



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**"EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA ALÉLICA DE
LAS VARIANTES GENÉTICAS *CYP2C9*2* Y
*CYP2C9*3* DEL GEN CITOCROMO *P450 2C9* EN
POBLACIÓN INDÍGENA MAYA"**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA**

PRESENTA

CAROLINA RIVERA SANTIAGO



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: MARISOL LÓPEZ LÓPEZ**

VOCAL: **Profesor: MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA**

SECRETARIO: **Profesor: MARÍA EVA GONZÁLEZ TRUJANO**

1er. SUPLENTE: **Profesor: MARTHA PATRICIA COELLO COUTIÑO**

2º SUPLENTE: **Profesor: MARÍA DE LOS ÁNGELES GRANADOS SILVESTRE**

EL SIGUIENTE TRABAJO FUE DESARROLLADO EN EL "LABORATORIO DE DIABETES" EDIFICIO F, LABORATORIO 202 DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA

SUPERVISOR TÉCNICO:

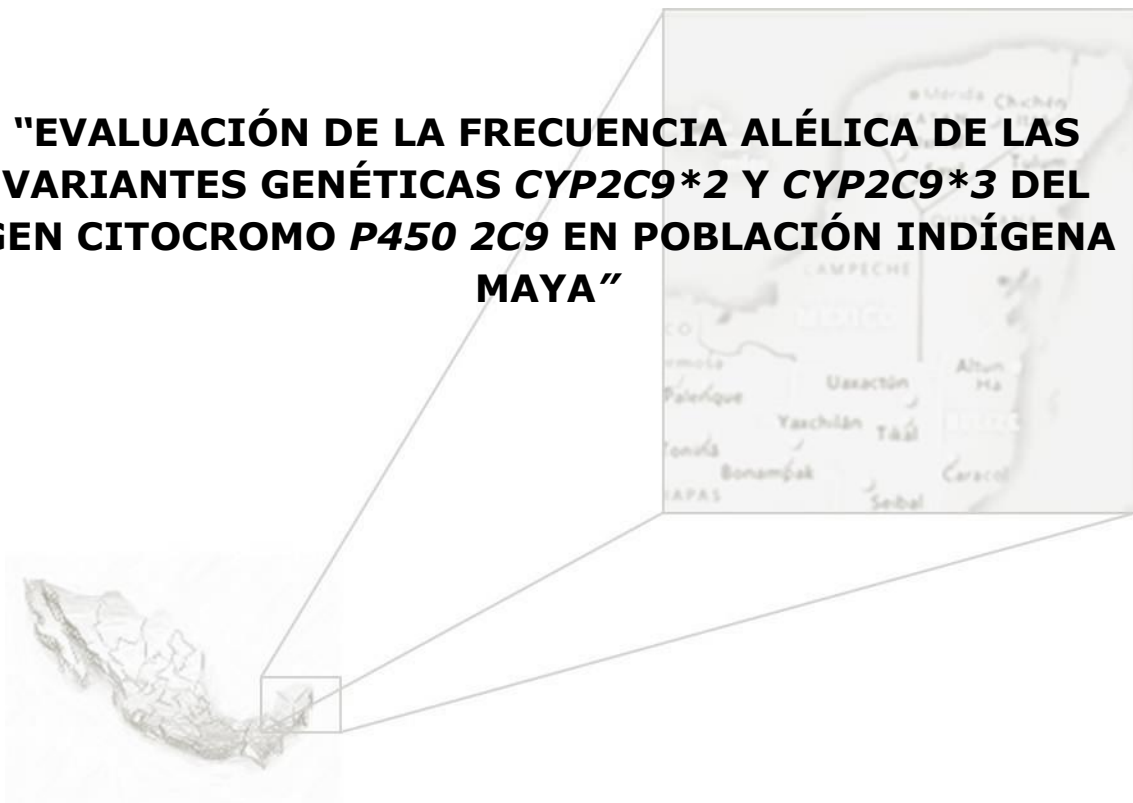
M en C MARÍA DE LOS ÁNGELES GRANADOS SILVESTRE

SUSTENTANTE:

CAROLINA RIVERA SANTIAGO



**"EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA ALÉLICA DE LAS
VARIANTES GENÉTICAS *CYP2C9*2* Y *CYP2C9*3* DEL
GEN CITOCROMO *P450 2C9* EN POBLACIÓN INDÍGENA
MAYA"**





Contenido

Índice de tablas.....	- 6 -
Índice de figuras	- 7 -
Abreviaturas	- 8 -
RESUMEN.....	- 10 -
I INTRODUCCIÓN	- 12 -
Capítulo 1: Variabilidad genética	- 12 -
1.1 Farmacogenética y farmacogenómica.....	- 14 -
Capítulo 2: Sistema microsomal oxidativo de función mixta o monooxigenas: Citocromo P450.....	- 16 -
2.1 Biotransformación	- 16 -
2.2 Generalidades del CYP450	- 19 -
2.3 Actividad Catalítica del CYP450.....	- 21 -
2.4 Nomenclatura.....	- 22 -
Capítulo 3: Polimorfismos genéticos del gen <i>CYP2C9</i> : Citocromo P450 familia 2 subfamilia C polipéptido 9.....	- 25 -
3.1 Generalidades	- 25 -
3.2 Polimorfismos metabólicos en el gen <i>CYP2C9</i>	- 26 -
3.3 Polimorfismos y fenotipo metabolizador.....	- 30 -
3.4 Variantes importantes de <i>CYP2C9</i> : <i>CYP2C9*2</i> y <i>CYP2C9*3</i>	- 33 -
3.5 Fenotipo de las variantes <i>CYP2C9*2</i> y <i>CYP2C9*3</i> y reacciones adversas	- 35 -
Capítulo 4: Farmacogenética de las sulfonilureas: un tratamiento para el control de la diabetes tipo 2.....	- 36 -
Capítulo 5: Frecuencia genotípica de las variantes <i>CYP2C9*2</i> y <i>CYP2C9*3</i> en población mundial	- 39 -
Capítulo 6: Estudios de variabilidad genética en población indígena mexicana.	- 43 -
6.1 Población indígena maya	45
6.2 Estudios de <i>CYP2C9*2</i> y <i>CYP2C9*3</i> en pueblos indígenas.....	48
II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	49



III JUSTIFICACIÓN.....	50
IV HIPÓTESIS.....	51
V OBJETIVOS.....	52
Objetivo general.....	52
Objetivos particulares.....	52
VI MATERIAL Y MÉTODOS.....	53
Población de estudio.....	53
Muestras de ADN.....	54
Genotipificación de <i>CYP2C9*2</i> y <i>CYP2C9*3</i>	55
Determinación de datos antropométricos.....	55
Determinación del perfil bioquímico.....	56
Análisis estadístico.....	56
VII RESULTADOS.....	57
Descripción general de la población en estudio.....	57
Resultados moleculares.....	58
Resultados antropométricos y bioquímicos.....	65
VIII DISCUSIÓN.....	67
IX CONCLUSIONES.....	77
X BIBLIOGRAFÍA.....	78
XI ANEXOS.....	83
ANEXO I.....	83
ANEXO II.....	- 84 -
ANEXO III.....	- 88 -
ANEXO IV.....	- 92 -
ANEXO V.....	- 94 -



Índice de tablas

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DEL CITOCROMO P450 HUMANO DE ACUERDO AL SUSTRATO QUE METABOLIZA PRINCIPALMENTE.	- 24 -
TABLA 2. DIFERENTES SUSTRATOS METABOLIZADOS POR CYP2C9.....	- 27 -
TABLA 3. DESCRIPCIÓN DE DIFERENTES VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN <i>CYP2C9</i>	- 28 -
TABLA 4. DESCRIPCIÓN DE LOS POLIMORFISMOS *2 Y *3 Y FÁRMACOS ALTERADOS EN SU METABOLISMO.	- 34 -
TABLA 5. FÁRMACOS HIPOGLUCEMIANTES PRESCRITOS EN LA DIABETES TIPO 2.	- 37 -
TABLA 6. FRECUENCIA DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> EN DIFERENTES GRUPOS ÉTNICOS DISTRIBUIDOS EN EL MUNDO.....	- 40 -
TABLA 7. VARIANTES LINGÜÍSTICAS CLASIFICADAS DE ACUERDO A LA FAMILIA A LA QUE PERTENECEN ¹ . -	44 -
TABLA 8. FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> EN POBLACIONES INDÍGENAS Y MESTIZAS MEXICANAS.	48
TABLA 9. DISTRIBUCIÓN DE LOS PUEBLOS INDÍGENAS MAYAS SELECCIONADOS.	54
TABLA 10. FRECUENCIA GENOTÍPICA Y ALÉLICA DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> EN POBLACIÓN MAYA.	58
TABLA 11. FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> DE LA POBLACIÓN MAYA SEPARADA POR LAS TRES REGIONES ESTUDIADAS.	61
TABLA 12. COMPARACIÓN DE LA FRECUENCIA ALÉLICA DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> DE LA POBLACIÓN MAYA CONTRA LA BASE DE DATOS 1000 GENOMAS	62
TABLA 13. COMPARACIÓN DE LAS FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> DE LA POBLACIÓN MAYA CON OTRAS REGIONES INDÍGENAS YA REPORTADAS	64
TABLA 14. DATOS ANTROPOMÉTRICOS DE LA POBLACIÓN MAYA.....	65
TABLA 15. DATOS BIOQUÍMICOS DE LA POBLACIÓN MAYA	66
TABLA 16. DATOS ANTROPOMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS DE LOS INDIVIDUOS QUE PORTAN LA VARIANTE <i>CYP2C9*2</i> O <i>CYP2C9*3</i>	66
TABLA 17 VALORES DE REFERENCIA EN POBLACIÓN MEXICANA ADULTA	- 97 -



Índice de figuras

FIGURA 1. LOS PACIENTES PUEDEN RESPONDER DIFERENTE AL MISMO MEDICAMENTO	- 13 -
FIGURA 2. REACCIONES DE BIOTRANSFORMACIÓN DE UN FÁRMACO	- 17 -
FIGURA 3. UNA MUESTRA LIMITADA DE LAS DIVERSAS REACCIONES DE OXIDACIÓN CATALIZADAS POR EL CITOCROMO P450.	- 18 -
FIGURA 4. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA PROTOPOFIRINA IX UNIDA AL FE.	- 19 -
FIGURA 5. ESPECTRO DE ABSORBANCIA APROXIMADAMENTE A 450NM.	- 20 -
FIGURA 6. CICLO CATALÍTICO DEL CITOCROMO P450, MEDIADO POR UNA REACCIÓN DE HIDROXILACIÓN	- 22 -
FIGURA 7. NOMENCLATURA DE LOS CITOCROMOS P450.....	- 23 -
FIGURA 8. LOCALIZACIÓN DE LOS LOCUS DE <i>CYP2C</i>	- 26 -
FIGURA 9. TIPO DE RESPUESTA DE ACUERDO AL FENOTIPO METABOLIZADOR.	- 30 -
FIGURA 10. RELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO, EFICACIA Y RESPUESTA AL FÁRMACO.	- 31 -
FIGURA 11. ESTRECHA VENTANA TERAPÉUTICA DE MEDICAMENTOS.	- 32 -
FIGURA 12. UBICACIÓN DE LA VARIANTE FUNCIONAL <i>CYP2C9*2</i>	- 33 -
FIGURA 13. UBICACIÓN DE LA VARIANTE FUNCIONAL <i>CYP2C9*3</i>	- 34 -
FIGURA 14. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL NÚCLEO DE LAS SULFONILUREAS.....	- 38 -
FIGURA 15. DISTRIBUCIÓN DE LAS ONCE FAMILIAS LINGÜÍSTICAS INDOAMERICANAS EN MÉXICO.	- 43 -
FIGURA 16. ENSAYO DE DISCRIMINACIÓN ALÉLICA PARA <i>CYP2C9*2</i>	59
FIGURA 17. ENSAYO DE DISCRIMINACIÓN ALÉLICA PARA <i>CYP2C9*3</i>	59
FIGURA 18. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LOS PUEBLOS INDÍGENAS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO	83
FIGURA 19 PATRÓN TÍPICO DE ABSORCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS.....	- 89 -
FIGURA 20. INTEGRIDAD DEL ADN EN UN GEL DE AGAROSA AL 1%, REVELADO CON BROMURO DE ETIDIO.....	- 91 -
GRÁFICO 1. PORCENTAJE DE LA POBLACIÓN QUE HABLA LENGUA INDÍGENA POR ENTIDAD FEDERATIVA.	46
GRÁFICO 2. DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN POR GÉNERO.....	57
GRÁFICO 3. DISTRIBUCIÓN DE LOS 199 INDIVIDUOS DE POBLACIÓN MAYA INCLUIDOS EN EL ESTUDIO	57
GRÁFICO 4. FRECUENCIAS GENOTÍPICAS DE <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> DE LA POBLACIÓN MAYA	60
GRÁFICO 5. FRECUENCIAS ALÉLICAS DE LAS VARIANTES <i>CYP2C9*2</i> Y <i>CYP2C9*3</i> REPORTADAS EN EL PROYECTO 1000 GENOMAS DIVIDIDAS POR CONTINENTES.	63



Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
Arg	Arginina
ASW	Población: africanos en el oeste de Estados Unidos de América
ATP	Adenosín trifosfato
CEU	Población: norte y oeste de Europa en Utah
CHB; CHS	Población: Beijing, China; población: sur de China
CLM	Población: colombianos en Medellín
cm	Centímetros
CYP2C9	Citocromo P450 Familia 2 Subfamilia C polipéptido 9
CYP2C9*2	Cambio de cisteína por arginina en la posición 144 del gen CYP2C9
CYP2C9*3	Cambio de isoleucina por leucina en la posición 359 del gen CYP2C9
CYP450	Familia de isoenzimas Citocromo P450
Cys	Cisteína
DPP-4	Dipeptidil peptidasa-4, enzima
EDTA	Ácido etildiaminotetraacético
Fe ²⁺	Hierro reducido
Fe ³⁺	Hierro oxidado
FIN	Población: finlandesa
GAA	Glucosa alterada en ayuno
GBR	Población: británicos de Inglaterra y Escocia
HDL	Lipoproteína de alta densidad
IBS	Población: ibéricos en España
ICC	Índice cintura-cadera
Ile	Isoleucina
IMC	Índice de masa corporal
INALI	Instituto Nacional de Lenguas Indígenas



INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
JPT	Población: Tokio, Japón
K _{ATP}	Canal de potasio sensible a ATP
Kg	Kilogramos
Kir 6.2	Canal rectificador entrante de potasio 6.2
LDL	Lipoproteína de baja densidad
Leu	Leucina
LWK	Población: Kenia
m	Metros
MAF	Frecuencia alélica del alelo menor
mg/dL	Miligramos sobre decilitro
mmHg	Milímetros de mercurio
MXL	Población: mexicanos en Los Ángeles, Estados Unidos de América
n	Número de individuos
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, coenzima
nm	Nanómetros
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDB	Protein Data Bank
PGH	Proyecto del Genoma Humano
PUR	Población: Puerto Rico
s	Desviación estándar
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SU	Sulfonilureas
SUR1	Receptor de sulfonilureas 1
TSI	Población: toscánicos en Italia
YRI	Población: yorubas en Nigeria
χ^2	Prueba estadística Chi cuadrado



RESUMEN

Los humanos compartimos el 99.9% de la secuencia del genoma y el 0.1% restante varía entre cada individuo, dando como resultado un fenotipo funcional que difiere entre los individuos y poblaciones. La variabilidad interindividual es un factor que afecta la disposición y respuesta de los fármacos en el organismo. El citocromo P450 2C9 (CYP2C9) es una isoenzima que actúa sobre el 15 al 20% de los fármacos que presentan metabolismo de fase 1. Uno de los aspectos clínicamente importantes del metabolismo de fármacos mediado por esta isoenzima son los polimorfismos genéticos que presenta. Los polimorfismos *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* modifican el funcionamiento del CYP2C9 y se asocian con una lenta depuración de fármacos y en consecuencia con la aparición de reacciones adversas a los medicamentos. Los avances en el conocimiento genómico permiten prescribir la terapia más adecuada para los pacientes, tomando en cuenta la variabilidad genética interindividual en las poblaciones. La diversidad étnica en México está representada en los grupos indígenas, cuya historia está escrita en el genoma de la población mestiza mexicana. En México son escasos los estudios en estas poblaciones, y representa un área de oportunidad para acercarnos a la medicina personalizada de nuestra población. La población Maya de los tres estados de la península de Yucatán es uno de los grupos indígenas más importantes del país respecto a otros pueblos amerindios. En este trabajo se plantea la hipótesis que la población indígena maya presentará las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* con una frecuencia significativamente diferente al de otros grupos indígenas, población mestizo mexicana y otras poblaciones del mundo reportadas en el Proyecto 1000 Genomas. Se evaluó la frecuencia alélica de las variantes



*CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en 199 individuos mayas de los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo mediante PCR en tiempo real y sondas TaqMan. Adicionalmente, a través de los datos antropométricos y bioquímicos se caracterizó el estado de salud de la población Maya. Los datos antropométricos y bioquímicos de la población Maya, indican un descontrol metabólico de la población diabética del grupo estudiado.

La frecuencia alélica de la población indígena Maya obtenida para los alelos *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* fue de 0.010 y 0.028 respectivamente. Esta población mostró una frecuencia significativamente menor para ambas variantes con respecto a las poblaciones europeas, mestizos mexicanos e indígenas Mayos. Para el alelo *CYP2C9*3*, la población maya presentó una frecuencia significativamente menor con respecto a los tepehuanos y tarahumaras y una frecuencia significativamente mayor con respecto a la población africana reportada en el Proyecto 1000 Genomas y la población indígena Nahuatl. Estas comparaciones permiten diferenciar genéticamente al grupo Maya para las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en relación con otros grupos poblacionales de México y el mundo, siendo éstas una de las bases farmacogenéticas que permiten reconocer la diversidad genética en poblaciones indígenas y posteriormente se logre dilucidar el impacto de la variabilidad genética en la respuesta a diversos fármacos mediante pruebas funcionales.

La farmacogenética, es una herramienta que ofrece beneficios para mejorar la salud pública, apoyándose en las tecnologías genómicas para adaptar el tratamiento farmacológico a las características individuales de cada paciente, con la finalidad de maximizar la eficacia y reducir al mínimo los eventos adversos de los medicamentos y así, realizar las intervenciones preventivas o terapéuticas para un mejoramiento en el control de diversos padecimientos que posee esta población.



I INTRODUCCIÓN

Capítulo 1: Variabilidad genética

La genética es el estudio de la herencia y su variación. En 1866, Gregor Mendel, publicó una serie de experimentos que sentaron las bases de la Genética como disciplina formal y en la actualidad continúan vigentes con pleno conocimiento de sus bases moleculares. Fue casi 80 años después que se reconoció al ácido desoxirribonucleico (ADN) como el material de la herencia. El ADN está formado de 3,200 millones de nucleótidos, de los que existen cuatro tipos: adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). A partir de la segunda mitad del siglo XX comenzó el auge en la manipulación del ADN, con el descubrimiento de su estructura, esclarecimiento del código genético, bases de la traducción para síntesis de proteínas, entre otras. Dando lugar a las tecnologías recombinantes y, posteriormente, a las tecnologías para la secuenciación del ADN².

Al inicio de la década de los 90's dio inicio el proyecto científico tecnológico más importante de finales del siglo XX: "El Proyecto del Genoma Humano" (PGH). La culminación del Proyecto en términos técnicos significa que se obtuvo la totalidad de la secuencia de la molécula del ADN con una gran exactitud. Además, se demostró que los seres humanos compartimos 99.9% de esta secuencia. El 0.1% restante varía entre cada individuo, siendo las variaciones más comunes, los polimorfismos de un solo nucleótido, conocidos como SNP. El número de posibles combinaciones que resultan de la variación genómica da como resultado que cada miembro de nuestra especie tenga características genómicas únicas³. Uno de los principales retos en la medicina moderna y en la genómica de poblaciones es identificar las variantes que den un



fenotipo en especial, interpretar sus consecuencias moleculares y determinar la transferencia de sus roles funcionales entre los individuos y poblaciones⁴. Debido a que, la variación genética interindividual en los blancos farmacológicos o en los genes involucrados en la disposición de los medicamentos produce distintos desenlaces clínicos y diferentes respuestas a los fármacos administrados a pacientes tratados con el mismo medicamento a una misma dosis (Figura 1), es imperante hacer frente a estas diferencias como un factor clave en las evaluaciones de riesgo para la salud humana en el consumo de medicamentos^{5, 6}.

