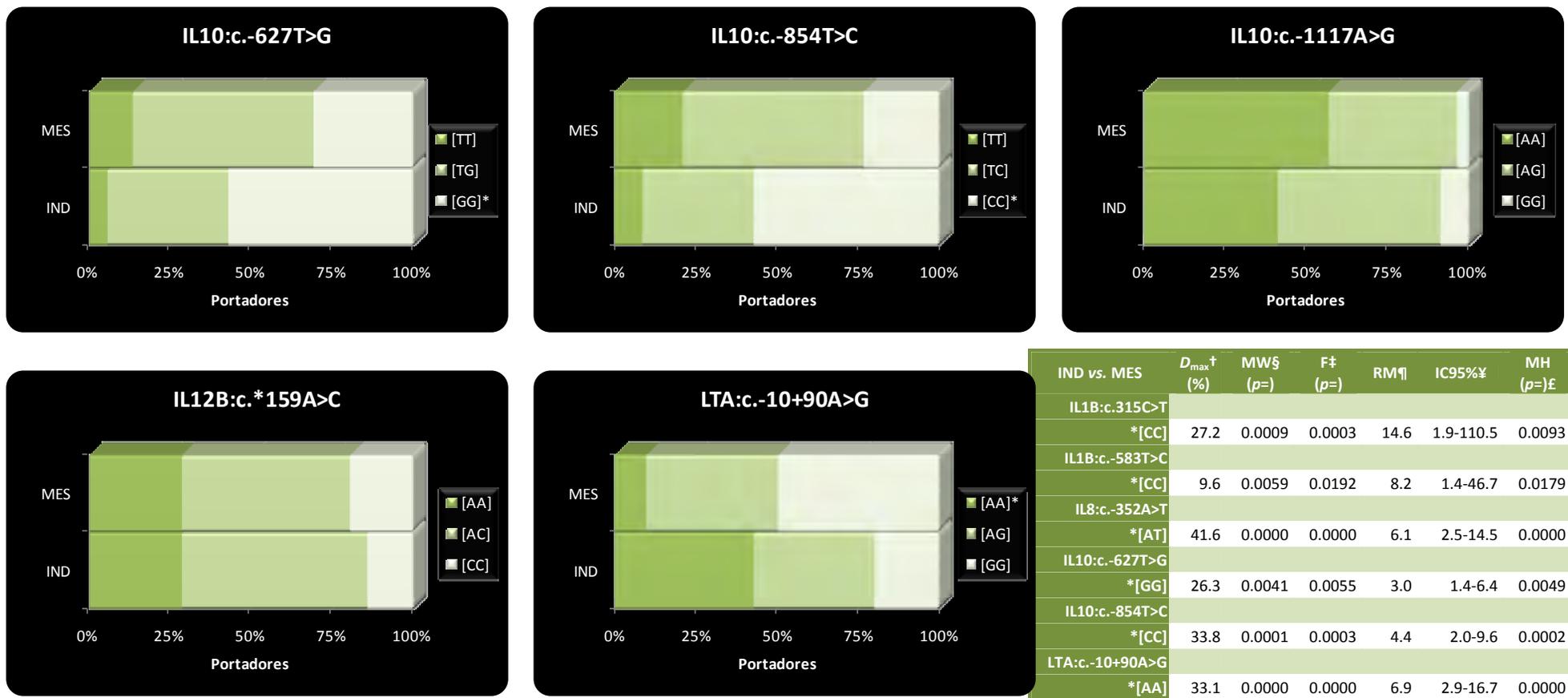
	Mazahua vs. Huichol <sup>€</sup>			Mazahua vs. Mestizo						Huichol vs. Mestizo					
	$D_{\max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p=$ ) <sup>§</sup>	F ( $p=$ ) <sup>‡</sup>	$D_{\max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p=$ ) <sup>§</sup>	F ( $p=$ ) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p=$ ) <sup>£</sup>	$D_{\max}$ (%) <sup>†</sup>	MW ( $p=$ ) <sup>§</sup>	F ( $p=$ ) <sup>‡</sup>	RM <sup>¶</sup>	IC95% <sup>¥</sup>	MH ( $p=$ ) <sup>£</sup>
<b>IL12B:c.*159A&gt;C</b>															
[AA]	-8.3	ns	ns	-3.6	ns	ns	na	na	ns	4.8	ns	ns	na	na	ns
[AC]	6.7	ns	ns	8.1	ns	ns	na	na	ns	1.5	ns	ns	na	na	ns
[CC]	1.7	ns	ns	-4.5	ns	ns	na	na	ns	-6.2	ns	ns	na	na	ns
[A]	-1.7	ns	ns	4.5	ns	ns	na	na	ns	6.2	ns	ns	na	na	ns
[C]	8.3	ns	ns	3.6	ns	ns	na	na	ns	-4.8	ns	ns	na	na	ns
<b>LTA:c.-10+90A&gt;G</b>															
[AA]	5.0	ns	ns	35.2	0.0000	0.0003	7.6	2.6-21.6	0.0002	30.2	0.0009	0.0049	6.2	1.9-20.0	0.0026
[AG]	-5.0	ns	ns	-5.6	ns	ns	na	na	ns	-0.6	ns	ns	na	na	ns
[GG]	0.0	ns	ns	-29.6	0.0135	0.0157	0.3	0.02-0.08	0.0191	-29.6	0.0298	0.0321	0.3	0.07-0.94	0.0402
[A]	0.0	ns	ns	29.6	0.0135	0.0157	3.9	1.2-12.4	0.0191	29.6	0.0298	0.0321	3.9	1.1-14.6	0.0402
[G]	-5.0	ns	ns	-35.2	0.0000	0.0003	0.1	0.05-0.38	0.0002	-30.2	0.0009	0.0049	0.2	0.05-0.53	0.0026