Se estima que la genética puede aportar del 20 al 95% de la variabilidad en la disposición del fármaco y sus efectos. Aunque muchos factores no genéticos influyen en los efectos de los medicamentos, incluyendo la edad, la función del órgano, la terapia concomitante, el apego al tratamiento y la naturaleza de la enfermedad. Hay numerosos ejemplos de casos en los que las diferencias interindividuales en la respuesta a los fármacos se deben a variantes de secuencia en los genes que codifican enzimas que metabolizan los fármacos, transportadores de fármacos o blancos farmacológicos⁷.

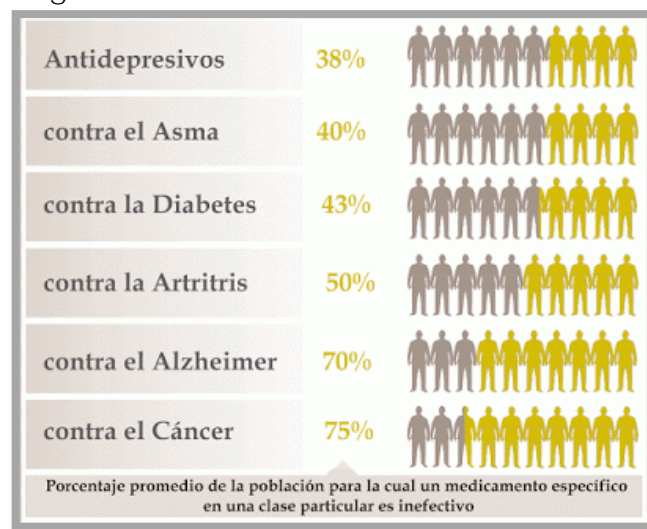


Figura 1. Los pacientes pueden responder diferente al mismo medicamento
Modificado de ⁸



1.1 Farmacogenética y farmacogenómica

Los avances en genética y genómica han tenido un gran impacto en nuestro entendimiento de la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos en el organismo, convirtiéndose en una herramienta básica e indispensable para el desarrollo de nuevas tecnologías en biomedicina y cuidado para la salud. Esta interface entre los conceptos y métodos, el descubrimiento, desarrollo y uso de nuevos medicamentos están siendo reconocidos a través de dos disciplinas en la ciencia biomédica: la farmacogenética y la farmacogenómica⁹.

La farmacogenética es un campo de la farmacología que estudia las variaciones en la secuencia del ADN y cómo éstas influyen en la respuesta y eficacia de los fármacos¹⁰. Describe las interacciones entre las características de los medicamentos y de los individuos, de acuerdo al resultado de eficacia clínica y/o perfil de seguridad y tolerabilidad obtenido de un fármaco en individuos (fenotipo). Del mismo modo pone a prueba la hipótesis de que las diferencias interindividuales en las respuestas obtenidas pueden estar asociadas con la presencia o ausencia de factores biológicos específicos del individuo, dichas diferencias pueden ser marcadores que permitan la predicción de la respuesta individual a los fármacos⁹. Esta ciencia también implica la incorporación de información acerca del genotipo de una persona en la toma de decisiones para el tratamiento farmacológico, con el fin de proveer la más efectiva y segura terapia para el paciente.

A partir de la última década, se han realizado avances en el entendimiento de la contribución de las diferencias genéticas a la farmacocinética y farmacodinamia en la variabilidad interindividual con respecto a la respuesta a los fármacos¹¹.



Por su parte, la Farmacogenómica se basa en el estudio del genoma, que incluye la totalidad de las secuencias codificantes (genes) y no codificantes para la evaluación sistemática de cómo los fármacos modifican el patrón global de expresión en algunos tejidos de interés. En contraste con la farmacogenética, la farmacogenómica no se centra en las diferencias interindividuales a los efectos del fármaco, sino en las diferencias entre los diversos fármacos o compuestos con respecto a un conjunto de genes expresados o secuencias no codificantes y su posible asociación con características fenotípicas⁹.

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son el tipo más común de variación genética entre personas y se encuentran presentes en al menos el 1% de la población¹². Cada SNP representa el cambio en la secuencia de ADN de un solo nucleótido. En promedio se puede encontrar un SNP por cada trescientos nucleótidos, lo que supone alrededor de diez millones de SNPs en todo el genoma humano^{13, 14}. Diversos estudios sugieren que los SNPs en genes que codifican para proteínas transportadoras de fármacos, enzimas metabolizadoras de los mismos, enzimas implicadas en la biosíntesis de ADN y reparación de éste, podrían determinar la eficacia y toxicidad del fármaco.

Entre las principales enzimas que metabolizan fármacos, se encuentra el citocromo P450 (CYP450)¹⁵. El CYP450 comprende una superfamilia de monooxigenasas involucradas en el metabolismo de varios compuestos químicos endógenos y exógenos. Modificaciones en los genes o deficiencia de estas enzimas dan como resultado un amplio espectro de enfermedades en el humano. Así, las diversas funciones endógenas y el papel esencial de P450 en el metabolismo y toxicología de los fármacos subrayan aún más la importancia de estas enzimas en la salud humana¹⁶.



Capítulo 2: Sistema microsomal oxidativo de función mixta o monooxigenas: Citocromo P450

2.1 Biotransformación

Desde el origen de la humanidad, el hombre ha buscado remedios para curar los males que lo aquejan en su existencia. En el siglo XIX los avances en la química permitieron identificar y aislar muchas de las sustancias activas presentes en los productos naturales. En el siglo XX los avances en fisiología y bioquímica permitieron comenzar a entender cómo funciona el organismo, así como las células que lo constituyen. Se descubrieron los mediadores químicos: sustancias que transportan información dentro del cuerpo y que son el sistema de comunicación entre células. De esta forma, gracias a la química se comienzan a sintetizar sustancias nuevas **(fármacos)** que mimetizan o bloquean los efectos de los mediadores químicos del cuerpo¹⁷ para tratar de recuperar la homeostasis en el organismo.

La duración e intensidad del efecto de los fármacos está determinada por numerosos factores, incluyendo la velocidad con la cual los fármacos son metabolizados o excretados. La biotransformación y excreción de fármacos determinan, en gran medida, los parámetros farmacocinéticos: vida media biológica de eliminación, depuración y constante de eliminación. Si la biotransformación de un fármaco es muy intensa, su vida media biológica se acorta, su constante de eliminación y depuración son altas. Por el contrario, si la biotransformación de un medicamento es baja, su tiempo de vida media se prolonga, la constante de eliminación y depuración disminuyen⁷.



La biotransformación o metabolismo de fármacos se refiere al conjunto de reacciones químicas de tipo enzimático, por medio de las cuales se modifica la estructura química de los fármacos, habitualmente dichas modificaciones dan lugar a metabolitos más polares que el producto original, por lo tanto más solubles en agua siendo más fáciles de eliminar con la orina^{18, 19}. (Figura 2).

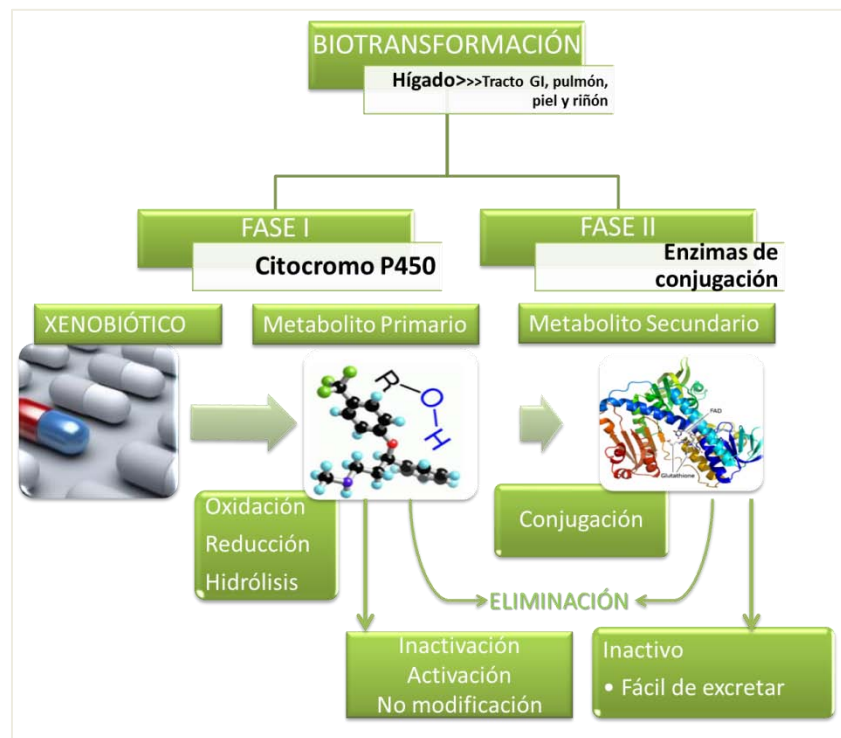


Figura 2. Reacciones de biotransformación de un fármaco

Imagen modificada de ²⁰

Las reacciones enzimáticas que participan en la biotransformación de fármacos, son de dos tipos: fase I o de funcionalización y las reacciones de fase II o de conjugación. Las reacciones de fase I comprenden: Oxidaciones, reducciones e hidrólisis (Figura 3) que pueden incrementar, decrecer o no alterar la actividad farmacológica de los fármacos²¹. En las reacciones de la fase II, el metabolito procedente de



la fase I, se acopla a un sustrato endógeno que puede ser ácido glucurónico o ácido acético. Los productos resultantes, son fuertemente polares, inactivos, y se excretan con rapidez por orina y por heces.

En las reacciones de fase I, se utilizan una serie de enzimas fuera del metabolismo energético o intermediario del organismo, de entre las que destaca un sistema enzimático óxido reductor conocido como **Citocromo P450: Sistema microsomal oxidativo de función mixta o monooxigenas (CYP450)**. (Figura 3)^{20, 21}.

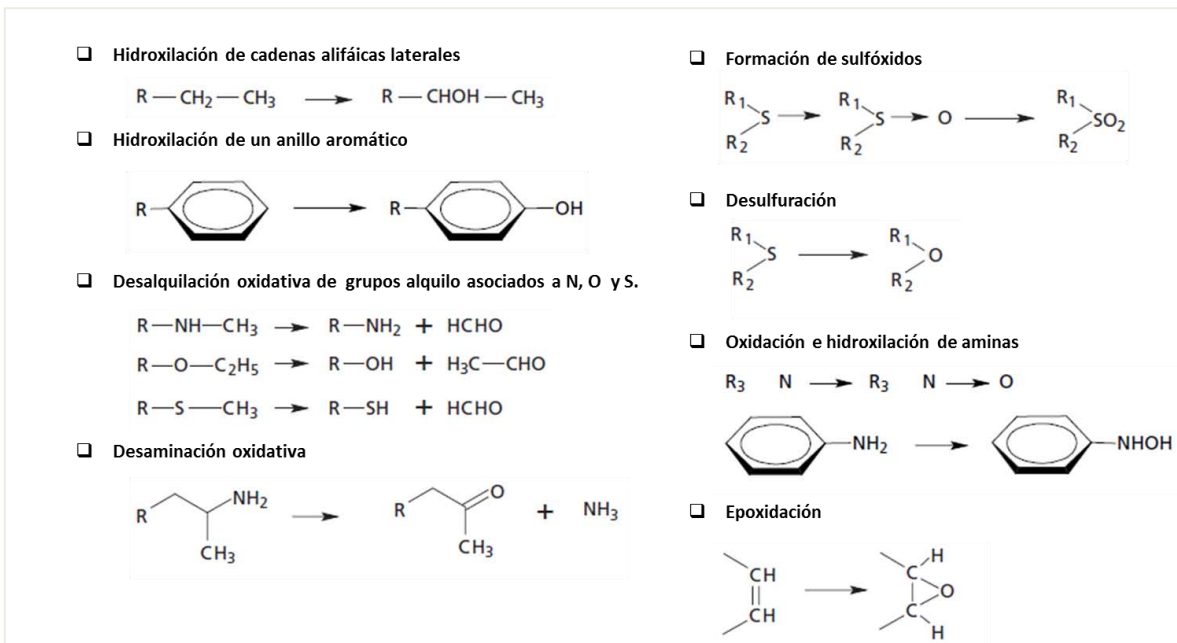


Figura 3. Una muestra limitada de las diversas reacciones de oxidación catalizadas por el citocromo P450.

Modificada de ^{20, 21}



2.2 Generalidades del CYP450

El término citocromo P450 se refiere a una familia singular de hemoproteínas presentes en bacterias hongos, insectos, plantas, peces, mamíferos y primates, que pueden ser consideradas como oxigenasas universales (enzimas que utilizan oxígeno) debido a la gran variedad de reacciones que catalizan y a los compuestos estructuralmente diversos, que sirven de sustrato. Los sustratos de estos sistemas enzimáticos incluyen compuestos sintetizados endógenamente, tales como el colesterol, hormonas esteroideas y ácidos grasos, así como compuestos exógenos, por ejemplo, aditivos alimentarios, compuestos industriales y fármacos que entran al cuerpo a través de diversas vías: digestiva, pulmonar y/o epitelial.

Los citocromos P450 están formados por dos proteínas, una de función oxidasa y la otra de reductasa. Están conformadas por un grupo hemo unido a cisteína mediante su tiolato, contienen un único grupo prostético de hierro protoporfirina IX, que une oxígeno y que contiene sitios de unión para el sustrato (Figura 4)¹⁹.

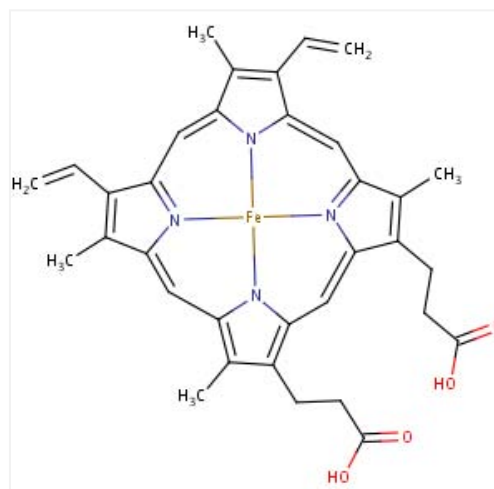


Figura 4. Estructura química de la protoporfirina IX unida al Fe.

Modificado de ²²



La denominación de esta proteína como citocromo P450 se originó a partir de sus propiedades espectroscópicas, antes de que se conociera su función catalítica. Este grupo de proteínas presentan un espectro de absorción único que se obtiene por adición de un agente reductor, tal como el hiposulfito sódico o NADPH, a una suspensión de vesículas de retículo endoplásmico seguido del burbujeo de monóxido de carbono (gas en solución). El monóxido de carbono se une a la hemoproteína reducida y da lugar a un espectro de absorbancia con un pico a los 450 nm. El monóxido de carbono se une al hierro del grupo hemo, en lugar del oxígeno, con una afinidad de unión mucho mayor por lo que es un potente inhibidor de su función (Figura 5)²³.

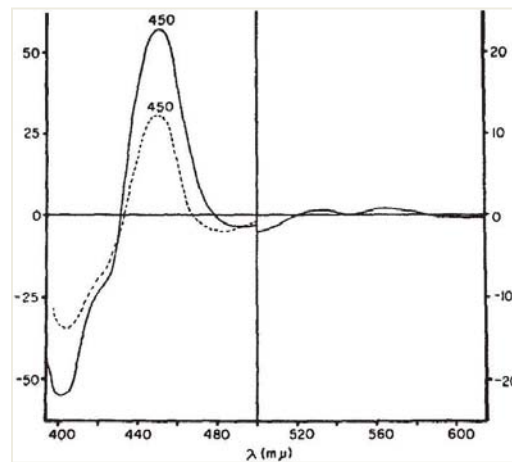


Figura 5. Espectro de absorbancia aproximadamente a 450nm.

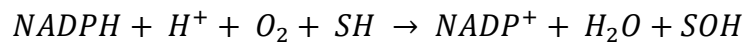
La línea (- - -) indica que el NADPH actúa como el agente reductor y la línea (___) indica que el hiposulfito de sodio actúa como agente reductor.

Modificado de ²³



2.3 Actividad Catalítica del CYP450

La reacción general catalizada por un citocromo P450 se describe a continuación:



Donde S puede representar un esteroide, ácido graso, un fármaco u otro compuesto químico que contenga como sustituyente un alcano, un alqueno, un anillo aromático o un compuesto heterocíclico que pueda servir de sitio para la oxigenación. La reacción es una monooxigenación y la enzima es una monooxigenasa debido a que sólo incorpora al sustrato uno de los átomos de oxígeno. En mamíferos, los citocromos P450 actúan como aceptores últimos de electrones en sistemas de transporte electrónico y actualmente se sabe que están presentes en glándulas del cuerpo como en el riñón, pulmón, piel, intestino, corteza suprarrenal, testículos, placenta, linfocitos, ovarios y otros. Cabe mencionar que es particularmente activo en tejidos involucrados en el procesamiento de alimentos (hígado y en glándulas suprarrenales).

El mecanismo catalítico de oxidación de un xenobiótico mediado por el CYP450, es complejo; se inicia cuando el fármaco, en su forma reducida, se une al citocromo P450 (Fe^{3+})-oxidado y se forma el complejo citocromo P450 (Fe^{3+})-fármaco reducido. El donador de electrones es el fosfato reducido de dinucleótido nicotinamida y adenina (NADPH) y el flujo de los electrones es conducido por otra flavoproteína (NADPH-citocromo P450 reductasa) que transfiere un electrón al complejo citocromo P450(Fe^{3+})-fármaco reducido. El citocromo P450 (Fe^{3+}), se reduce a citocromo P450(Fe^{2+}), y el complejo citocromo P450(Fe^{2+})-fármaco reducido, se combina con el O_2 para formar un complejo terciario, oxígeno- citocromo P450 (Fe^{2+})- fármaco reducido. El complejo



terciario, acepta un segundo electrón de la NADPH-citocromo P450 reductasa y un protón para producir un complejo peróxido. La adición de un segundo protón rompe el complejo produciendo agua y liberando el fármaco oxidado. Finalmente se regenera el citocromo P450 (Fe^{3+}) y se inicia un nuevo ciclo (Figura 6).

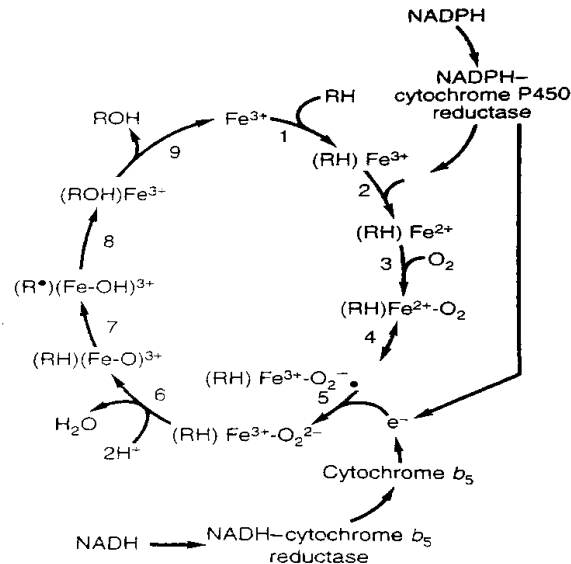


Figura 6. Ciclo catalítico del citocromo P450, mediado por una reacción de hidroxilación

Modificado de ²¹

2.4 Nomenclatura

Hasta finales de la década de los ochenta el citocromo P450 se nombraba de acuerdo a la reacción que catalizaba su inducibilidad. Debido a que los CYP450s presentan una amplia versatilidad funcional, lo que les da la capacidad de catalizar una gran cantidad de procesos y unirse a un número elevado de sustratos, se planteó la necesidad de establecer criterios de nomenclatura para evitar posibles ambigüedades. Por ello, se establecieron los principios de clasificación que se utilizan



hoy en día, los cuales obedecen a criterios filogenéticos y se basan en la entidad de la secuencia de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas de las diferentes enzimas. Los citocromos P450 se identifican con las siglas CYP seguido de un número que designa la familia, compartiendo como mínimo el 40% en su secuencia de aminoácidos; una letra identifica la subfamilia y comparten mínimo el 55% de identidad. Finalmente, dentro de una misma subfamilia a las enzimas individuales se les asigna un número, tomando en cuenta que la secuencia que codifica para la proteína tenga una homología mayor al 3% (Figura 7) ^{20, 24}.

Citocromo	Familia >40%	Subfamilia >55%	Enzima individual >3%
CYP	2	C	9

Figura 7. Nomenclatura de los citocromos P450

El citocromo P450 (CYP450) humano está conformado por 18 familias, 44 subfamilias y 57 isoenzimas²⁵. Estas isoenzimas metabolizan aproximadamente dos terceras partes de los fármacos administrados en el ser humano. Por ejemplo los miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3, especialmente CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, y CYP3A4 en el hígado metabolizan del 80% al 95% de los fármacos de uso clínico.

Sin embargo, la funcionalidad, especificidad por el sustrato y especificidad del tejido varían entre las enzimas del citocromo P450. En la tabla 1 se clasifican las isoenzimas de acuerdo al sustrato que los CYP450s metabolizan principalmente^{16, 26}.

**Tabla 1. Clasificación del citocromo P450 humano de acuerdo al sustrato que metaboliza principalmente.**

Eicosanoides		Xenobióticos		Ácidos Grasos	Eicosanoides	Vitaminas	Desconocidos	
1B1	17A1	1A1	2C18	2J2	4F2	2R1	2A7	4F22
7A1	19A1	1A2	2C19	4A11	4F3	24A1	2S1	4V2
7B1	21A2	2A6	2D6	4B1	4F8	26A1	2U1	4X1
8B1	27A1	2A13	2E1	1F12	5A1	26B1	2W1	4Z1
11A1	39A1	2B6	2F1		8A1	26C1	3A43	20A1
11B1	46A1	2C8	3A4			27B1	4A22	27C1
11B2	51A1	2C9	2A5				4F11	
			3A7					

Esta clasificación es un tanto arbitraria, por ejemplo, citocromo P450 1B1 y 27A1 podrían agruparse en una de dos categorías diferentes. Modificado de ²⁶.



Capítulo 3: Polimorfismos genéticos del gen *CYP2C9*: Citocromo P450 familia 2 subfamilia C polipéptido 9

La mayoría de los genes que codifican para las isoenzimas CYP son altamente polimórficos y esto contribuye a las variaciones interindividuales e interétnicas en el metabolismo de un gran número de fármacos administrados en humanos¹². *CYP2C9* es altamente polimórfica y es la principal enzima dentro de la subfamilia *CYP2C*, involucrada en el metabolismo de fármacos de importancia clínica²⁷.

3.1 Generalidades

El CYP2C9 es una isoenzima de aproximadamente 55kDa, juega un rol principal en la oxidación de compuestos endógenos y xenobióticos. Se ha identificado que el gen *CYP2C9* posee 9 exones y es uno de varios genes agrupados en *cluster* en una región aproximadamente de 390 kb dentro del cromosoma 10 en la posición 23.3 del brazo largo (23q3). Este *cluster* comprende cuatro genes organizados de la siguiente manera *CYP2C18-CYP2C19-CYP2C9-CYP2C8* en dirección del centrómero al telómero (Figura 8)²⁸. Los cuatro miembros de la familia CYP2C están expresados principalmente en el hígado. La isoforma CYP2C9 es la más expresada de las cuatro que conforman la familia CYP2C, inclusive es la segunda isoenzima más expresada a nivel hepático de todos los citocromos y comprende aproximadamente una tercera parte del contenido total de la superfamilia citocromo P450 en el mismo órgano. CYP2C9 y CYP2C19 han sido estudiados con mayor profundidad y se ha visto que una disfuncionalidad en estas isoenzimas, tienen importantes consecuencias terapéuticas¹².

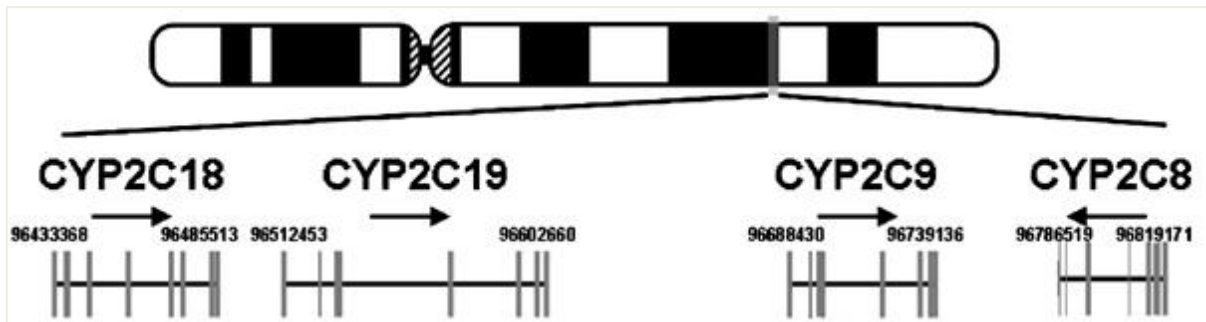


Figura 8. Localización de los locus de CYP2C.

Localización del locus *CYP2C9* en el cromosoma 10, la medida proporcional y localización de los cuatro genes incluyendo la dirección de la transcripción, límites del gen y la estructura de los intrones y exones de cada uno. Modificado de ²⁹

CYP2C9 es una proteína que metaboliza más de 100 sustratos, involucrándose en el metabolismo de cerca del 15% de todos los fármacos administrados en la clínica²⁹. Entre los más destacados, se encuentran los fármacos antihipertensivos, antiepilépticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINES), sulfonilureas, entre otros. En la tabla 2, se exponen algunos de los fármacos metabolizados por el CYP2C9.

3.2 Polimorfismos metabólicos en el gen *CYP2C9*

El gen que codifica para la enzima CYP2C9 es altamente polimórfico incluyendo variantes funcionales y de mayor importancia farmacogenética. Hasta la fecha se han reportado 58 variantes alélicas para este gen³⁰ (Tabla 3).

Tabla 2. Diferentes sustratos metabolizados por CYP2C9

Clasificación	Sustrato	Reacción de Fase I	Contribución del CYP2C9 en el aclaramiento del fármaco (%)
Anticoagulantes	Acenocumarol	6-, 7-, and 8-Hidroxilación	50-70
	Dicoumarol	Hidroxilación	10-20
	Fenonprocoumon	4-, 6-, 7- and 8- Hidroxilación	50-70
	Warfarina	4´-, 6-, 7- and 8- Hidroxilación	60-80
Hipoglicemiantes- Sulfonilureas	Clorpropamida	2- Hidroxilación	40-60
	Glicazida	6- y 7- Hidroxilación	30-40
	Glimepirida	p-Metil Hidroxilación	>80
	Glipizida	4-trans- Hidroxilación	30-40
	Gliburida (Glibenclamida)	2-, 3- and 4-trans- Hidroxilación, 3- y 4-cis- Hidroxilación	20-30
AINES (Antiinflamatorios no esteroideos)	Tolbutamida	4´- Metil Hidroxilación	78-93
	Aceclofenaco	4´- Hidroxilación	20-40
	Ácido acetilsalicílico	C- Hidroxilación	10-20
	Diclofenaco	4´- Hidroxilación	15-25
	Etodolaco	6- y 7- Hidroxilación	60-80
	Flurbiprofeno	4´- Hidroxilación	40-60
	Ibuprofeno	2- y 3- Hidroxilación	30-40
	Zaltoprofeno	Sulfoxidación y 10- Hidroxilación	60-70
Compuestos endógenos	17a -Ethinylestradiol	2-, 4-, 6- 16a - Hidroxilación	10-20
	Testosterona	11β - y 17β - Hidroxilación	5-15
	Melatonina	6- Hidroxilación	5-10
	Progesterona	21- Hidroxilación	10-15
Antihipertensivos	Irbesartán	3β y ω -1- Hidroxilación y N-dealquilación	20-30
	Losartán	Oxidaciónn (grupo 5-alcohol)	50-70
Antiepiléticos	Fenitoína	3´ y 4´- Hidroxilación	20-40
Antibióticos	Sulfametoxazol	N ⁴ - Hidroxilación	50-70

Modificado de ²⁹

**Tabla 3. Descripción de diferentes variantes alélicas del gen CYP2C9**

Alelo	Cambio de nucleótido	Cambio en la proteína	Efecto en la actividad de la enzima		Alelo	Cambio de nucleótido	Cambio en la proteína	Efecto en la actividad de la enzima	
			<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>				<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
<i>CYP2C9*1A</i>	Ninguno	Ninguno	Normal	Normal	<i>CYP2C9*21</i>	89C>T	P30L		
<i>CYP2C9*2</i>	430C>T	R144C		Disminuye	<i>CYP2C9*22</i>	121A>G	N41D		
<i>CYP2C9*3</i>	1075A>C	I359L	Disminuye	Disminuye	<i>CYP2C9*23</i>	226G>A	V76M		
<i>CYP2C9*4</i>	1076T>C	I359T			<i>CYP2C9*24</i>	1060G>A	E354K		
<i>CYP2C9*5</i>	1080C>G	D360E	Disminuye	Disminuye	<i>CYP2C9*25</i>	353_362de IAGAAATG GAA	118Frameshi ft		Ninguno
<i>CYP2C9*6</i>	818delA	273Frame shift	Ninguno		<i>CYP2C9*26</i>	389C>G	T130R		Disminuye
<i>CYP2C9*7</i>	55C>A	L19I			<i>CYP2C9*27</i>	449G>T	R150L		
<i>CYP2C9*8</i>	449G>A	R150H	Disminuye	Incrementa Disminuye	<i>CYP2C9*28</i>	641A>T	Q214L		Disminuye
<i>CYP2C9*9</i>	752A>G	H251R			<i>CYP2C9*29</i>	835C>A	P279T		
<i>CYP2C9*10</i>	815A>G	E272G			<i>CYP2C9*30</i>	1429G>A	A477T		Disminuye
<i>CYP2C9*11A</i>	1003C>T	R335W	Disminuye	Disminuye	<i>CYP2C9*31</i>	980T>C	I327T		
<i>CYP2C9*11B</i>	1003C>T	R335W		Disminuye	<i>CYP2C9*32</i>	1468G>T	V490F		
<i>CYP2C9*12</i>	1465C>T	P489S		Disminuye	<i>CYP2C9*33</i>	395G>A	R132Q		Disminuye
<i>CYP2C9*13</i>	269T>C	L90P	Disminuye	Disminuye	<i>CYP2C9*34</i>	1004G>A	R335Q		
<i>CYP2C9*14</i>	374G>A	R125H		Disminuye	<i>CYP2C9*35</i>	374G>T; 430C>T	R125L; R144 C		Ninguno
<i>CYP2C9*15</i>	485C>A	S162X		Ninguno	<i>CYP2C9*36</i>	1A>G	START1V		
<i>CYP2C9*16</i>	895A>G	T299A		Disminuye	<i>CYP2C9*37</i>	146A>G	D49G		
<i>CYP2C9*17</i>	1144C>T	P382S			<i>CYP2C9*38</i>	287G>C	G96A		
<i>CYP2C9*18</i>	1075A>C; 1190A>C; 1425A>T	I359L; D397 A		Disminuye	<i>CYP2C9*39</i>	293G>T	G98V		
<i>CYP2C9*19</i>	1362G>C	Q454H			<i>CYP2C9*40</i>	329T>C	F110S		
<i>CYP2C9*20</i>	208G>C	G70R			<i>CYP2C9*41</i>	356A>G	K119R		



Tabla 3. Continuación - Descripción de diferentes variantes alélicas del gen CYP2C9

Alelo	Cambio de nucleótido	Cambio en la proteína	Efecto en la actividad de la enzima	
			<i>In_vivo</i>	<i>In vitro</i>
<i>CYP2C9*42</i>	371G>A	R124Q		
<i>CYP2C9*43</i>	370C>T	R124W		
<i>CYP2C9*44</i>	389C>T	T130M		
<i>CYP2C9*45</i>	394C>T	R132W		
<i>CYP2C9*46</i>	445G>A	A149T		
<i>CYP2C9*47</i>	488C>T	P163L		
<i>CYP2C9*48</i>	620T>C	I207T		
<i>CYP2C9*49</i>	664A>G	I222V		
<i>CYP2C9*50</i>	679C>T	P227S		
<i>CYP2C9*51</i>	850A>G	I284V		
<i>CYP2C9*52</i>	896C>G	T299R		
<i>CYP2C9*53</i>	949C>T	P317S		
<i>CYP2C9*54</i>	1029C>A	S343R		
<i>CYP2C9*55</i>	1081C>A	L361I		
<i>CYP2C9*56</i>	1159A>G	I387V		
<i>CYP2C9*57</i>	610A>C	N204H		
<i>CYP2C9*58</i>	1009C>A	P337T		

Sin estudios realizados

En los espacios en blanco aún no se han realizado estudios para conocer el fenotipo de la proteína

Modificado de ³⁰



3.3 Polimorfismos y fenotipo metabolizador

La capacidad del CYP2C9 y en general del sistema citocromo P450 para metabolizar un fármaco u otro sustrato no es igual en todos los miembros de una población, la conversión metabólica y la tasa de excreción de fármacos varían entre individuos. La existencia de polimorfismos se identificó inicialmente a nivel del fenotipo mediante estudios *in vivo*. Los individuos con una capacidad de eliminación disminuida, son portadores del fenotipo metabolizador lento (*poor metabolizer*: PM), la otra corresponde a los que poseen el fenotipo metabolizador rápido (*extensive metabolizer*: EM) y finalmente, también se ha descrito la existencia de individuos con una capacidad de eliminación muy rápida, este metabolismo es denominado metabolizador ultrarrápido (*ultrarapid metabolizer*: UM)³¹. Cada fenotipo metabolizador tiene implicaciones en el tipo de respuesta y los más susceptibles a presentar reacciones adversas a dosis típicas con los que portan un fenotipo PM (Figuras 9 y 10).

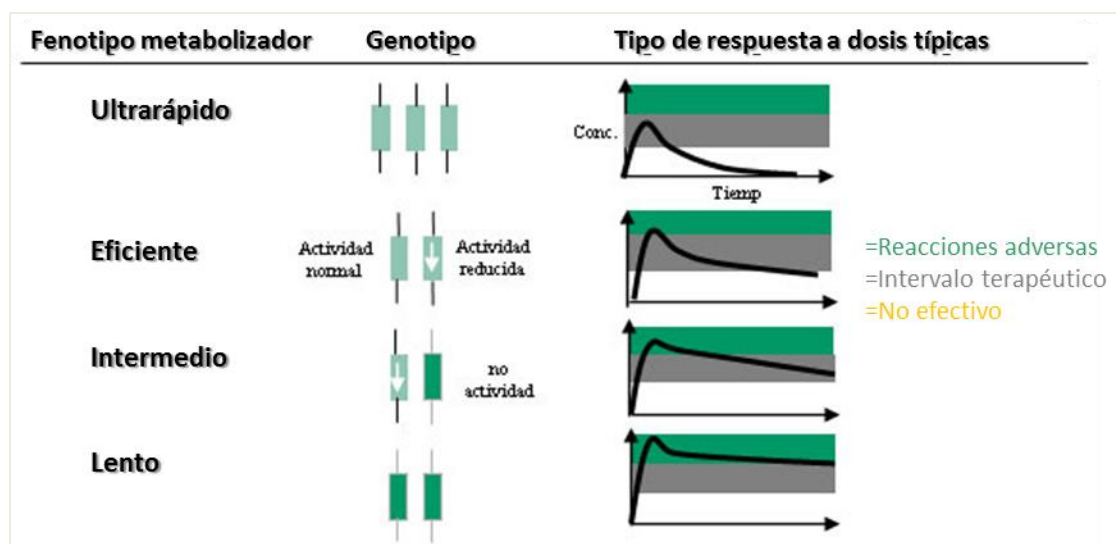


Figura 9. Tipo de respuesta de acuerdo al fenotipo metabolizador.

Modificado de ³²

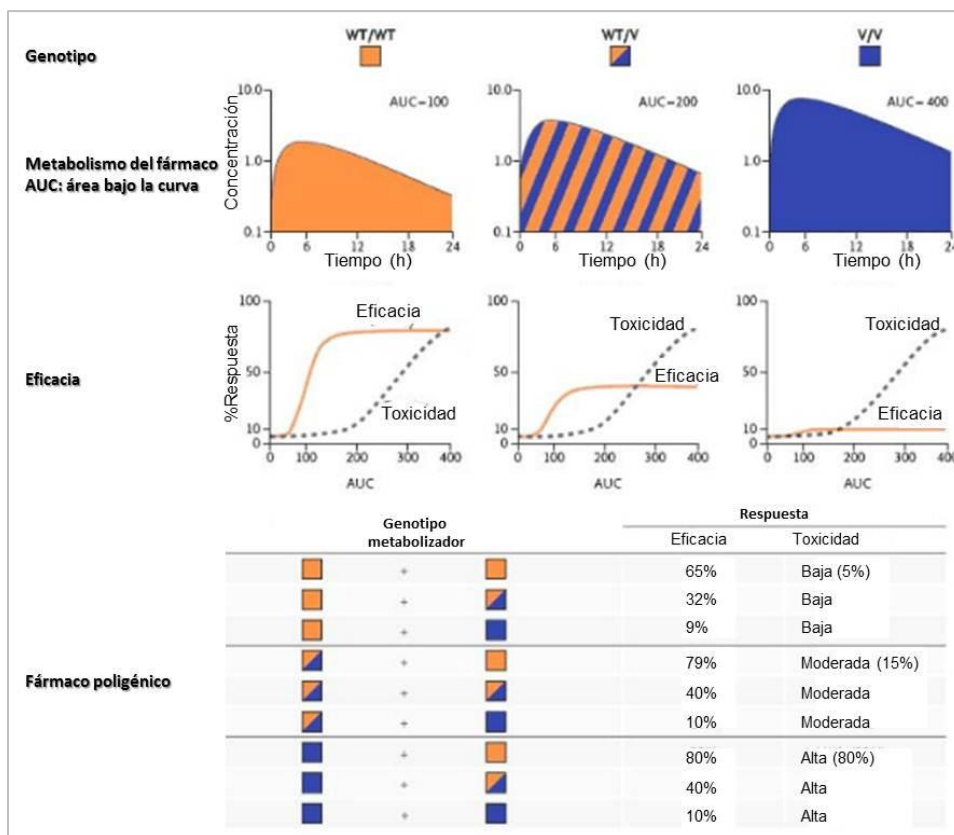


Figura 10. Relación entre el genotipo, eficacia y respuesta al fármaco.

Modificado de ⁷

Los cambios en la actividad metabólica causada por variantes genéticas en el CYP2C9 juegan un papel importante en la patogénesis causada por reacciones adversas a los medicamentos. La frecuencia de las variantes funcionales es relativamente baja. Sin embargo, estas variantes son de gran relevancia clínica, debido a que diversos fármacos que metaboliza CYP2C9 tienen una ventana terapéutica estrecha. Así, los pacientes con baja actividad enzimática se encuentran en riesgo de presentar reacciones adversas a un medicamento, entre los fármacos que destacan son la S-warfarina, fenitoína, glipizida y tolbutamida^{33, 34}. La farmacogenómica proporciona una posible ampliación de la ventana terapéutica prescribiendo dosis personalizadas a los pacientes reduciendo la probabilidad para determinados pacientes de presentar reacciones adversas a los fármacos (Figura 11).