€ No se presenta la estimación de riesgo de genotipos y alelos debido a que las pruebas estadísticas de comparaciones y asociaciones no fueron estadísticamente significativas. † Diferencia en el porcentaje de portadores entre grupos. ‡ Significancia de la asociación utilizando la prueba exacta de Fisher. § Significancia de la diferencia entre grupos utilizando la prueba *U* de Mann-Whitney. ¶ Probabilidad de riesgo calculada mediante la razón de momios común de Mantel-Haenszel. £ Significancia de la razón de momios. ¥ Intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. ns: no significativo. na: no aplica.

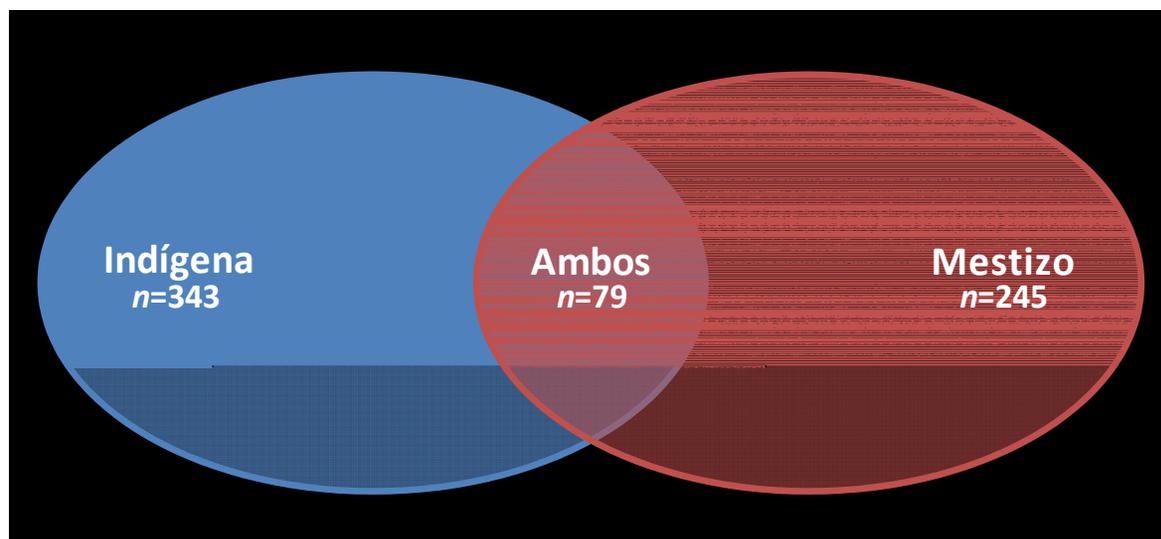
FIGURAS