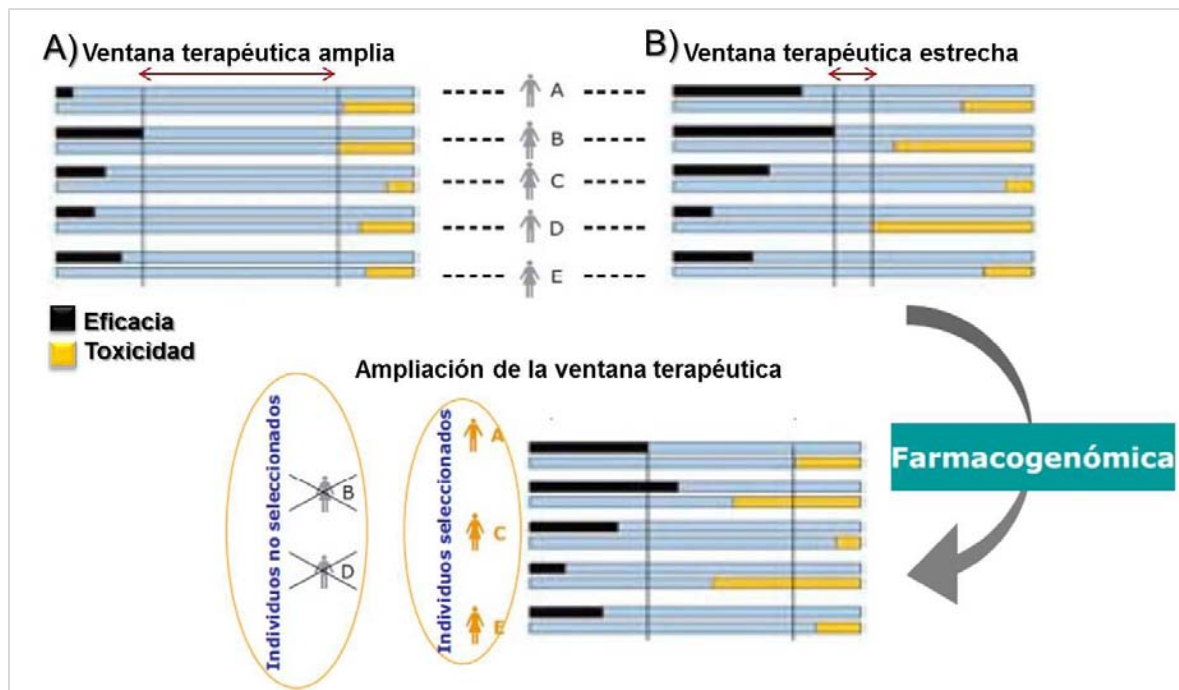


Figura 11. Estrecha ventana terapéutica de medicamentos.

A) En una amplia ventana terapéutica se encontrarían los fármacos ideales, por el contrario en B) es donde se encuentran la mayoría de los medicamentos, donde la medicina personalizada daría pie a una ampliación de la ventana terapéutica. Modificado ³⁵



3.4 Variantes importantes de *CYP2C9*: *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*

Las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* han sido dos de los polimorfismos más estudiados del gen *CYP2C9* y son de gran importancia debido a que se han asociado con una actividad disminuida de *CYP2C9*. Cada variante alélica (*CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*) posee una sustitución de un solo nucleótido, llevando en ambas a la reducción de la actividad catalítica de la enzima, con un mayor impacto en la variante *CYP2C9*3*^{12, 31}. La presencia de cualquiera de las variantes *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3* se ha asociado con mayor riesgo de presentar eventos graves o potencialmente mortales en pacientes tratados con distintos fármacos que se metabolizan por esta enzima.

CYP2C9*2

Una de las primeras variantes estudiadas y común es el *CYP2C9*2*. Esta variante ubicada en el exón 3 del gen que codifica para *CYP2C9*, es el alelo que define el haplotipo *CYP2C9*2* (Figura 12). Se debe al cambio del nucleótido 430 C por el nucleótido T (430C>T), provocando la sustitución del aminoácido 144 arginina por cisteína (R144C)^{18, 27}. (Tabla3).



Figura 12. Ubicación de la variante funcional *CYP2C9*2*.

Modificado de ²⁹



CYP2C9*3

La variante *CYP2C9*3* está ubicada en el exón 7 del gen que codifica para CYP2C9, es el alelo que define el haplotipo *CYP2C9*3* (Fig. 13). Se debe al cambio del nucleótido 1075 A por el nucleótido C (1075A>C), provocando la sustitución del aminoácido 359 isoleucina por leucina (I 359 L)^{18, 27} (Tabla3).

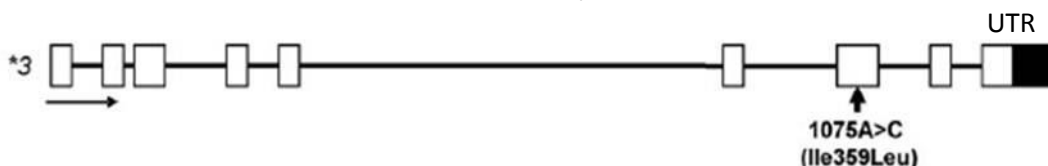


Figura 13. Ubicación de la variante funcional CYP2C9*3.

Modificado de ²⁹

Tabla 4. Descripción de los polimorfismos *2 y *3 y fármacos alterados en su metabolismo.

Polimorfismo	CYP2C9*2	CYP2C9*3
*Gen	Citocromo <i>P450 2C9</i>	Citocromo <i>P450 2C9</i>
*ID (rs)	rs1799853	rs1957910
*Cambio de nucleótido	C > T	A > C
*Cambio de proteína	Arginina > Cisteína	Isoleucina > Leucina
*Efecto en el metabolismo de los fármacos		Disminución en la depuración de diversos fármacos de importancia clínica
*Fármacos alterados/ ¿Existe algoritmo de dosis?		-Warfarina/Sí, aprobado por FDA -Acenocumarol/Sí, revisar a partir de INR° -Fenitoína/ Sí, dependiendo el genotipo se reduce del 25% al 50% de la dosis. Seguido de una revisión en suero de los niveles del metabolito. Glibenclamida, glimepirida, gliclazida y tolbutamida/No existe adaptación de dosis.

°Radio internacional de normalización



3.5 Fenotipo de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* y reacciones adversas

La variación genética en *CYP2C9* es considerada como uno de los factores causales de las reacciones adversas de medicamentos que tienen un estrecho índice terapéutico. *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* son unas de las variantes más importantes que codifican para para proteínas con una actividad enzimática disminuida. Entre las reacciones adversas provocadas por estas variantes, se encuentran eventos de hipoglucemia como resultado del tratamiento de fármacos hipoglucemiantes; sangrados gastrointestinales debidos a la administración de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos y sangrados severos provenientes de tratamientos anticoagulantes; antagonistas de la vitamina K como warfarina y acenocumarol son comúnmente usados para prevenir trombosis. La warfarina es probablemente el fármaco más estudiado a fondo junto con la variante VKORC 1 (Subunidad 1 del complejo vitamina K epóxido reductasa) en farmacogenética.

*CYP2C9*2* causa alrededor del 20 al 30% de pérdida de actividad enzimática en comparación con el tipo silvestre *CYP2C9*1*. Diversos estudios han asociado esta variante a requerimientos de dosis bajas con diversos fármacos como la warfarina. La presencia de la variante *CYP2C9*3* puede reducir la actividad de velocidad máxima (V_{max}) hasta un 70% provocando un metabolismo lento para los fármacos que son sustrato del *CYP2C9*.

Individuos homocigotos para el alelo *CYP2C9*3* (**3/*3*) se han relacionado con requerimientos de dosis más bajas y altos niveles plasmáticos de los fármacos fenitoína, tolbutamida, losartán y warfarina debido a que metabolizan de manera mucho más lenta los sustratos. De manera similar, individuos que son homocigotos para *CYP2C9*2* o poseen ambas variantes (**2/*2*, **2/*3* respectivamente), tienen un mayor riesgo a presentar efectos adversos severos. Incluso los que poseen el genotipo heterocigoto para cada



una de las variantes llegan a presentar reacciones adversas. La posible pérdida de función es probable que sea debido a cambios conformacionales en la enzima que reduzcan la capacidad de la proteína de unirse al sustrato²⁹.

Capítulo 4: Farmacogenética de las sulfonilureas: un tratamiento para el control de la diabetes tipo 2

La diabetes es un conjunto de enfermedades metabólicas caracterizadas por la presencia de niveles elevados de glucosa en sangre. La diabetes tipo 2, es causada por una combinación de resistencia a la acción de la insulina, y una inadecuada respuesta compensatoria del páncreas³⁶. Durante las últimas décadas el número de personas que padecen diabetes en México se ha incrementado y actualmente figura entre las primeras causas de muerte en el país. En 2012 se identificaron 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, de los cuales el 84.7% reportó recibir tratamiento farmacológico oral para controlar la hiperglicemia³⁷.

Existe una gran diversidad de tratamientos no farmacológicos y farmacológicos documentados para el control de la hiperglicemia. Intervenciones en el estilo de vida como lo son la dieta y el ejercicio son efectivos³⁸; sin embargo, cuando estos tratamientos fallan, los fármacos hipoglucemiantes orales son la primera línea de tratamiento³⁹, dentro de estos se encuentran las biguanidas, insulina, sulfonilureas, tiazolidinedionas, péptido 1 similar al glucagón, **inhibidores del α -glucosidasa**, secretagogos de insulina no sulfonilureas, agonistas de amilina e inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP)-4 (Tabla 5).

**Tabla 5. Fármacos hipoglucemiantes prescritos en la diabetes tipo 2.**

Clasificación farmacológica	Fármaco
∩ Biguanidas	Métfomina
∩ Hormonas	Insulina
∩ Sulfonilureas	Tolbutamida Clorpropamida Acetohexamida Glibenclamida Glipizida Glicazida Glimepirida
∩ Tiazolidinedionas	Pioglitazona Rosiglitazona
∩ Péptido 1 similar al glucagón	Exenatida
∩ Inhibidores del α-glucosidasa	Acarbosa Miglitol
∩ Secretagogos de insulina no sulfonilureas	Repaglinida Nateglinida
∩ Agonistas de amilina	Pramlintida
∩ Inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP)-4	Sitagliptina

Modificada de ³⁸

Las **sulfonilureas (SU)** son secretagogos de insulina que estimulan la secreción de insulina en las células β -pancreáticas y son metabolizadas principalmente en el hígado mediante el CYP2C9. Han sido utilizadas por más de 50 años siendo la hipoglicemia y el aumento de peso, los efectos más comunes de este grupo de fármacos⁴⁰. Las SU son un grupo de fármacos arilsulfonilureas⁴¹ que, difieren por sustituciones en la posición p del anillo benceno y en el residuo nitrogenado de la urea que no está unido al grupo



sulfonilo (Figura 14). Mecanísticamente, estos fármacos se unen a los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) **en las células β -pancreáticas**. Los canales K_{ATP} están conformados por cuatro subunidades SUR1 y cuatro subunidades Kir 6.2. Al unirse las sulfonilureas a su receptor (SUR 1) se cierran los canales K_{ATP} incrementando la concentración de potasio **intracelular despolarizando la membrana de la célula β -pancreática**, y la subsecuente apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. El **calcio dentro de la célula β , estimula el movimiento de los gránulos secretores** que contienen insulina a la superficie celular, liberando la insulina a circulación. En pocas palabras, las sulfonilureas estimulan la liberación de insulina de una manera independiente de la concentración de glucosa.

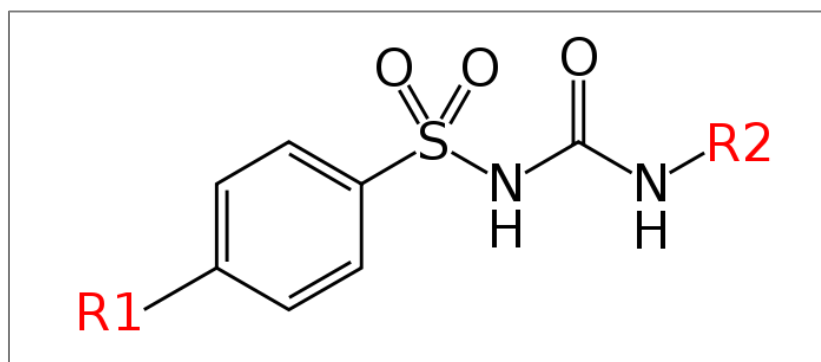


Figura 14. Estructura química del núcleo de las sulfonilureas

Si bien las sulfonilureas son efectivas como agentes hipoglicemiantes, los polimorfismos genéticos pueden contribuir a la variabilidad interindividual en la respuesta y disposición a las sulfonilureas. Las variantes ya mencionadas ***CYP2C9*3*** (Ile359Leu) y ***CYP2C9*2*** (Arg144Cys), influyen en la farmacocinética de diversos fármacos pertenecientes a este grupo. La hipoglicemia es un efecto adverso provocado por las sulfonilureas. El desequilibrio en el metabolismo de estos fármacos puede ser debido a polimorfismos en genes ***CYP2C9***, diversos estudios han asociado que pacientes diabéticos portadores de ***CYP2C9*2*** y/o ***CYP2C9*3*** presentan un mayor riesgo a sufrir eventos hipoglicemiantes^{42, 43}.



En relación al manejo de la hiperglicemia, la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) declaró en 2012 que la atención a los pacientes con diabetes tipo 2 debe ser más centrada e individualizada y el tratamiento basado en las variaciones genéticas tiene un gran potencial⁴⁴. La utilidad clínica de la variabilidad genética para adaptar medicamentos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 recae en la identificación de interacciones farmacogenéticas sustanciales y estadísticamente significativas de estudios internamente validados y la confirmación de estos hallazgos en diferentes poblaciones considerando en la variabilidad étnica de estas.

Capítulo 5: Frecuencia genotípica de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en población mundial

La distribución de las variantes alélicas dentro de *CYP2C9* en diferentes grupos étnicos varían (Tabla 6). Las frecuencias alélicas del alelo menor (MAF) global para el *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* son aproximadamente de 7% y 4% respectivamente. Muy baja frecuencia de los alelos de ambas variantes se han reportado en las poblaciones asiáticas y africanas. Por el contrario, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* parecen ser más frecuentes en poblaciones caucásicas^{28, 31}

**Tabla 6. Frecuencia de las variantes *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3 en diferentes grupos étnicos distribuidos en el mundo**

País o grupo étnico	No. De sujetos (n)	Frecuencia alélica (%)			Frecuencia Genotípica (%)					Referencia
		*1	*2	*3	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3	
Caucásicos										
Americanos-Caucásicos	100	86.0	8.0	6.0	16.0	12.0	0	0	0	Sullivan-Klose et al. (1996)
Americanos-Caucásicos	461	90.3	9.7	0	-	-	-	-	-	London et al. (1996)
Americanos-Caucásicos	140	82.5	13.2	4.3	22.1	8.6	2.1	0	0	Dickmann et al. (2001)
Americanos-Caucásicos	200	82.5	9.8	7.8	15.1	9.7	2.2	1.6	2.7	Higashi et al. (2002)
Bélgica	121	82.2	10.0	7.4	18.2	11.6	0	1.6	0.8	Allabi et al. (2003)
Brasil	103	83.0	9.7	7.3	16.5	11.6	1.0	1.0	1.0	Lima et al. (2008)
Brasil	331	84.9	8.6	6.5	14.5	10.9	0.9	0.9	0.6	Scordo et al. (2002)
Gran Bretaña	561	84.1	10.6	5.3	19.1	9.4	0.5	1.1	0	Taube et al. (2000)
Gran Bretaña	94	80.9	19.1	0						Furuya et al. (1995)
Gran Bretaña	100	79.0	12.5	8.5	19.0	15.0	3.0	0	1	Stubbins et al. (1996)
Canadá	325	78.0	15.0	7.0	20.3	15.7	1.2	1.6	0	Gaedigk et al. (2001)
Egipto	247	82.0	12.0	6.0	19.0	11.7	2.4	0	0	Hamdy et al. (2002)
Islas Feroe	311	81.2	18.8	0	17.7	10.6	0	1.6	0	Halling et al. (2005)
Alemania	127	86.6	13.4	0						Xie et al. (2002)
Alemania	108	81.0	14.0	5.0						Burian et al. (2002)
Alemania	367	81.5	10.7	7.8						Xie et al. (2002)
Israel	156	84.0	10.0	6.0	17.9	12.8	0	1.3	0	Loebstein et al. (2001)
Italia	157	77.8	12.5	0.97	16.8	14.0	2.5	1.9	1.3	Scordo et al. (2001)
Italia	93	74.7	12.4	12.9	16.1	17.2	2.2	4.3	2.2	Scordo et al. (2002)
Portugal	135	78.8	13.2	8.0	-	-	-	-	-	Oliveira et al. (2007)



Rusia	290	83.9	9.1	7.0	18.3	11.3	0.7	1.4	0.3	Gaikovitch et al. (2003)
España	157	69.4	14.3	16.2	15.9	23.5	1.9	8.9	0	Garcia-Martin et al. (2001)
España	102	74.5	15.6	9.8	19.6	13.7	3.9	3.9	1.0	Dorado et al. (2003)
España	70	70.0	10.7	19.3	17.1	25.7	1.4	1.4	5.7	Llerena et al. (2003)
España	89	77.9	14.1	8.0	23.6	11.2	2.3	1.1	1.1	Llerena et al. (2003)
España	138	78.1	14.6	7.3	19.6	11.6	2.9	2.9	0.7	Llerena et al. (2003)
España	64	72.7	14.8	12.5	21.9	17.2	3.1	1.5	3.1	Llerena et al. (2004a)
España	355	71.0	19.0	10.0	28.2	15.5	3.1	2.8	1.1	Martinez et al. (2005)
España	200	81.8	12.0	6.2	22.0	12.5	1.0	0	0	Mas et al. (2005)
España	142	78.5	13.7	7.7	19.0	9.6	2.8	2.8	1.4	Dorado et al. (2008)
Suecia	430	81.9	10.7	7.4	18.6	11.6	0.5	1.9	0.7	Yasar et al. (1999)
Suecia	201	82.3	11.2	6.5						Wadelius et al. (2004)
Turquía	499	79.4	10.6	10.0	18.0	17.2	1.0	1.1	0.8	Aynacioglu et al. (1999)
Turquía	85	-	-	-	11.8	14.1	3.5	1.2	1.2	Babaoglu et al. (2004)
Turquía	205	76.8	12.7	9.8	18.5	13.7	1.5	3.9	1.0	Oner Ozgon et al. (2008)
Africanos										
Africanos-Americanos	100	98.5	1.0	0.5	2.0	1.0	0	0	0	Sullivan-Klose et al. (1996)
Africanos-Americanos	123	-	-	-	5.0	2.5	0	0	0	Dickmann et al. (2001)
Africanos-Americanos	110	96.2	0	1.5						Xie et al. (2002)
Africanos-Americanos	115	85.0	5.0	5.0						Momary et al. (2007)
Africanos-Americanos	239	96.4	3.6	0						
Bélgica-Benin	111	-	-	-	0	0	0	0	0	Allabi et al. (2003)
Etiopía	150	94.0	4.0	2.0	8.7	4.6	0	0	0	Scordo et al. (2001)
Asiáticos										
China	135	100	0	0						Wang et al. (1995)
China	115	98.3	0	1.7	0	3.0	0	0	0	Wang et al. (1995)
China	102	95.0	0	5.0	0	10.8	0	0	0	Gaedigk et al. (2001)



China	711	96.2	0	3.8	0	7.6	0	0	0	Hong et al. (2005)
China	376	96.7	0	3.3	0	6.6	0	0	0	Hong et al. (2005)
China	178	95.5	0	4.5	0	8.9	0	0	0	Miao et al. (2007)
Japón	218	97.9	0	2.1	0	4.1	0	0	0	Nasu et al. (1997)
Japón	86	98.3	0	1.7						
Japón	140	98.2	0	1.8	0	3.6	0	0	0	Kimura et al. (1998)
Korea	574	98.9	0	1.1	0	2.3	0	0	0	Yoon et al. (2001)
Korea	358	93.4	0	6.0	0	12.0	0	0	0	Bae et al. (2005)
Malasia	191	93.2	0	6.8						Ngow et al. (2008)
Taiwán	98	97.4	0	2.6	0	8.2	0	0	0	Sullivan-Klose et al. (1996)
Otras poblaciones										
Bolivia	778	92.2	4.8	3.0	9.3	5.7	0	0.4	0	Bravo-Villalta et al. (2005)
Indios Nativos - Canadá	114	91.0	3.0	6.0	6.1	11.4	0	0	0	Gaedigk et al. (2001)
Canada-inuit	151	100	0	0	0	0	0	0	0	Gaedigk et al. (2001)
Irán	160	79.3	11.0	9.7	17.5	13.7	2.5	0	1.9	Peyvandi et al. (2002)
Irán	200	87.2	12.8	0	10.5	0	7.5	0	0	Zand et al. (2007)
Omani	189	89.7	7.4	2.9	12.7	5.8	1.1	0	0	Tanira et al. (2007)
Tamilian	135	90.7	2.6	6.7	4.4	12.7	0	0.7	0	Adithan et al. (2003)

*1 *Wilde type*, *2 variante *CYP2C9*2*, *3 variante *CYP2C9*3*; *1/*2, *1/*3 genotipos heterocigoto; *2/*2, *3/*3 genotipos homocigotos y *2/*3 portadores de ambas variantes genotípicamente heterocigotos. Modificado de ²⁹



Capítulo 6: Estudios de variabilidad genética en población indígena mexicana.

México es considerado una nación pluricultural donde se comparte un gran acervo de lenguas, tradiciones, fuentes de conocimiento, creatividad, diversos territorios, y culturas e historias particulares. Esta diversidad se basa en la coexistencia de múltiples pueblos indígenas, que se distinguen por sus diferentes formas de pensar, de actuar y de representar el mundo.

México cuenta con 11 millones 132 mil 562 habitantes indígenas, cifra que representa aproximadamente el 10% de la población total del país. De acuerdo a la Comisión Nacional de Desarrollo para los pueblos Indígenas, en México existen 62 pueblos indígenas y el Instituto Nacional de Lenguas Indígenas (INALI) identificó la existencia de 11 familias lingüísticas indoamericanas (figura 15), que tienen presencia en México con al menos una de las lenguas que las integran, 68 agrupaciones lingüísticas correspondientes a dichas familias; y 364 variantes lingüísticas pertenecientes a este conjunto de agrupaciones^{45, 46} (Tabla 7).

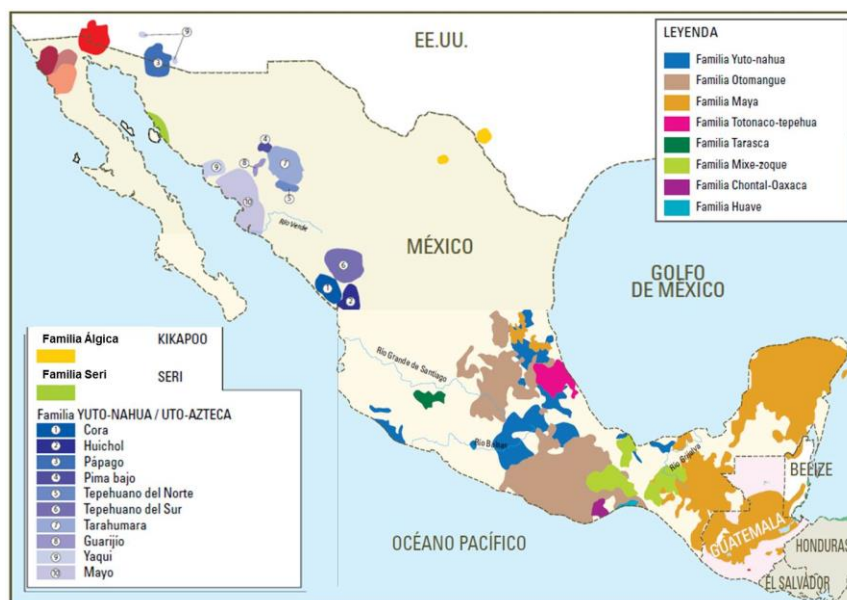


Figura 15. Distribución de las once familias lingüísticas indoamericanas en México.

Modificado de ⁴⁷

**Tabla 7. Variantes lingüísticas clasificadas de acuerdo a la familia a la que pertenecen¹**

FAMILIAS LINGUISTICAS										
Variantes lingüísticas										
I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Álgica	Yuto-nahua	Cochimí-yumana	Seri	Oto-mangue	Maya	Totonaco-tepehua	Tarasca	Mixe-zoque	Chontal de Oaxaca	Huave
Kickapoo	Cora	Cucapá	Seri	Amuzgo	Chontal de Tabasco	Tepehua	Tarasco	Ayapaneco	Chontal de Oaxaca	Huave
	Guarijío	Kiliwa		Cuicateco	Akateko	Totonaco		Mixe		
	Huichol	Kumiai		Chatino	Awakateko			Oluteco		
	Mayo	Ku'ahl		Chichimeco jonaz	Chuj			Popoloca de la Sierra		
	Náhuatl	Paipai		Chinanteco V	Ch'ol			Sayulteco		
	Pápago			Chocholteco	Ixil			Texistepequeño		
	Pima			Ixcateco	Huasteco			Zoque		
	Tarahumara			Matlatzinca	Jakalteco					
	Tepehuano del norte			Mazahua	Kaqchikel					
	Tepehuano del sur			Mazateco	K'iche'					
	Yaqui			Mixteco	Lacandón					
				Otomí	Mam					
				Pame	Maya					
				Popoloca	Qato'k					
				Triqui	Q'anjob'al					
				Tlahuica	Q'eqchí'					
			Tlapaneco	Teko						
			Zapoteco	Tojolabal						
				Tseltal						
				Tsotsil						



6.1 Población indígena maya

Los mayas se asentaron en un extenso territorio de casi 400,000 Km², que comprenden los actuales estados de Campeche, Quintana Roo Yucatán, regiones de Tabasco y de Chiapas donde habitan los llamados propiamente mayas, que dieron nombre a todos los integrantes de la familia lingüística denominada maya. Cabe destacar que también abarca pequeños territorios de Guatemala, Belice y porciones occidentales de Honduras y El Salvador. A la gran variedad geográfica del área, corresponde una notable diversidad cultural e histórica; sin embargo, la economía, organización socio-política, las creaciones plásticas, los conocimientos científicos y la religión de los grupos *mayances* presentan semejanzas que permiten a los grupos integrarlos en una unidad cultural⁴⁸. Cada variante de la familia lingüística ha variado de manera significativa, pues las urgencias económicas derivadas de la presión demográfica cada vez mayor sobre tierras agotadas, el deterioro generalizado en el ámbito rural y los procesos de globalización provocan una movilidad creciente en todo el mundo maya, que no se limita a México y Centroamérica, sino que alcanza ya a Estados Unidos y Canadá⁴⁹.

Los mayas de la península de Yucatán son el segundo pueblo mesoamericano de México más importante en relación al número de habitantes indígenas apenas superado por los grupos nahuas. Y tal importancia se acrecienta si se considera que, los nahuas se hallan dispersos en más de una veintena de estados, a diferencia de los mayas que están concentrados en una misma zona.



De acuerdo al censo de población y vivienda 2010, aproximadamente 4, 103,596 de personas habitan en la península de Yucatán, de los cuales cerca del 40% hablan alguna lengua indígena maya⁵⁰. Los tres estados que conforman la península se encuentran entre los siete estados de mayor número de habitantes que hablan lengua indígena (Figura 15).

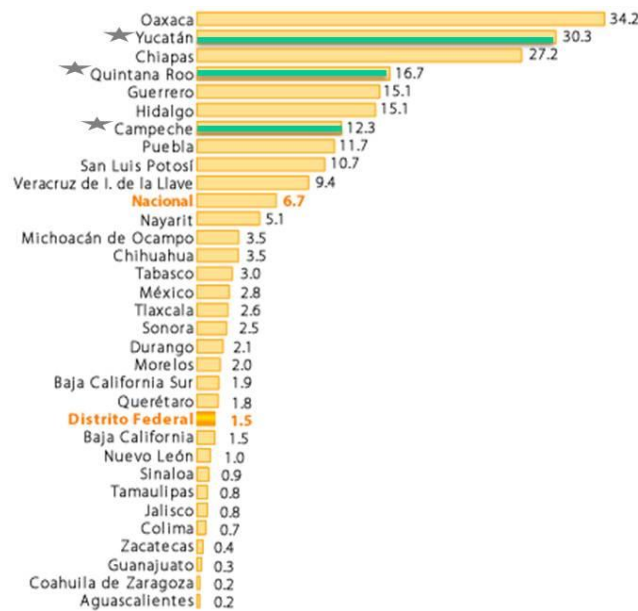


Gráfico 1. Porcentaje de la población que habla lengua indígena por entidad federativa.

Modificado de ⁵¹

Con lo que respecta a las actividades económicas, como pueblos tradicionalmente agricultores, los mayas dedican buena parte de su energía y tiempo, incluido el ritual, a labores relacionadas con el campo. Según las potencialidades del terreno y los intereses del gran capital, se abocan a cultivar henequén, cítricos, flores, chile o leguminosas; casi todos siembran aquellos productos que tienden a permitir la cada vez más inaccesible autosubsistencia alimenticia: maíz, frijol y calabaza, la clásica triada mesoamericana. Estos cultivos posibilitan en ocasiones la obtención de excedentes temporales que se llevan a los mercados. De acuerdo al censo poblacional y vivienda 2010, los sectores de actividad



que más aportan al producto interno bruto (PIB) estatal son la minería y comercio⁵¹.

En el tema de salud, dar un panorama global y fiel de la salud entre los pueblos mayas de la península es particularmente difícil, no tanto por lo que corresponde a los aspectos vinculados con los servicios que en este renglón ofrecen los gobiernos municipales, estatales o federal, sino porque en este rubro debe considerarse lo concerniente a las concepciones mayas acerca del binomio salud/enfermedad y las numerosas y ricas estrategias que estos pueblos han creado para sortear de la mejor manera posible como lo es la medicina tradicional. Más allá de estos datos, que sólo nos hablan indirectamente de las expectativas que pueden albergar los mayas en cuanto a servicios de salud, las principales causas de muerte reportadas en los tres estados de la península de Yucatán son la diabetes tipo 2, enfermedades del corazón y tumores malignos⁵¹.

El estudio de la genética y genómica de los pueblos indígenas como los mayas, puede ser la clave para comprender mejor los problemas nacionales de salud, como la diabetes y la obesidad. Sin duda, determinar el componente genético de estos pueblos puede ser una herramienta útil para tratar o prevenir las enfermedades que son las principales causas de muerte en estas regiones.

En un análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas⁵², se determinó que la población mestiza perteneciente al estado de Yucatán posee un componente ancestral amerindio único y distinto al resto de los otros grupos indígenas, que sólo es de contribución maya.



6.2 Estudios de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en pueblos indígenas

Estudios recientes han determinado las frecuencias alélicas para estos dos polimorfismos en diferentes poblaciones indígenas de México (Tabla 8). Dichos estudios concuerdan en que las frecuencias de los polimorfismos *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* son bajas comparados con poblaciones mestizas mexicanas.

Tabla 8. Frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en poblaciones indígenas y mestizas mexicanas.

Población	n	Frecuencias alélicas		Referencia - Año
		<i>CYP2C9 *2</i>	<i>CYP2C9 *3</i>	
Poblaciones indígenas				
Coras	81	0.000	0.037	²⁷ - 2013
Guarijíos	15	0.000	0.067	²⁷ - 2013
Huichol	107	0.000	0.033	²⁷ - 2013
Huichol	73	0.000	0.000	⁵³ - 2013
Mayos	44	0.057	0.091	²⁷ - 2013
Mexicaneros	38	0.000	0.000	²⁷ - 2013
México-Tepehuanos	99	0.010	0.015	⁵⁴ - 2011
Nahua	212	0.007	0.005	⁵³ - 2013
Purépecha	48	0.000	0.000	⁵³ - 2013
Seris	19	0.026	0.000	⁵³ - 2013
Tepehuanos	127	0.000	0.075	⁵³ - 2013
Teenek	98	0.010	0.005	⁵³ - 2013
Tarahumara	52	0.000	0.000	⁵³ - 2013
Tarahumaras	74	0.000	0.101	⁵³ - 2013
Poblaciones México mestizas				
México-Americanos	98	0.082	0.056	⁵⁵ - 2004
Mestizo-mexicanos	947	0.051	0.040	⁵³ - 2013
Mestizo-mexicanos	102	0.069	0.015	⁵⁴ - 2011

n, número de individuos incluidos en el estudio.



II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos representa un importante problema, tanto para el desarrollo de fármacos como para la prescripción de los mismos en la práctica clínica. Estudios previos en el laboratorio de Diabetes de la Facultad de Química, refieren que la población indígena Maya, tiene una alta incidencia en diabetes tipo 2 y su control metabólico para la regulación de las concentraciones sanguíneas de glucosa es deficiente, por lo que es de esperar que en esta población las complicaciones secundarias de la diabetes sean mayores. Conocer la frecuencia de las variantes **CYP2C9*2** y **CYP2C9*3** será el primer acercamiento para conocer la forma en que la población indígena maya metaboliza los tratamientos para controlar las concentraciones de glucosa y para permitir dar a los pacientes una terapia más segura y eficaz.



III JUSTIFICACIÓN

El conocimiento genético y genómico se debe utilizar con la finalidad de desarrollar medicamentos adecuados en el tratamiento de las enfermedades, tomando en cuenta las diferencias étnicas entre las poblaciones¹². Los grupos indígenas mexicanos forman parte de la gran diversidad étnica que posee nuestro país debido a su trayectoria histórica y a que son genéticamente diferentes a la población mestiza mexicana. Estos pueblos amerindios asumen una mayor importancia porque en promedio el componente genético de los mestizos mexicanos es 70% amerindio⁵². La variabilidad genética está reflejada en la distribución de las frecuencias de los SNPs, en general y para nuestro interés en las variantes de los genes *CYP450*, específicamente *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*. Debido a que la extrapolación de los datos farmacogenéticos provenientes de los mestizos mexicanos no es aplicable en la mayoría de los grupos indígenas, es necesario desarrollar estos estudios en población indígena²⁷.

El presente trabajo se enfoca en dos polimorfismos del Citocromo P450 *2C9*, las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en la población indígena Maya de los tres estados de la Península de Yucatán. Este es el primer estudio farmacogenético realizado en uno de los pueblos indígenas más importantes del país respecto a otros pueblos amerindios. Por otro lado, en México son escasos los estudios de estas variantes (*CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*), y en poblaciones indígenas aún más, es por ello y debido a que el tratamiento oportuno y adecuado de enfermedades como la diabetes son esenciales para lograr un buen control y mejorar la calidad de vida de los pacientes, es necesario dirigir investigaciones en poblaciones indígenas con el objetivo de conocer la farmacogenética y la farmacogenómica de estas poblaciones con el fin de que puedan acceder a los medicamentos apropiados, a dosis apropiadas y con esto mejorar el control metabólico de las enfermedades y no menos importante, evitar las reacciones adversas que pudieran presentarse.



IV HIPÓTESIS

La población indígena maya presenta las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* con una frecuencia significativamente diferente de otras poblaciones indígenas, mestizo mexicanas y del proyecto 1000 Genomas ya reportadas.



V OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la presencia de las variantes alélicas *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en una población indígena Maya.

Objetivos particulares

- ✓ Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en una población indígena Maya.
- ✓ Realizar una comparación de las frecuencias obtenidas de la población Maya de ambos polimorfismos con respecto a la base de datos 1000 Genomas, en poblaciones indígenas y mestizas-mexicanas.
- ✓ Evaluar los parámetros antropométricos y bioquímicos de la población de muestras de población indígena Maya.



VI MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

Se realizó un estudio observacional tipo transversal, para el cual, se calculó el tamaño de muestra con una fórmula para poblaciones finitas:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

n =Tamaño de la muestra

N =Población indígena de la península de Yucatán reportada:
1,571,646⁵⁶

$Z_{\alpha(0.05)}$ = 1.96 – Nivel de confianza al 95%

p =Frecuencia alelo 1 (*CYP2C9*1*)⁵³

q =Frecuencia alelo 2 (*CYP2C9*2* o *CYP2C9*3*)⁵³

d = Error máximo permitido: 0.05

Las frecuencias que se tomaron en cuenta, fueron las reportadas en población mestiza mexicana para ambos alelos.

Tamaño de muestra para *CYP2C9*2* = **75**

Tamaño de muestra para *CYP2C9*3* = **58**

Se evaluaron un total de 199 adultos indígenas no relacionados provenientes de los tres estados de la península de Yucatán (Tabla 9).



Para ser considerados indígenas se tomó en cuenta el criterio lingüístico y que sus familiares hayan habitado en la misma región al menos dos generaciones atrás.

Tabla 9. Distribución de los pueblos indígenas mayas seleccionados.

Estado	n	Pueblos indígenas*
Campeche	60	Dzilbalchén Hecelchakán Pomuch Tenabo
Quintana Roo	75	Sabán
Yucatán	64	Sabacché Papacal San José Oriente Cuzamá

*Ver ANEXO I

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Juárez de México. Todos los individuos incluidos en el estudio fueron informados del propósito y objetivo del mismo, para el cual firmaron una carta de consentimiento informado (ANEXO II).

Muestras de ADN

Una muestra aproximadamente de 5mL de sangre periférica se tomó de cada individuo en un tubo con EDTA. El aislamiento de ADN genómico se realizó utilizando una modificación del método de purificación salina reportado por Miller⁵⁷. El ADN fue obtenido a partir de leucocitos de la sangre total, los cuales se obtuvieron por purificación previa y por centrifugación en gradientes de densidad. Finalmente, el ADN se obtiene



mediante precipitación en presencia de etanol frío y disuelto en agua ultra pura.

El ADN aislado se cuantificó mediante espectroscopia UV. Para conocer la pureza en base a la relación de absorbancia a 260 nm y absorbancia a 280 nm ($\frac{Abs\ 260}{Abs\ 280} nm$), se evaluó la integridad del ADN a través de electroforesis en geles de agarosa al 1% revelado con bromuro de etidio. (ANEXO III)

Genotipificación de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*

La evaluación molecular se llevó a cabo mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR). Se utilizaron sondas Taq-Man validadas (C__25625805_10 para *CYP2C9*2* y C__27104892_10 para *CYP2C9*3*), en el equipo Applied Biosystems® ViiA™ 7 Real-Time PCR System y el software de discriminación alélica de Applied Biosystems® (ANEXO IV).

Determinación de datos antropométricos

A cada individuo se le midió la cintura (cm), la cadera (cm), se registró el peso (Kg) y la talla (m), después se calculó el índice de masa corporal (IMC) mediante la fórmula de Bray que divide el peso entre el cuadrado de la talla (Kg/m^2) e índice cintura cadera (ICC) dividiendo la medida de la cintura entre la cadera. La presión arterial fue evaluada mediante baumanómetros digitales.



Determinación del perfil bioquímico

Una muestra de sangre periférica de aproximadamente 5 mL se extrajo en un tubo sin anticoagulante y gel separador con la finalidad de obtener el suero de cada individuo. A cada persona se le indicó que estuvieran en ayuno de 10 a 12 horas. La concentración sérica de glucosa, colesterol, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos se midió a través de métodos enzimático-colorimétricos. (ANEXO V).