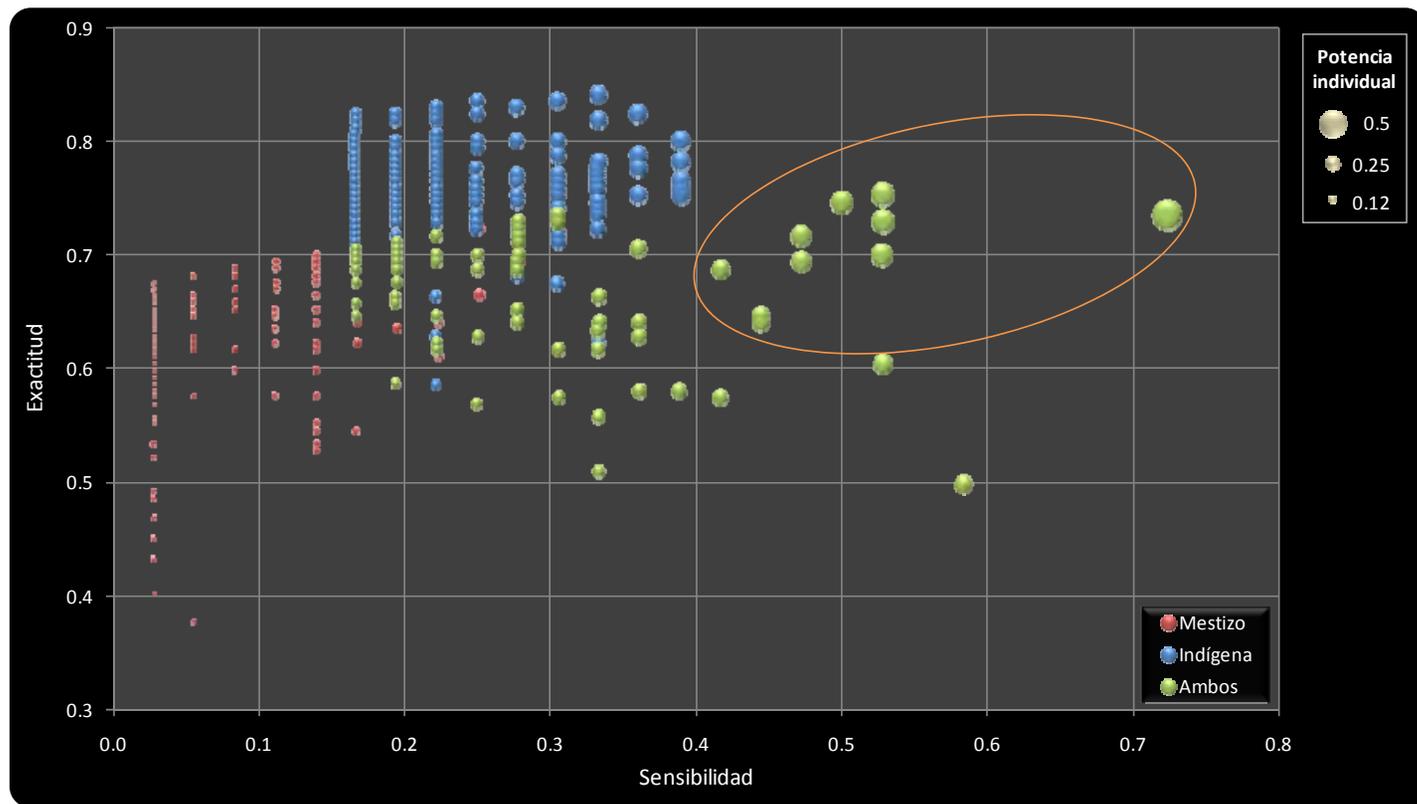
**Figura 1a.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en las frecuencias genotípicas individuales de las variaciones evaluadas en mestizos (MES) e indígenas (IND). Las gráficas para las otras 5 variaciones evaluadas, así como la tabla del resumen de las estadísticas se presentan en la segunda parte de la figura (Figura 1b). El grupo IND incluye a mazahuas y huicholes. El largo de las barras representa la proporción de cada genotipo. En el caso de la variación IL1RN:c.215-516(86)[2\_6], se presentan únicamente los 5 genotipos que fueron detectados en la población de estudio. \* Genotipos significativamente asociados con la población indígena.