Análisis estadístico

El equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó comparando las frecuencias genotípicas observadas y el valor de las frecuencias esperadas usando utilizando la prueba estadística Chi cuadrada (χ^2). Para ello se utilizó el programa estadístico disponible en

<http://www.husdyr.kvl.dk/htm/kc/popgen/genetica/applets/kitest.htm>.

Las frecuencias alélicas para *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* se determinaron por medio del software estadístico SPSS versión 21.0 para Windows® y fueron comparadas con las frecuencias establecidas en la base de datos 1000 Genomas y las frecuencias ya reportadas en otros pueblos indígenas utilizando la prueba estadística exacta de Fisher considerando una significancia de $p < 0.05$ al 95% de confianza en el programa estadístico disponible en <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.



VII RESULTADOS

Descripción general de la población en estudio

La muestra poblacional Maya de las zonas de Campeche, Quintana Roo y Yucatán, fue de 199 individuos, con una proporción mayor de mujeres (n=163) que hombres (n=36) (Gráficos 2 y 3).

Gráfico 2. Distribución de la población por género.

Femenino
Masculino

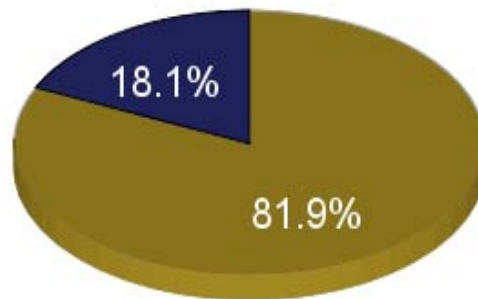
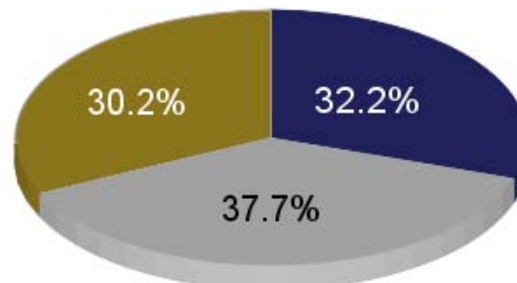


Gráfico 3. Distribución de los 199 individuos de población Maya incluidos en el estudio

Estado/
#Individuos

Campeche	60
Quintana Roo	75
Yucatán	64





Resultados moleculares

Genotipificación

El ensayo de discriminación alélica para ambos polimorfismos se muestra en las Figuras 16 y 17. Las frecuencias genotípicas y alélicas del *CYP2C9* de la población Maya se muestran en la Tabla 10. Se comprobó que la población en estudio cumple con equilibrio de Hardy-Weinberg, el valor de χ^2 calculado para las frecuencias de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* fueron de 0.0205 y 0.1607, respectivamente. Dado que este valor para ambos es inferior al valor de χ^2 al 95% de confianza y un grado de libertad (3.841), se acepta que la población de estudio cumple con el equilibrio de Hardy-Weinberg. No se encontraron individuos homocigotos para las variantes *CYP2C9*2* y/o *CYP2C9*3*.

Tabla 10. Frecuencia genotípica y alélica de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* en población Maya.

SNP/rs	Genotipo CYP2C9	Población Maya n=199				
		n	Frecuencia genotípica ^a	Frecuencia Alélica	IC 95%	
<i>CYP2C9*2</i> <i>rs1799853</i>	C/C	195	0.980			
	C/T	4	0.020	C	0.990	0.980-1.000
	T/T	0	0.000	T	0.010	0.000-0.020
<i>CYP2C9*3</i> <i>rs1057910</i>	A/A	188	0.945			
	A/C	11	0.055	A	0.972	0.956-0.988
	C/C	0	0.000	C	0.028	0.012-0.044

^a Frecuencia alélica observada. La frecuencia alélica esperada se calculó en base al equilibrio de Hardy-Weinberg.
IC 95%, intervalo de confianza con $\alpha=0.05$

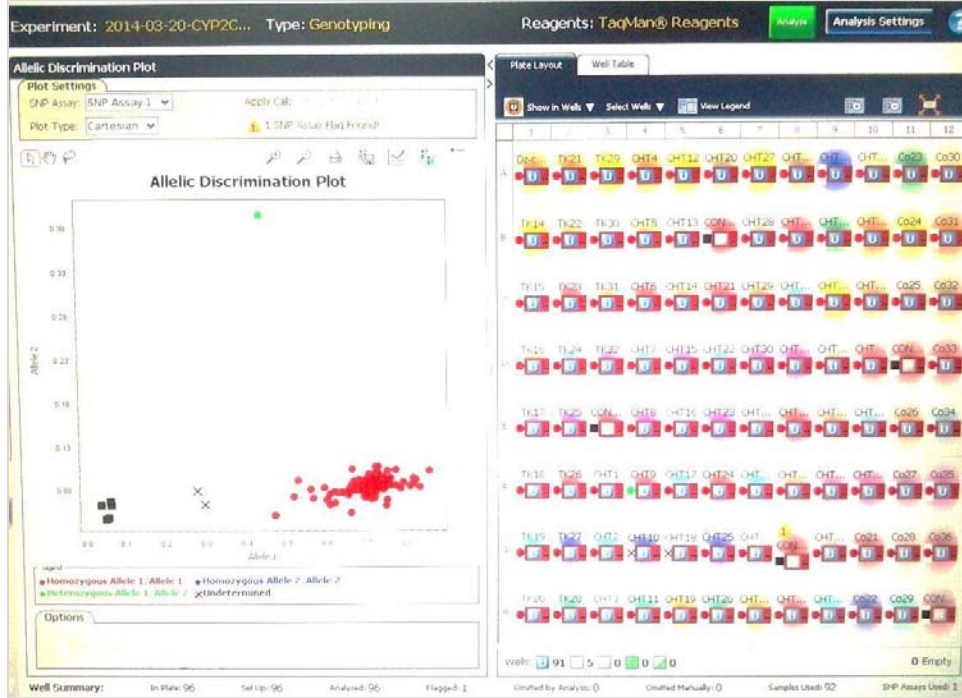


Figura 16. Ensayo de discriminación alélica para CYP2C9*2

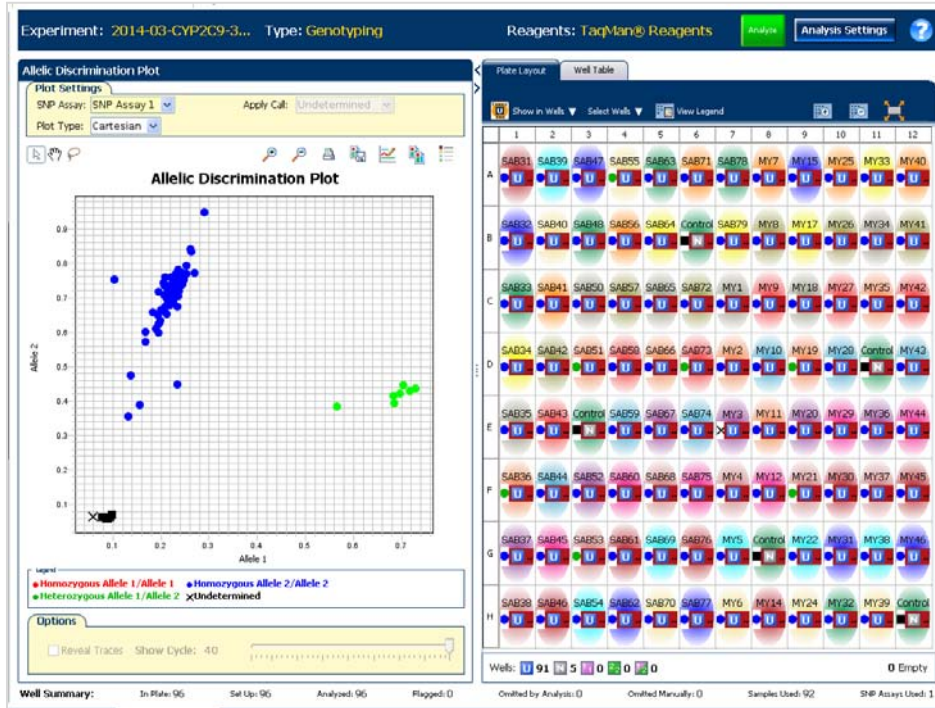


Figura 17. Ensayo de discriminación alélica para CYP2C9*3



En el Gráfico 4 se muestran las frecuencias genotípicas separadas por estado. Se observa que la variante *CYP2C9*3* se presenta en mayor proporción comparada con la variante *CYP2C9*2*. La Tabla 11 muestra que entre las regiones de Quintana Roo y Yucatán existe una diferencia significativa al comparar ambas frecuencias de la variante *CYP2C9*3*, mientras que no se observan diferencias significativas entre en los tres estados respecto a la variante *CYP2C9*2*.

Gráfico 4. Frecuencias genotípicas de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* de la población Maya

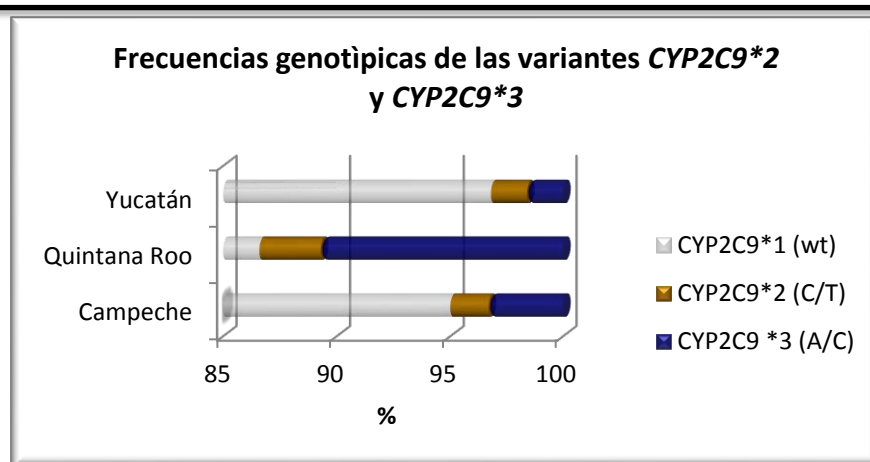


Gráfico 4. Frecuencias genotípicas de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* de la población Maya, por estados (Campeche, Quintana Roo y Yucatán) que la conforman. El gráfico muestra solo el genotipo heterocigoto para ambas variantes y el genotipo homocigoto para el alelo ancestral (wt) de ambas variantes.



Tabla 11. Frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* de la población maya separada por las tres regiones estudiadas.

Estado	Frecuencias alélicas			
	<i>CYP2C9 *2</i> ¹	IC 95%	<i>CYP2C9 *3</i> ¹	IC 95%
Campeche	0.008	0.000-0.025	0.017	0.000-0.040
Quintana Roo	0.013	0.000-0.032	0.053	0.017-0.089
Yucatán	0.008	0.000-0.023	0.008^a	0.000-0.023

^a $p < 0.05$ Comparado con la población de Quintana Roo ($p = 0.04168$) usando la prueba exacta de Fisher. ¹ Frecuencia alélica observada. La frecuencia alélica esperada se calculó en base al equilibrio de Hardy-Weinber. IC 95%, intervalo de confianza con $\alpha = 0.05$

La Tabla 12 muestra la distribución de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* a través de varias poblaciones del mundo reportadas en el proyecto 1000 Genomas y la diferencia en las frecuencias alélicas de estos dos polimorfismos entre estas poblaciones y la población maya. No existen diferencias significativas entre la población de estudio y las regiones del este de Asia para ambas variantes.



Tabla 12. Comparación de la frecuencia alélica de las variantes CYP2C9*2 y CYP2C9*3 de la población Maya contra la base de datos 1000 Genomas

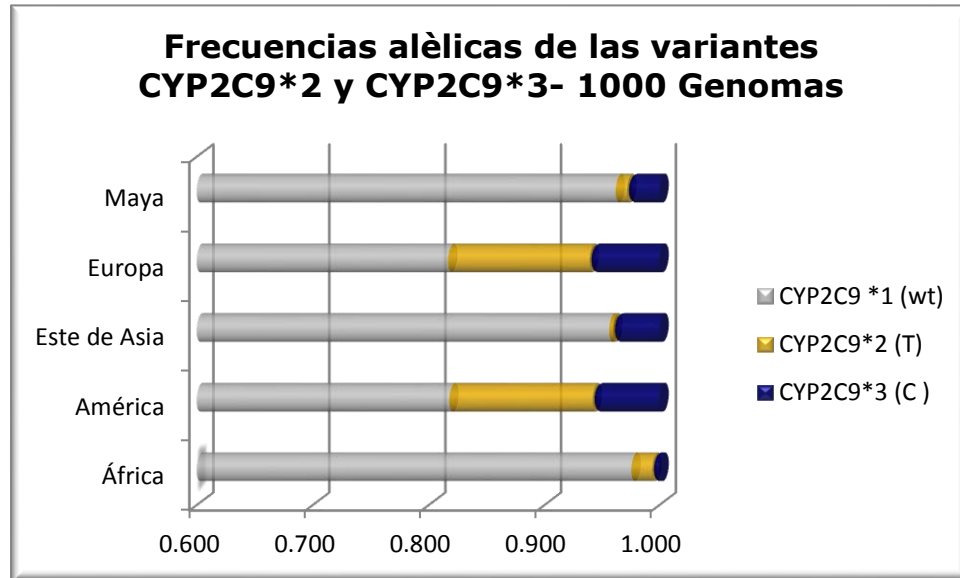
Población	n	CYP2C9 *2		CYP2C9 *3	
		Frecuencia	P	Frecuencia	P
<i>Este estudio</i>					
Maya	199	0.010		0.028	
<i>1000 Genomas</i>					
Europa					
IBS	14	0.143	0.00131^a	0.107	0.14084
CEU	85	0.141	8.823x10-11^a	0.053	0.13405
TSI	98	0.163	1.805x10-14^a	0.066	0.02434^b
GBR	89	0.090	1.323x10-6^a	0.056	0.09125
FIN	93	0.091	8.694x10-7^a	0.059	0.0625
África					
YRI	88	0.000	0.47421	0.000	0.02539^b
LWK	97	0.000	0.42854	0.000	0.02182^b
ASW	61	0.074	8.2x10-4^a	0.025	1.00576
Este de Asia					
CHB	97	0.000	0.42854	0.041	0.37823
JPT	89	0.000	0.46823	0.022	1.00055
CHS	100	0.010	1.03121	0.055	0.09355
América					
MXL	66	0.098	1.0x10-5^a	0.053	0.17169
CLM	60	0.108	4.306x10-6^a	0.083	0.01459^b
PUR	55	0.173	4.344x10-9^a	0.036	0.75602

n Representa el número de individuos

^{a,b} p<0.05 Comparados con la población maya usando la prueba exacta de Fisher



Gráfico 5. Frecuencias alélicas de las variantes *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* reportadas en el proyecto 1000 Genomas divididas por continentes.



En la Tabla 13 se compararon las frecuencias alélicas de la población Maya con otras regiones indígenas, mestizo mexicanas y españolas reportadas entre los años 2004, 2011 y 2013. Las poblaciones mestizo mexicanas muestran una diferencia estadísticamente significativa en comparación con la población Maya para el alelo *CYP2C9*2*. Destaca que la región de Extremadura, España y los mayos de Sonora muestran una diferencia significativa para ambas variantes. El alelo *CYP2C9*3* también presenta una diferencia significativa con las poblaciones nahua, tarahumara y tepehuano⁵⁸ respecto a los mayas.



Tabla 13. Comparación de las frecuencias alélicas de las variantes CYP2C9*2 y CYP2C9*3 de la población maya con otras regiones indígenas ya reportadas

Grupo étnico	n	CYP2C9 *2		CYP2C9 *3	
		Frecuencia	p	Frecuencia	P
Este estudio					
Maya	199	0.010		0.028	
Poblaciones indígenas					
Coras	81	0.000	0.52417	0.037	0.59021
Guarijíos	15	0.000	1.83354	0.067	0.52318
Huichol	107	0.000	0.39485	0.033	0.72323
Huichol	73	0.000	0.83568	0.000	0.05012
Mayos	44	0.057	0.02639^a	0.091	0.01691^b
Mexicaneros	38	0.000	2.08972	0.000	0.31993
Nahua	212	0.007	0.71844	0.005	0.00848^b
Purépecha	48	0.000	1.80387	0.000	0.17607
Seris	19	0.026	0.82889	0.000	1.46897
Tepehuanos	127	0.000	0.21722	0.075	0.00506^b
Tepehuanos	99	0.010	1.03226	0.015	0.40623
Teenek	98	0.010	1.03336	0.005	0.11736
Tarahumara	52	0.000	1.22825	0.000	0.16308
Tarahumaras	74	0.000	0.82696	0.101	0.00032
Poblaciones México mestizas					
México-Americanos	98	0.082	5.422x10-6^a	0.056	0.08391
Mestizo- mexicanos	947	0.051	2.8x10-4^a	0.040	0.2637
Mestizo- mexicanos	102	0.069	0.00006^a	0.015	0.40232
Población europea					
Espanoles Extremadura	327	0.164	3.768x10-15^a	0.075	0.006^b

n Representa el número de individuos

^{a,b} p<0.05 Comparados con la población Maya usando la prueba exacta de Fisher



Resultados antropométricos y bioquímicos

Para tener un panorama más completo que nos permitiera caracterizar a la población Maya, se obtuvieron los datos antropométricos, bioquímicos y hormonales de toda la población. En la Tabla 14 y 15 se muestran las variables antropométricas y bioquímicas, respectivamente, estratificados por diabéticos, no diabéticos e individuos con los niveles de glucosa alterada en ayuno (GAA).

Tabla 14. Datos antropométricos de la población maya

Variable	No diabéticos Media \pm s	Diabéticos Media \pm s	GAA Media \pm s
N	119	32	48
Edad	38.20 \pm 14.60	55.31 \pm 13.86	46.50 \pm 15.15
Cintura (cm)	92.27 \pm 13.28	96.94 \pm 7.23	95.14 \pm 10.49
Cadera (cm)	101.14 \pm 14.51	102.50 \pm 8.60	104.77 \pm 9.30
ICC	0.91 \pm 0.13	0.95 \pm 0.05	0.91 \pm 0.07
Peso (Kg)	62.00 \pm 13.72	61.61 \pm 11.29	65.63 \pm 12.61
Talla (m)	1.46 \pm 0.09	1.46 \pm 0.11	1.47 \pm 0.08
IMC	28.98 \pm 5.83	28.79 \pm 4.09	30.25 \pm 4.48
PAD (mmHg)	79.65 \pm 11.91	86.00 \pm 11.77	80.46 \pm 10.97
PAS(mmHg)	123.65 \pm 18.68	142.24 \pm 28.73	125.24 \pm 16.43

Abreviaturas: n: número de individuos; s: desviación estándar; GAA: glucosa alterada en ayuno; ICC: índice cintura-cadera; IMC: índice de masa corporal; cm: centímetros; Kg: kilogramos; m: metros; mmHg: milímetros de mercurio; PAD: presión arterial diastólica y PAS: presión arterial sistólica.



Tabla 15. Datos bioquímicos de la población maya

Variable	No diabéticos Media \pm s mg/dL	Diabéticos Media \pm s mg/dL	GAA Media \pm s mg/dL
n	119	32	48
Glucosa	89.40 \pm 5.91	200.13 \pm 101.16	109.50 \pm 8.28
Colesterol Total	182.40 \pm 37.19	190.16 \pm 36.10	198.31 \pm 34.50
Triglicéridos	171.06 \pm 93.73	217.97 \pm 113.53	202.08 \pm 105.66
Colesterol HDL	41.11 \pm 10.64	40.64 \pm 7.60	46.23 \pm 12.23
Colesterol LDL	109.00 \pm 31.57	109.54 \pm 34.64	113.42 \pm 29.35

Abreviaturas: n: número de individuos; s: desviación estándar; mg/dL: miligramos sobre decilitro; HDL: lipoproteína de alta densidad y LDL: lipoproteína de baja densidad.