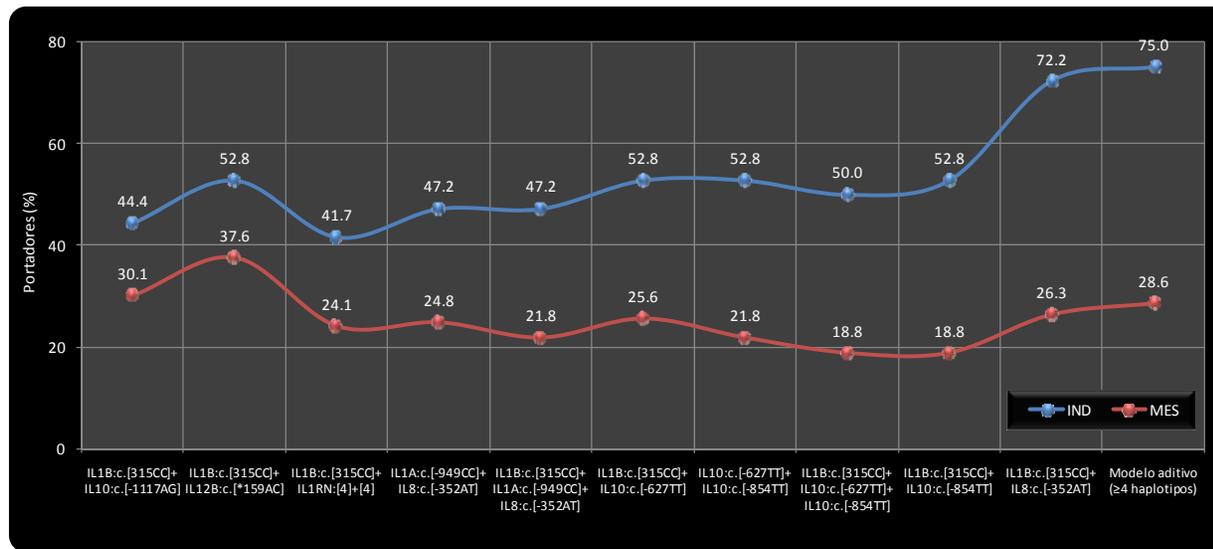
**Figura 1b.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en las frecuencias genotípicas individuales de las variaciones evaluadas en mestizos (**MES**) e indígenas (**IND**) (continuación). El grupo IND incluye a mazahuas y huicholes. El largo de las barras representa la proporción de cada genotipo. \* Genotipos significativamente asociados con la población indígena. † Diferencia en el porcentaje de portadores entre grupos. § Significancia de la diferencia entre grupos (prueba *U* de Mann-Whitney). ‡ Significancia de la asociación (prueba exacta de Fisher). ¶ Probabilidad de riesgo (razón de momios común de Mantel-Haenszel). £ Significancia de la razón de momios (prueba de Mantel-Haenszel). ¥ Intervalo de confianza al 95% para la razón de momios.



**Figura 2.** Diagrama de Venn que resume el universo de los haplotipos polimórficos detectados en la población de estudio. En total se identificaron 667 haplotipos polimórficos, de los cuales 324 (245+79) fueron detectados en el grupo mestizo y 422 (343+79) en el grupo indígena. Dentro de ellos se encontraron 79 haplotipos comunes a los dos grupos.

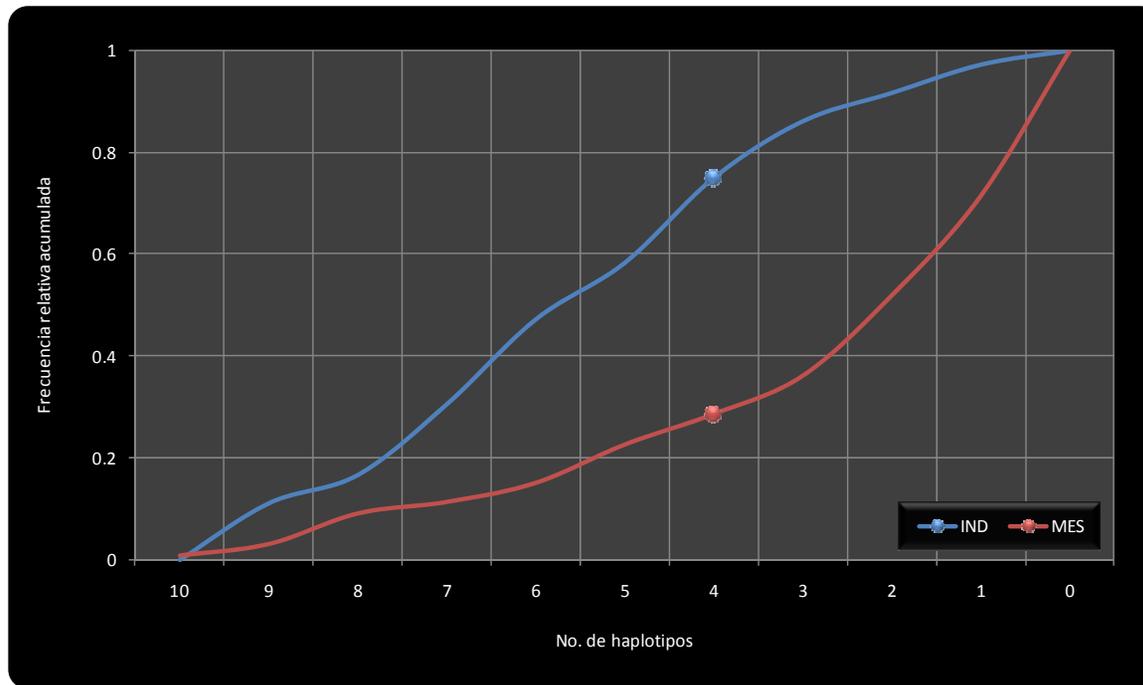


**Figura 3.** Gráfica de burbujas en la que se representan los 667 haplotipos polimórficos detectados para identificar al grupo indígena y separarlo del grupo mestizo, distribuidos en el espacio “sensibilidad vs. exactitud”. Los haplotipos que fueron detectados exclusivamente en el grupo mestizo se presentan en rojo (245), los que fueron detectados únicamente en el grupo indígena en azul (343) y aquellos que se presentaron en ambos grupos en verde (79). Adicionalmente, el tamaño de las burbujas representa la potencia individual para el grupo indígena (especificidad x exactitud). La sensibilidad fue calculada como la proporción de portadores de cada haplotipo en el grupo indígena (número de portadores entre el total de sujetos incluidos en el grupo de estudio) y la exactitud como la proporción de “aciertos” en toda la población de estudio (suma de portadores en el grupo indígena y no-portadores en el grupo mestizo entre el total de sujetos incluidos en ambos grupos).



GII	IND		MES		$D_{max}$ (%)*	MW (p=)‡	F (p=)†	RM‡	IC95%£	MH (p=)§	SEN	ESP	EXA	IFN	IFP	
	%	n=1	%	n=1												
IL1B:c.[315CC]+IL10:c.[-1117AG]	44.4	16	30.1	40	14.4	0.066	0.052	1.9	0.07-0.95	0.068	0.44	0.70	0.64	0.56	0.30	
IL1B:c.[315CC]+IL12B:c.[*159AC]	52.8	19	37.6	50	15.2	0.075	0.056	1.9	0.9-4.2	0.077	0.53	0.62	0.60	0.47	0.38	
IL1B:c.[315CC]+IL1RN:[4]+[4]	41.7	15	24.1	32	17.6	0.035	0.035	2.3	1.1-5.2	0.030	0.42	0.76	0.69	0.58	0.24	
IL1A:c.[-949CC]+IL8:c.[-352AT]	47.2	17	24.8	33	22.4	0.008	0.011	2.7	1.3-6.3	0.008	0.47	0.75	0.69	0.53	0.25	
IL1B:c.[315CC]+IL1A:c.[-949CC]+IL8:c.[-352AT]	47.2	17	21.8	29	25.4	0.003	0.003	3.2	1.5-7.5	0.002	0.47	0.78	0.72	0.53	0.22	
IL1B:c.[315CC]+IL10:c.[-627TT]	52.8	19	25.6	34	27.2	0.002	0.002	3.3	1.6-7.5	0.002	0.53	0.74	0.70	0.47	0.26	
IL10:c.[-627TT]+IL10:c.[-854TT]	52.8	19	21.8	29	31.0	0.000	0.000	4.0	1.9-9.3	0.000	0.53	0.78	0.73	0.47	0.22	
IL1B:c.[315CC]+IL10:c.[-627TT]+IL10:c.[-854TT]	50.0	18	18.8	25	31.2	0.000	0.000	4.3	2.1-10.1	0.000	0.50	0.81	0.75	0.50	0.19	
IL1B:c.[315CC]+IL10:c.[-854TT]	52.8	19	18.8	25	34.0	0.000	0.000	4.8	2.3-11.4	0.000	0.53	0.81	0.75	0.47	0.19	
IL1B:c.[315CC]+IL8:c.[-352AT]	72.2	26	26.3	35	45.9	0.000	0.000	7.3	3.7-21.7	0.000	0.72	0.74	0.73	0.28	0.26	
Modelo aditivo (≥4 haplotipos)	NA	75.0	27	28.6	38	46.4	0.000	0.000	7.5	3.2-17.4	0.000	0.75	0.71	0.72	0.25	0.29