La Tabla 16 muestra los datos antropométricos y bioquímicos de 15 individuos que portan la variante *CYP2C9*2* o *CYP2C9*3*.

Tabla 16. Datos antropométricos y bioquímicos de los individuos que portan la variante *CYP2C9*2* o *CYP2C9*3*.

Variable	No diabéticos Media \pm s	Diabéticos Media \pm s	GAA Media \pm s
n	5	6	4
Edad	29.40 \pm 11.845	57.83 \pm 7.885	49.00 \pm 19.511
ICC	0.8920 \pm 0.07596	0.9500 \pm 0.03098	0.9125 \pm 0.02754
IMC	26.2380 \pm 4.12705	29.4483 \pm 2.92992	34.7400 \pm 4.44128
PAD (mmHg)	76.20 \pm 9.960	84.40 \pm 11.929	82.25 \pm 13.074
PAS(mmHg)	120.80 \pm 19.917	137.20 \pm 28.805	132.25 \pm 8.382
Glucosa (mg/dL)	87.80 \pm 5.541	160.17 \pm 23.034	117.25 \pm 9.032
Colesterol Total(mg/dL)	185.400 \pm 28.7976	191.333 \pm 52.2826	205.500 \pm 23.1876
Triglicéridos (mg/dL)	142.40 \pm 83.296	201.50 \pm 97.182	305.50 \pm 247.392
Colesterol HDL(mg/dL)	41.420 \pm 7.6343	37.167 \pm 7.4409	40.925 \pm 7.6565
Colesterol LDL(mg/dL)	110.200 \pm 19.3054	107.667 \pm 57.2527	106.500 \pm 26.8017

Abreviaturas: n (M/H), Número de individuos; s: desviación estándar; ICC: índice cintura-cadera; IMC: índice de masa corporal; cm: centímetros; Kg: kilogramos; m: metros y mmHg: milímetros de mercurio; mg/dL: miligramos sobre decilitro; HDL: lipoproteína de alta densidad y LDL: lipoproteína de baja densidad.



VIII DISCUSIÓN

El citocromo P450 2C9 (CYP2C9) es una de las principales enzimas relacionadas con el metabolismo de un gran número de fármacos de significancia clínica. En este trabajo se determinó la frecuencia alélica de dos variantes del gen *CYP2C9* que ha demostrado tener implicaciones en el metabolismo de diversos fármacos con importantes consecuencias clínicas, *CYP2C9*2 (rs1799853)* y *CYP2C9*3 (rs1057910)*, en la población indígena maya de la península de Yucatán. Se espera que las pruebas genéticas de *CYP2C9* tengan un papel en la predicción de la eliminación del fármaco y la aplicación de un tratamiento farmacológico individualizado en las poblaciones de estudio⁵⁹. De acuerdo al INEGI 2010, la península de Yucatán cuenta con aproximadamente 4,103,596 de habitantes y el 38.3% de la región está representada por población indígena Maya⁵⁶. Este pueblo indígena asume una mayor relevancia para ser estudiado, debido a que es el segundo grupo indígena más numeroso en México, que se encuentra localizado en una sola región⁶⁰. Las poblaciones humanas y, en particular, las poblaciones americanas han estado sometidas de manera dinámica a fenómenos como migración, selección, mutación y deriva genética⁶¹. Por ejemplo, el **“cuello de botella” es asociado con la primera colonización de Europa** durante el periodo paleolítico superior, seguido de la mezcla de ancestrías africana, europea y nativo americana, dando como resultado, el surgimiento de diferentes grupos étnicos con varios grados de diversidad genética en el continente americano. Esta variabilidad genética es uno de los factores que tienen el potencial de alterar la farmacocinética y la farmacodinámica, modulando la eficacia terapéutica y/o la presencia de efectos laterales de los fármacos⁶². La



farmacogenética estudia cómo las variaciones genéticas influyen en la respuesta a los fármacos. Los conceptos de ancestría y etnicidad, han tenido una fuerte influencia sobre los estudios en farmacogenética y en nuestra comprensión de las diferencias a nivel de población, en respuesta a los fármacos⁶³. La variabilidad puede estar reflejada en la distribución de la frecuencia alélica de diversos polimorfismos de la familia citocromo P450²⁷. Evidencia considerable sugiere que, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes que codifican para proteínas transportadoras, enzimas metabolizadoras de fármacos (CYP), enzimas involucradas en la biosíntesis y reparación del ADN podrían determinar la eficacia y toxicidad de los fármacos¹⁵; como resultado, una alteración en la eficacia y seguridad de los fármacos en diversas poblaciones como lo son las comunidades indígenas.

La muestra poblacional maya estudiada fue de 199 individuos, mayor a **la "n" calculada de acuerdo al método de muestreo, lo que le da una** mayor certeza estadística a los resultados obtenidos. Para determinar la frecuencia alélica de la variante ***CYP2C9*2*** requeríamos 75 habitantes indígenas y para la variante ***CYP3C9*3*** necesitábamos 58. El Gráfico 2, muestra una distribución homogénea en cuanto al número de indígenas seleccionados por cada estado, contando con una mayor participación de mujeres que hombres (Gráfico 3). Para objetivos del estudio y sustentando que no existe evidencia de que las variantes ***CYP2C9*2*** y ***CYP2C9*3*** se asocien con el género, los resultados no se vieron afectados por este hecho. En la población, los rasgos fenotípicos, el criterio lingüístico, la condición de que tres de sus generaciones pasadas hayan habitado en la misma región y la determinación de los marcadores de ancestría en el estado de Campeche, realizados por el



Laboratorio de Diabetes en la Facultad de Química, muestran que la población maya elegida tiene un 0.976 de componente amerindio y 0.024 de componente europeo; dan como resultado una población homogénea, haciendo posible realizar el estudio excluyendo los factores que pudieran intervenir debidos al mestizaje.

La Tabla 10 nos proporciona los datos de las frecuencias fenotípicas y alélicas de ambas variantes en la población indígena maya. Resulta interesante la ausencia del genotipo homocigoto para ambas variantes (T/T y C/C para *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*, respectivamente). Este hecho es posible relacionarlo con los conceptos de heterocigosidad, el cual es uno de los mecanismos más eficientes para lograr mantener alelos "raros", evitando de esta manera su extinción. Por lo que comúnmente se le designa como un elemento positivo desde el punto de vista evolutivo⁶⁴. Adicionalmente, en un análisis de la subestructura de indoamericanos en México describe que la población maya y nahua tienen una menor carga de homocigosidad⁶⁵. Ambos hechos coadyuvan a documentar que la población Maya mantiene el equilibrio de Hardy Weinberg, considerado en los cálculos de la muestra.

Para tener a detalle los resultados de las frecuencias obtenidas, en el Gráfico 4 se muestran las frecuencias genotípicas separadas por estado. Evidentemente se observa una mayor frecuencia de la variante *CYP2C9*3* en el estado de Quintana Roo. Lo que lleva a realizar una comparación de las frecuencias entre Campeche, Quintana Roo y Yucatán. Se encontró una diferencia significativa al comparar las frecuencias de la variante *CYP2C9*3* entre Yucatán y Quintana Roo (Tabla 11). Los pueblos indígenas si bien, tienen mayoritariamente un componente amerindio, tienen una proporción muy baja de componente europeo. Con este hecho, es posible plantear la idea, que la región



genética donde se encuentra la variante tenga una mínima ancestría europea. Dado que los pueblos mayas, junto con otros pueblos indígenas tienen la característica de ser pueblos aislados geográficamente, es posible que esta variante haya sido introducida en el pasado con la llegada de la influencia española y la alta frecuencia del **CYP2C9*3** en la región de Quintana Roo se deba a un efecto fundador, y que la presencia de esta variante sea de origen caucásico. Esta hipótesis podría ser confirmada, considerando la posibilidad de obtener la información genética de los padres de los individuos que portan la variante y estudios con marcadores microsatélites, evaluando las zonas flanqueantes al lugar donde se encuentra la variante, un análisis de origen ancestral y de ascendencia local donde se encuentra el alelo **CYP2C9*3** podría mostrar si dicho alelo es de origen caucásico^{4, 66, 67}.

Como se muestra a lo largo del trabajo realizado, en los tres estados no se encontraron desviaciones en el equilibrio de Hardy-Winberg, descartando la idea de que al ser comunidades aisladas puedan presentarse fenómenos como endogamia y aumentar la frecuencia de las variantes. Esta frecuencia elevada en el estado de Quintana Roo para la variante **CYP2C3*3** no es suficiente para afirmar que esta comunidad sea diferente a los otros dos estados de la península, debido a que la comparación de la frecuencia obtenida en Quintana Roo y toda la región Maya no muestra diferencias significativas, los datos de ancestría y los rasgos fenotípicos siguen respaldando la idea de que la población indígena de la Península de Yucatán, mantiene una homogeneidad en conjunto.

La Tabla 12, proporciona la información para conocer cómo se encuentra la frecuencia de las variantes **CYP2C9*2** y **CYP2C9*3** de la población



indígena maya con respecto al resto del mundo. Mediante este estudio, se ha demostrado que la frecuencia de ambas variantes de población indígena maya es similar a la de las frecuencias del Este de Asia (CHB, JPT y CHS), donde las variantes se encuentran en una baja frecuencia o ausentes. Esta información aporta una clara idea de ciertas características genéticas que compartimos con el continente asiático que son importantes considerar cuando se quiere estudiar la reconstrucción de las poblaciones amerindias, así como la influencia que ha tenido este continente en los pueblos amerindios y que pueda ayudar a entender la genética médica en estas poblaciones mexicanas⁶⁸. La baja frecuencia de la variante **CYP2C9*2** de los mayas con respecto a todas las regiones del continente europeo, africanos del oeste de Estados Unidos y las tres regiones americanas incluidas en el Proyecto 1000 Genomas muestra diferencias significativas. Este hecho es relevante, al considerar la gran influencia que tiene el continente europeo sobre diversas regiones del continente americano, propiamente resumida en los mestizos; así bien, las poblaciones mexicanas han constituido un área de transición en la diversificación de las poblaciones a partir de la colonización⁶⁹. Sin embargo, los pueblos indígenas a lo largo de su historia han permanecido con una influencia mínima de esta colonización que se ve reflejada en una clara diferencia con respecto a las poblaciones mestizas. Con ello, las estrategias para la mejora en los tratamientos clínicos seguros y oportunos para las poblaciones indígenas como lo son los Mayas, deben ser diferentes que la atención que se le da a poblaciones mestizas, como lo afirma Sosa Macías y cols³. La variante **CYP2C9*3** presentó diferencias significativas con respecto a la región en Italia, dos regiones de África y colombianos en Medellín en América. Sin embargo, como se muestra en el Gráfico 5, al comparar por continentes,



las diferencias significativas están claras entre Europa, África y América. El CYP2C9 es el responsable del metabolismo de antagonistas de la vitamina K, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), sulfonilureas, antagonistas del receptor de angiotensina II, fenitoína, entre otros⁷⁰. Los SNPs en las secuencias codificantes, como los son las variantes **CYP2C9*2** (144Arg>Cys) y **CYP2C9*3** (356Ile>Leu), producen una disminución en la actividad metabólica de la enzima, siendo susceptibles quienes portan la variante a sufrir reacciones adversas a los medicamentos por tener una depuración menor del fármaco. Estas variantes se han asociado con adquirir dosis más bajas de medicamento y un mayor tiempo para alcanzar la estabilidad del tratamiento³³. Por dicha razón, es importante conocer la frecuencia en comunidades indígenas, para tener un primer acercamiento, saber la forma en que la población depura ciertos fármacos y posteriormente confirmar estos hallazgos, realizando pruebas funcionales en las poblaciones analizadas. Con la finalidad de crear una estrategia que permita garantizar seguridad y eficacia en el tratamiento prescrito a los individuos que requieran atención médica.

Los datos aportados por la Tabla 13, exponen algunas diferencias que existen entre los grupos indígenas y la población mestiza. En este estudio, la variante **CYP2C9*2** muestra diferencias significativas de la población de estudio con respecto a diversas poblaciones mestizas mexicanas y de manera relevante con los Mayos. Estudios previos han comprobado que pueblos amerindios del norte del país comparten una mayor ascendencia europea que los del centro y sur de México⁷¹, y se ha estudiado que la variante **CYP2C9*2** pudo haber sido introducida en las poblaciones amerindias, durante la colonización europea⁵⁸.



Históricamente, la población indígena maya ha tenido una estrecha relación con el continente europeo, pero genéticamente la influencia europea ha sido mínima, en otras palabras, en los pueblos mayas no se ha dado una mezcla con caucásicos importante que permita un cambio en la alta proporción de componente amerindio que tienen estas regiones. Por otro lado, se esperaba que la población maya, de acuerdo a sus frecuencias tuviera diferencias respecto de las otras poblaciones indígenas, pero la ausencia o baja frecuencia de esta variante en las poblaciones indígenas con respecto a la población maya resultaron tener una mayor similitud, lo cual pudiera alinearse con el paquete de alelos compartidos entre poblaciones indígenas⁷¹.

La frecuencia de **CYP2C9*3** en la población maya resultó ser significativamente menor con respecto a los mayos, tarahumaras y tepehuanos. El alelo **CYP2C9*3** ha sido descrito en poblaciones de diferente origen étnico, por lo que no es raro encontrar esta variante en la población amerindia estudiada⁷², sin embargo, de manera importante los pueblos que tienen una mayor descendencia europea y los propios europeos son los que poseen una mayor frecuencia para este alelo. Interesantemente, la población maya tiene una mayor frecuencia en relación con la población indígena nahua, pueblo que de acuerdo a la clasificación lingüística se ubica dentro de una familia diferente que los grupos mayas¹, con ello, las ubicaciones geográficas de ambos pueblos que reflejan diferentes estilos de vida, posiblemente, los factores ambientales han sido una causa de la variación en la frecuencia entre estas poblaciones⁷². Como dato adicional, se introdujo la frecuencia de las variantes de estudio de una población de Extremadura, España, debido a que, en base a estudios históricos, los conquistadores de México procedían de esta región de Europa⁷³, por lo que es interesante



saber si las frecuencias en estos alelos eran similares a la población indígena maya, demostrando en este trabajo lo opuesto.

Las Tablas 14 y 15, muestran los datos antropométricos y bioquímicos de la población respectivamente y una forma de estratificarlos es de acuerdo a los niveles de glucosa en el momento del estudio. De acuerdo al diseño y objetivos del estudio, se consideraron como no diabéticos aquellos que tuvieran valores de glucosa menores a 99.9mg/dL, personas con glucosa alterada en ayuno (GAA) con valores de 100 a 125mg/dL y personas con diabetes con glucosas mayores a 126mg/dL. Se observa que un 16.1% presenta glucosas por arriba de 126mg/dL y 24.1% presenta una glucosa alterada en ayuno. De manera relevante y considerando que, uno de los criterios para establecer el diagnóstico de diabetes es tener un valor mayor de 126mg/dL, aproximadamente el 60% de los individuos desconocía su padecimiento. Cabe destacar, que los individuos que no padecen diabetes son en promedio más jóvenes. Este hecho debe considerarse para los estudios que en la actualidad se están realizando y los que se plantean para el futuro, dirigidos a la prevención, debido a que, la población que hasta ahora no padece diabetes no se exime de padecer en un futuro de la misma o de otra enfermedad debidas a las condiciones en su entorno o a los factores genéticos que los predispongan a padecer una determinada enfermedad. Por otro lado, las personas que padecen diabetes o tienen un factor de riesgo como es la GAA, en promedio están por arriba de los 40 años. A medida que transcurre la vida de un individuo, las funciones fisiológicas van decreciendo y existe una dificultad para mantener la homeostasis en el organismo.



En base al índice de masa corporal (IMC), el 1.5% de la muestra poblacional presenta desnutrición, 15.8% se encuentra dentro de los valores normales y el resto de la población presenta sobrepeso u obesidad. Un valor de IMC entre 18 y 24.9 en una persona es considerado como peso normal, de 25 a 29.9 es considerado sobrepeso y arriba de 30 se define como obesidad. En cada uno de los estratos, arriba del 75% de la población presentó un IMC > 25. El índice cintura/cadera (ICC), refleja la acumulación de grasa abdominal y es una medida de la distribución de la grasa corporal⁷⁴. Aproximadamente, más del 50% de la población maya presenta valores de ICC por arriba de los valores de riesgo (ANEXO IV). El 20% de la población total presenta presión arterial alta y cabe resaltar que los individuos diabéticos son los que presentan el mayor número de casos de presión arterial elevada. En promedio, el 53.6% de la población presenta valores de riesgo para los parámetros bioquímicos de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL. De manera relevante el 9% de las personas que tienen valores bioquímicos y antropométricos alterados presentan alguno de los dos polimorfismos (*CYP2C9*2* o *CYP2C9*3*), dato que nos permite reflexionar la gran oportunidad que tiene el campo de la farmacogenómica al proponer un tratamiento farmacológico personalizado para las personas susceptibles a padecer alguna enfermedad evitándoles un fallo en el tratamiento, debido a que, las características generales de la población de estudio, indican una falta de atención en cuestiones de salud y las autoridades en conjunto con la sociedad, requieren tomar medidas preventivas para la población joven y un control estricto de las personas que padecen distintos trastornos en la salud. Una solución para lograr un control temprano referente al estado de salud en el que se encuentra la población, es a través de



cambios en el estilo de vida y como se mencionó anteriormente, el tratamiento farmacológico en la población⁷⁵. Un muestreo realizado en el estado de Yucatán (N=157) por el Laboratorio de Diabetes de la Facultad de Química, refleja que un 53% de la población Maya recibe algún tratamiento farmacológico. De los cuales 40% se administra por prescripción médica, esto incluye hipoglucemiantes orales, específicamente sulfonilureas. Entre otros medicamentos prescritos están hipoglucemiantes como la metformina e insulina y como antihipertensivos captopril y nifedipina. En México, dentro del cuadro básico de medicamentos agrupados en 23 grupos terapéuticos⁷⁶, muchos son metabolizados por el citocromo P450 2C9, y la gran mayoría por las otras enzimas metabolizadoras de fase I. Estos hechos, hacen constar la importancia de los estudios farmacogenómicos, siendo un área de oportunidad para mejorar nuestra comprensión de las asociaciones entre el genotipo-fenotipo, dosis-gen y gen-efecto, con la finalidad de predecir con mayor precisión la respuesta a los fármacos y sus interacciones con otros medicamentos.

Finalmente, en el estudio de genes relacionados con la depuración y eficacia de los fármacos, el diseño de los mismos, implica dilucidar la heterogeneidad genética en las respuestas a los fármacos, así la farmacogenómica obtendrá las herramientas para lograr una máxima eficacia y mínima toxicidad^{77, 78}, y con la determinación del perfil genético individual, que involucra el descubrimiento de nuevos marcadores genéticos, se tendrá un profundo impacto en la predicción de la respuesta farmacológica, haciendo posible el diagnóstico y monitoreo personalizado^{58, 79} en las poblaciones mayas y otras regiones indígenas.



IX CONCLUSIONES

- ✓ Las variantes alélicas *CYP2C9 *2* y *CYP2C9 *3* en una población indígena Maya tienen una frecuencia alélica de 0.010 y 0.028, respectivamente, sin encontrarse genotipos homocigotos para ambas variantes.
- ✓ La población Maya muestra menor frecuencia para ambas variantes respecto a las poblaciones europeas, mestizos mexicanos e indígenas mayos. Para el alelo *CYP2C9*3*, la población maya presentó menor frecuencia respecto a los tepehuanos y tarahumaras y mayor frecuencia respecto a la población africana reportada en el Proyecto 1000 Genomas y la población indígena Nahua.
- ✓ Los datos antropométricos y bioquímicos sugieren el descontrol metabólico de la población diabética del grupo Maya en estudio, con lo cual puede existir un inadecuado procesamiento de los fármacos y deficiente manejo terapéutico.