**Figura 4.** Distribución de frecuencias y estadísticas comparativas de los 10 haplotipos polimórficos asociados con el grupo indígena presentados de manera individual e incorporados al modelo aditivo. **GII:** genotipos individuales incluidos en la composición de cada uno de los haplotipos. **IND:** indígena. **MES:** mestizo. **%:** porcentaje de portadores. **n=1:** número de portadores. \* Diferencia en el porcentaje de portadores. ‡ Significancia de la diferencia entre grupos (prueba *U* de Mann-Whitney). † Significancia de la asociación de haplotipos con el grupo indígena (prueba exacta de Fisher). ‡ Probabilidad de riesgo para el grupo indígena (razón de momios común de Mantel-Haenszel). £ Intervalo de confianza al 95% para la razón de momios. § Significancia de la razón de momios (prueba de Mantel-Haenszel). **SEN:** sensibilidad, **ESP:** especificidad, **EXA:** exactitud, **IFN:** índice de falsos negativos, **IFP:** índice de falsos positivos.



Número de haplotipos	Frecuencia relativa acumulada		$D_{i_s}^*$
	MES	IND	
10	0.0075	0.0000	-0.0075
9	0.0301	0.1111	0.0810
8	0.0902	0.1667	0.0764
7	0.1128	0.3056	0.1928
6	0.1504	0.4722	0.3218
5	0.2256	0.5833	0.3578
4	0.2857	0.7500	0.4643
3	0.3609	0.8611	0.5002
2	0.5188	0.9167	0.3979
1	0.7143	0.9722	0.2579
0	1.0000	1.0000	0.0000

**Figura 5.** Potencia de separación de diferente número de los diez haplotipos identificados para el grupo indígena incorporados al modelo aditivo. La gráfica (izquierda) muestra la separación que se produce entre los grupos de estudio, resultado de la habilidad del modelo aditivo para calificar al grupo indígena, se puede observar la respuesta en función del grado de exigencia (número de haplotipos incorporados al modelo). La tabla (derecha) muestra las frecuencias relativas acumuladas que se generan con la incorporación de diferente número de haplotipos al modelo. El recuadro punteado representa el nivel de exigencia elegido (cantidad de haplotipos polimórficos) necesario para identificar al grupo indígena con el menor grado de error y mayor exactitud. \* Diferencia en las frecuencias relativas acumuladas entre indígenas y mestizos a diferentes niveles de exigencia. **IND:** indígena. **MES:** mestizo.

## ANEXOS

### ANEXO 1. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**INVESTIGADOR RESPONSABLE:** Dra. Laurie Ann Ximénez-Fyvie

**CLÍNICOS RESPONSABLES:** Dra. Velia Jacobo-Soto  
Dra. Argelia Almaguer-Flores  
Dra. Ma. de Lourdes Márquez C  
Dra. Jazmín Yunuen Moreno Borjas  
Dra. Dolores Carrasco Ortiz

**INSTITUCIÓN:** Laboratorio de Genética Molecular  
Div. de Estudios de Posgrado e Investigación  
Facultad de Odontología, UNAM

**TELÉFONO:** 5622-5565 (horas y días hábiles)

**TÍTULO DEL PROYECTO:** Efectos inmunológicos y clínicos de variaciones genéticas genéticos relacionados con las enfermedades periodontales en México (DGAPA # IN213006-3).

**INVITACIÓN A PARTICIPAR:** Usted está invitado a participar en un estudio de investigación que analiza las bacterias de la boca así como las características genéticas y del sistema de defensa de las personas que padecen enfermedades de las encías.

**PROPÓSITO:** Usted debe entender que los objetivos del estudio son determinar la presencia y cantidad de bacterias que se encuentran en la boca de personas con diferentes tipos de enfermedades de las encías y comparar las características genéticas y la magnitud de la respuesta del sistema de defensa entre personas con y sin enfermedades de las encías.

**PROCEDIMIENTOS:** Usted debe entender que para participar en el estudio debe haber nacido en la República mexicana, no debe padecer ninguna enfermedad sistémica a excepción de diabetes, debe tener por lo menos 20 dientes naturales en la boca, no puede haber recibido

ningún tipo de tratamiento periodontal en el pasado, no puede haber recibido una limpieza dental profesional en el último mes y no puede haber tomado ningún tipo de antibiótico en los últimos 3 meses. Asimismo, en el caso de ser mujer, no puede estar embarazada ni lactando.

Usted debe entender que su participación en este estudio de investigación requiere uno o más de los siguientes procedimientos:

- **La realización de una evaluación periodontal completa**, la cual consistirá en medir la profundidad de las pequeñas “bolsas” que se encuentran entre sus dientes y sus encías. Estas medidas serán tomadas con un instrumento especial llamado sonda que será introducido en dichas “bolsas” en 6 lugares diferentes alrededor de cada diente de su boca. Este es un procedimiento de rutina ampliamente utilizado en la práctica dental. Además de lo anterior, se le realizará una evaluación general de la salud de sus encías para saber si sangran, si están inflamadas, si están enrojecidas, etc.
- **La obtención de algunos de sus datos generales y médicos**, lo cual consistirá en el llenado de una historia clínica con preguntas que le serán leídas por el clínico que lo atiende y la medición de su peso, estatura, presión sanguínea, pulso y porcentaje de grasa corporal.
- **La toma de un máximo de 28 muestras de placa dentobacteriana**, lo cual se realizará tomando con un instrumento dental, una muestra de la película blanquecina que se forma naturalmente sobre la superficie de sus dientes (placa dentobacteriana) de todos los dientes de su boca. Este procedimiento no es doloroso aunque en algunas

ocasiones puede ser un poco molesto. Cada muestra de placa dentobacteriana será colocada dentro de un tubo.

- **La toma de 1 muestra de máximo 11 ml de sangre**, lo cual se realizará siguiendo los mismos procedimientos que se llevan a cabo en laboratorios de diagnóstico clínico acreditados. Dicho procedimiento consiste en colocar una liga gruesa ligeramente apretada alrededor de su brazo para facilitar la visualización de sus venas. Posteriormente, se introduce una aguja a una vena de alguno de sus brazos y se deposita la sangre en uno o dos tubos de vidrio conforme sale de la vena. La liga y aguja serán retiradas y el sitio de punción será cubierto con un curita una vez que el clínico determine que ha dejado de sangrar. Este procedimiento puede causarle dolor o molestias principalmente en el sitio de la punción.

- **La toma de 1 muestra de células epiteliales de la mucosa bucal**, lo cual se realizará frotando un algodón sobre la superficie interna de sus mejillas, paladar, labios, encías y por debajo de la lengua durante aproximadamente 1 minuto. Este procedimiento no conlleva ninguna molestia. La muestra será colocada sobre una tarjeta de papel especial.

Usted debe entender que todos los procedimientos serán realizados en una sola visita que tendrá una duración máxima de 2 horas y que en este estudio participarán aproximadamente 500 (quinientas) personas.

Usted debe entender que su participación en el estudio no implica que será sometido a ningún tratamiento diferente o adicional a aquellos tratamientos que su clínico tratante considere necesarios para su caso.

**RIESGOS:** Usted debe entender que los riesgos que usted corre con su participación en este estudio son mínimos. La evaluación periodontal que se le realizará es la misma que realiza cualquier dentista para determinar la salud de sus encías. Las muestras de placa se tomarán siguiendo procedimientos similares a los que se realizan durante una limpieza dental. La muestra de células epiteliales de la mucosa bucal no conllevan ninguna molestia y la muestra de sangre puede causarle algunas molestias menores pero no duraderas en el sitio de la punción.

Debe entender que todos los procedimientos serán realizados por profesionales calificados y con experiencia, utilizando procedimientos de seguridad aceptados para la práctica clínica. Todo el personal que le atenderá utilizará guantes desechables, bata y cubrebocas para su propia protección y la de usted. Todos los materiales e instrumental que serán utilizados serán desechables y/o estarán esterilizados para su protección.

**BENEFICIOS:** Usted debe entender que su participación no le proporcionará ningún beneficio inmediato ni directo. Sin embargo, gracias a su participación, se obtendrá información nueva y más extensa sobre las causas y los factores que intervienen en las enfermedades de las encías en la población de México, lo cual podría ayudar en un futuro no sólo al mejor entendimiento de dichas enfermedades, sino también a la búsqueda y empleo de nuevos tratamientos para nuestra población.

**COMPENSACIONES:** Usted debe entender que no existe ninguna compensación monetaria por su participación pero que tampoco incurrirá en ningún gasto adicional.

**CONFIDENCIALIDAD:** Usted debe entender que toda la información que sea obtenida tanto en sus historiales clínicos como en el análisis de sus muestras será mantenida en estricta confidencialidad. Así mismo, si cualquier publicación resultara de esta investigación, no se le identificará jamás por nombre.

**RENUNCIA/RETIRO:** Usted debe saber que su participación en el estudio es totalmente voluntaria y que puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin que esto represente algún perjuicio para su atención dental presente ni futura en las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM. También debe entender que si cualquiera de los responsables de este estudio decidieran no incluirle en la investigación, pueden hacerlo si así lo creyeran conveniente.

**DERECHOS:** Usted tiene el derecho de hacer preguntas y de que éstas le sean contestadas a su plena satisfacción. Puede hacer sus preguntas en este momento, antes de firmar la presente forma o en cualquier momento en el futuro. Si desea mayores informes acerca de su participación en este estudio de investigación o sobre sus derechos como sujeto de estudio, puede contactar a cualquiera de los responsables llamando al número de teléfono que se encuentra en la parte superior de la primera página de esta forma.

**ACUERDO:** Al firmar en los espacios provistos a continuación usted constata que ha leído y entendido esta forma de consentimiento y que está de acuerdo con su participación en este estudio. Al terminar la visita recibirá una copia de esta forma.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Paciente

\_\_\_\_\_  
Firma del Paciente

\_\_\_\_\_  
Fecha  
(Día/mes/año)

\_\_\_\_\_  
Nombre del Clínico Responsable

\_\_\_\_\_  
Firma del Clínico Responsable

\_\_\_\_\_  
Fecha  
(Día/mes/año)

## ANEXO 2. ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Características generales de la población de estudio .....	80
<b>Tabla 2a.</b> Descripción de las variaciones genéticas evaluadas .....	81
<b>Tabla 2b.</b> Descripción de las variaciones genéticas evaluadas (continuación).....	82
<b>Tabla 3.</b> Descripción de los genes en los que se localizan las variaciones evaluadas.....	83
<b>Tabla 4a.</b> Descripción de los métodos empleados para la detección de variaciones genéticas .....	84
<b>Tabla 4b.</b> Descripción de los métodos empleados para la detección de variaciones genéticas (continuación).....	85
<b>Tabla 5.</b> Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas individuales de las 11 variaciones genéticas evaluadas.....	86
<b>Tabla 6a.</b> Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio .....	87
<b>Tabla 6b.</b> Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio (continuación).....	88
<b>Tabla 6c.</b> Estadísticas de alelos y genotipos individuales para las comparaciones entre grupos de estudio (continuación).....	89

### ANEXO 3. ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1a.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en las frecuencias genotípicas individuales de las variaciones evaluadas en mestizos e indígenas .....90
- Figura 1b.** Gráficas de mosaico que ilustran las diferencias en las frecuencias genotípicas individuales de las variaciones evaluadas en mestizos e indígenas (continuación).....91
- Figura 2.** Diagrama de Venn que resume el universo de los haplotipos polimórficos detectados en la población de estudio.....92
- Figura 3.** Gráfica de burbuja en la que se representan los 667 haplotipos polimórficos detectados para identificar al grupo indígena y separarlo del grupo mestizo, distribuidos en el espacio “sensibilidad vs. exactitud” .....93
- Figura 4.** Distribución de frecuencias y estadísticas comparativas de los 10 haplotipos polimórficos asociados con el grupo indígena presentados de manera individual e incorporados al modelo aditivo.....94
- Figura 5.** Potencia de separación de diferente número de los diez haplotipos identificados para el grupo indígena incorporados al modelo aditivo.....95