X BIBLIOGRAFÍA

1. CDI INDLI (2008). Catálogo de las Lenguas Indígenas Nacionales: Variantes Lingüísticas de México con sus autodenominaciones y referencias geoestadísticas. Indígenas CNdINdL (ed): México.
2. Klug WS (1999). Conceptos de genética. Prentice Hall: Madrid. pp 6,51.
3. Genómica INdM (2014). Proyecto del Genoma HUmano: México.
4. Martin AR, Costa HA, Lappalainen T, Henn BM, Kidd JM, Yee MC, *et al.* Transcriptome sequencing from diverse human populations reveals differentiated regulatory architecture. *PLoS genetics* 2014; **10**(8): e1004549.
5. Alliance G (2009). Anexo M FARMACOGENÓMICA Y FARMACOGENÉTICA In: *Cómo entender la genética: Una guía para pacientes y profesionales médicos en la región de Nueva York y el Atlántico Medio*. Services. TNY-M-ACfGaNS (ed): Washington (DC).
6. Zeise L, Bois FY, Chiu WA, Hattis D, Rusyn I, Guyton KZ. Addressing human variability in next-generation human health risk assessments of environmental chemicals. *Environmental health perspectives* 2013; **121**(1): 23-31.
7. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *The New England journal of medicine* 2003; **348**(6): 538-549.
8. López-Galvis L (2012). Medicina personalizada: ¿Una medicina para cada "enfermedad-persona"? . Colombianos BBG (ed): Colombia.
9. Lindpaintner K. Pharmacogenetics and the future of medical practice. *British journal of clinical pharmacology* 2002; **54**(2): 221-230.
10. products Cfpm (2002). Position paper on terminology in pharmacogenetics. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: London.
11. Lam Y-WF, Cavallari LH. *Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation*: Estados Unidos, 2013, 494pp.
12. Gardiner SJ, Begg EJ. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacological reviews* 2006; **58**(3): 521-590.
13. Communications LHNCfB. *Genetics Home Reference: Your guide to understanding genetic conditions*: Estados Unidos, 2014, 164pp.
14. Proyect NHG (2012). About the International HapMap Project: Estados Unidos.
15. Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *The pharmacogenomics journal* 2006; **6**(1): 16-21.
16. Yang X, Zhang B, Molony C, Chudin E, Hao K, Zhu J, *et al.* Systematic genetic and genomic analysis of cytochrome P450 enzyme activities in human liver. *Genome research* 2010; **20**(8): 1020-1036.
17. Castañeda Hernández G. Farmacología aplicada, clínica y terapéutica. *Avance y perspectiva* 2012; **4**(3).
18. Mendoza Patiño N. *Farmacología médica*: México, 2008, 615pp.
19. Devlin TM. Cytochrome P450. In: John Wiley & sons I (ed). *Textbook of Biochemical With clinical correlations Fifth edition* España, 2004, pp 466-484.
20. Gallego Fernández A. *Aspectos fundamentales del Citocromo P450*: Madrid, 2009, 177pp.
21. Kalant H, Grant DM, Mitchell J. *Principles of medical Pharmacology - Seventh edition*: Estados Unidos, 2007.
22.) RPDBP Protoporphyrin IX Containing Fe.



23. Omura T. Recollection of the early years of the research on cytochrome P450. *Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and biological sciences* 2011; **87**(10): 617-640.
24. Donato MT. ¿Qué es el citocromo P-450 y cómo funciona? *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* 2007; **71**(1): 31-62.
25. Veith H, Southall N, Huang R, James T, Fayne D, Artemenko N, *et al.* Comprehensive characterization of cytochrome P450 isozyme selectivity across chemical libraries. *Nature biotechnology* 2009; **27**(11): 1050-1055.
26. Guengerich FP, Cheng Q. Orphans in the human cytochrome P450 superfamily: approaches to discovering functions and relevance in pharmacology. *Pharmacological reviews* 2011; **63**(3): 684-699.
27. Sosa-Macias M, Llerena A. Cytochrome P450 genetic polymorphisms of Mexican indigenous populations. *Drug metabolism and drug interactions* 2013; **28**(4): 193-208.
28. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology & therapeutics* 2013; **138**(1): 103-141.
29. Zhou SF, Zhou ZW, Huang M. Polymorphisms of human cytochrome P450 2C9 and the functional relevance. *Toxicology* 2010; **278**(2): 165-188.
30. Sim SC (2014). The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database In: *The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee*: Estados Unidos.
31. Jaja C, Burke W, Thummel K, Edwards K, Veenstra DL. Cytochrome p450 enzyme polymorphism frequency in indigenous and native american populations: a systematic review. *Community genetics* 2008; **11**(3): 141-149.
32. Carracedo A (2005). Concentraciones de fármaco según Fenotipo Metabolizador. In: *Office 2010 Power Point*. clínica B-cyladlgelp (ed): España.
33. Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE, *et al.* Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenetics and genomics* 2010; **20**(4): 277-281.
34. Hirota T, Eguchi S, Ieiri I. Impact of genetic polymorphisms in CYP2C9 and CYP2C19 on the pharmacokinetics of clinically used drugs. *Drug metabolism and pharmacokinetics* 2013; **28**(1): 28-37.
35. Miguel PM (2009). Interacciones de genes con fármacos Interacciones de genes con fármacos y alimentos funcionales en enfermedades cardiovasculares. In: *Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria*: España.
36. ad SIA. Diabetes: An Old Disease, a New Insight *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2012; **771**: xxvii-xxxiii.
37. Hernández SF, Reyes H, Morales, Villalpando S, Noverón NR, Ávila MH (2012). Diabetes en adultos: urgente mejorar la atención y el control. In: *ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*: México.
38. Aquilante CL. Sulfonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: the influence of drug target and diabetes risk polymorphisms. *Expert review of cardiovascular therapy* 2010; **8**(3): 359-372.
39. Sun X, Yu W, Hu C. Genetics of type 2 diabetes: insights into the pathogenesis and its clinical application. *BioMed research international* 2014; **2014**: 926713.
40. Becker ML, Pearson ER, Tkac I. Pharmacogenetics of oral antidiabetic drugs. *International journal of endocrinology* 2013; **2013**: 686315.
41. Lorenzo Velazquez B. *Farmacología básica y clínica-Velázquez 18ª Edición*: Buenos Aires-Madrid, 2008, 1369pp.



42. Ragia G, Petridis I, Tavidou A, Christakidis D, Manolopoulos VG. Presence of CYP2C9*3 allele increases risk for hypoglycemia in Type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Pharmacogenomics* 2009; **10**(11): 1781-1787.
43. Ragia G, Tavidou A, Elens L, Van Schaik RH, Manolopoulos VG. CYP2C9*2 allele increases risk for hypoglycemia in POR*1/*1 type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association* 2014; **122**(1): 60-63.
44. Maruthur NM, Gribble MO, Bennett WL, Bolen S, Wilson LM, Balakrishnan P, *et al*. The pharmacogenetics of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes care* 2014; **37**(3): 876-886.
45. INDÍGENAS CCNPEDDL (2012). Los Pueblos Indígenas de México.
46. Staff P (2014). Five facts about indigenous population in Mexico.
47. Albó X, Ávila R. *Atlas sociolingüístico de pueblos indígenas en América Latina* vol. 2: Bolivia, 2009, 584pp.
48. Ildelfonso ACdS. *Los mayas*: México, 1999.
49. Ruíz MH. Pueblos indígenas del México contemporáneo. In: PNUD C (ed). *Mayas, primera parte*: México, 2006, p 91.
50. CDI (2010). Cédulas básicas de información de los pueblos indígenas de México. In: *CDI*: México.
51. INEGI (2012). Cuéntame... de México: México.
52. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, *et al*. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009; **106**(21): 8611-8616.
53. Castelan-Martinez OD, Hoyo-Vadillo C, Sandoval-Garcia E, Sandoval-Ramirez L, Gonzalez-Ibarra M, Solano-Solano G, *et al*. Allele frequency distribution of CYP2C9 2 and CYP2C9 3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene* 2013; **523**(2): 167-172.
54. Dorado P, Sosa-Macias MG, Penas-Lledo EM, Alanis-Banuelos RE, Wong ML, Licinio J, *et al*. CYP2C9 allele frequency differences between populations of Mexican-Mestizo, Mexican-Tepehuano, and Spaniards. *The pharmacogenomics journal* 2011; **11**(2): 108-112.
55. A LL, Dorado P, O'Kirwan F, Jepson R, Licinio J, Wong ML. Lower frequency of CYP2C9*2 in Mexican-Americans compared to Spaniards. *The pharmacogenomics journal* 2004; **4**(6): 403-406.
56. INEGI INdEyG (2012). México en cifras. Información nacional, por entidad federativa y municipios. In: *INEGI*: México.
57. Miller SA, Dykes DD, H.F. P. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* 1988; **16**(3): 1215.
58. Sosa-Macias M, Lazalde-Ramos BP, Galaviz-Hernandez C, Rangel-Villalobos H, Salazar-Flores J, Martinez-Sevilla VM, *et al*. Influence of admixture components on CYP2C9*2 allele frequency in eight indigenous populations from Northwest Mexico. *The pharmacogenomics journal* 2013; **13**(6): 567-572.
59. Wang B, Wang J, Huang SQ, Su HH, Zhou SF. Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance. *Current drug metabolism* 2009; **10**(7): 781-834.
60. Mujeres INdI (2006). La población Indígena Mexicana. In: *Boletín Estadístico*: México.



61. Restrepo CM (2008). Jornadas sobre Farmacogenética, farmacovigilancia y ensayos clínicos: impacto en salud para poblaciones indígenas iberoamericanas In: **Red Iberoamericana de Farmacogenética y Farmacogenómica**: Cartagena de Indias.
62. Ortega VE, Meyers DA. Pharmacogenetics: implications of race and ethnicity on defining genetic profiles for personalized medicine. **The Journal of allergy and clinical immunology** 2014; **133**(1): 16-26.
63. Urban TJ. Race, ethnicity, and pharmacogenetics. **The Mount Sinai journal of medicine, New York** 2010; **77**(2): 133-139.
64. Murillo O (1998). Relación entre el grado de heterocigocidad y características de las semillas en *Alnus alcuminata*. In: **Alianza de Servicios de Información Agripecuaria**: Costa Rica.
65. Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Fernandez-Lopez JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras AV, *et al.* Human genetics. The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. **Science** 2014; **344**(6189): 1280-1285.
66. Ramachandran S, Deshpande O, Roseman CC, Rosenberg NA, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL. Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 2005; **102**(44): 15942-15947.
67. Garcia-Velazquez LE, Canizales-Quinteros S, Romero-Hidalgo S, Ochoa-Morales A, Martinez-Ruano L, Marquez-Luna C, *et al.* Founder effect and ancestral origin of the spinocerebellar ataxia type 7 (SCA7) mutation in Mexican families. **Neurogenetics** 2014; **15**(1): 13-17.
68. Goebel T, Waters MR, O'Rourke DH. The late Pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. **Science** 2008; **319**(5869): 1497-1502.
69. Sandoval K, Moreno-Estrada A, Mendizabal I, Underhill PA, Lopez-Valenzuela M, Penaloza-Espinosa R, *et al.* Y-chromosome diversity in Native Mexicans reveals continental transition of genetic structure in the Americas. **American journal of physical anthropology** 2012; **148**(3): 395-405.
70. Samer CF, Lorenzini KI, Rollason V, Daali Y, Desmeules JA. Applications of CYP450 testing in the clinical setting. **Molecular diagnosis & therapy** 2013; **17**(3): 165-184.
71. Barquera R, Zuniga J, Hernandez-Diaz R, Acuna-Alonzo V, Montoya-Gama K, Moscoso J, *et al.* HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. **Molecular immunology** 2008; **45**(4): 1171-1178.
72. Ramos BPL. Polimorfismos de relevancia farmacogenética de las familias 1A2, 2C y 3A en población indígena del noroeste de México. Doctor thesis, UNIVERSIDAD de Extremadura, Badajoz, España, 2012.
73. Wilkes J. **Hernán Cortés, Conquistador de México**: España, 1990, 49pp.
74. Organization WH (2008). Waist Circumference and Waist-Hip Ratio. In: **WHO Expert Consultation**: Génova. p 47.
75. Barquera S, Campos-Nonato I, Lucía Hernández-Barrera, Medina C, Rojas R, Jiménez A (2012). Hipertensión arterial en adultos mexicanos: importancia de mejorar el diagnóstico oportuno y el control. Ensanut (ed).
76. Salud CIdCBdIds (2009). Cuadro Básico y Catálogo de Medicamentos. General CdS (ed): México. p 757.
77. Vella A. Pharmacogenetics for type 2 diabetes: practical considerations for study design. **Journal of diabetes science and technology** 2009; **3**(4): 705-709.



78. He SM, Zhou ZW, Li XT, Zhou SF. Clinical drugs undergoing polymorphic metabolism by human cytochrome P450 2C9 and the implication in drug development. *Current medicinal chemistry* 2011; **18**(5): 667-713.
79. Lopez-Lopez M, Guerrero-Camacho JL, Familiar-Lopez IM, Jung-Cook H, Corona-Vazquez T, Alonso-Vilatela ME. [Pharmacogenomics: the quest for individualized therapy]. *Revista de neurologia* 2004; **39**(11): 1063-1071.
80. M. S Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente Modificados en Muestras de Alimentos: Extracción y Purificación de ADN. In: *Extracción y purificación de ADN*. Feed EURLfGFa (ed): Europa.
81. Posso Duque D (2009). In: *Protocolos de laboratorio UEG*. Científicas IVdI (ed): Venezuela.
82. Voet D. *Bioquímica*, Tercera edn: Argentina 2006.
83. (GHO) GHO (2014). Mean Body Mass Index (BMI). Organization WH (ed): Génova.
84. Organization WH (2014). Obesidad y sobrepeso In: *Nota descriptiva 311*. prensa Cd (ed).
85. Mauricio HÁ (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. gobernación Sd (ed): México.
86. National Heart L, and Bloond Institute. Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATPIII). 2002.



XI ANEXOS

ANEXO I

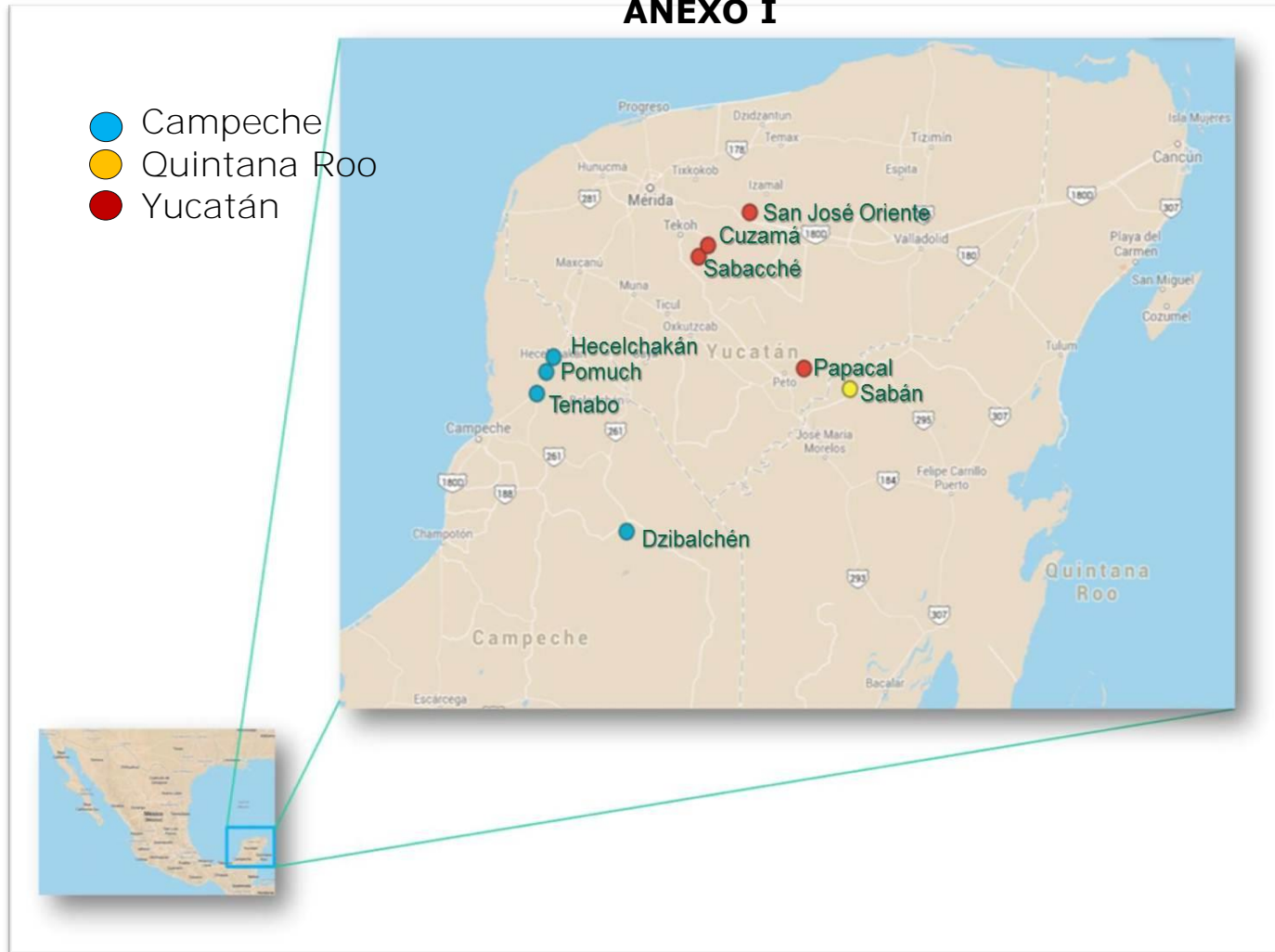


Figura 18. Distribución geográfica de los pueblos indígenas incluidos en el estudio



ANEXO II CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



Estudio de Diversidad Genómica en Poblaciones Nativas Mexicanas: Secuenciación Completa del Genoma como un Recurso de Investigación para Estudios Evolutivos y Aplicados a la Salud



Nombre del participante: _____

Edad: _____

Unidades Participantes:

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química

Hospital Juárez de México

Secretaría de Salud del Estado de Yucatán

Instituto Nacional de Medicina Genómica

Propósito y antecedentes

Se solicita su participación en este proyecto de investigación, cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer al desarrollo de la Diabetes mellitus, que es una enfermedad que se caracteriza por un aumento de glucosa en sangre y que repercute en una disminución de la calidad de vida de las personas. En este estudio participan la Dra. Marta Menjívar de la **Facultad de Química de la UNAM**, el **Hospital Juárez de México**, **Secretaría de Salud del Estado de Yucatán** y el **Instituto Nacional de Medicina Genómica**. Cabe mencionar que es posible que no obtenga un beneficio directo de su participación en este estudio, sin embargo la identificación de posibles factores genéticos relacionados con la diabetes podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la padecen y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted precise y la relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Se le pedirá su consentimiento para que con su sangre se hagan 3 cosas:

1. La extracción de ADN para que se estudien los genes especificados en el estudio "Estudio de Diversidad Genómica en Poblaciones Nativas Mexicanas: Secuenciación Completa del Genoma como un Recurso de Investigación para Estudios Evolutivos y Aplicados a la Salud", que puedan estar involucrados en la aparición y desarrollo de Diabetes Mellitus.
2. Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la "Diabetes", por ello se le solicita que autorice al investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en la Diabetes y no se realizarán otros estudios con ella.
3. Usted también puede aceptar que en dicha muestra descodificada se realicen otros estudios genéticos de otras patologías diferentes. Si usted acepta sólo los estudios genéticos descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en el punto 2, el investigador garantiza que guardará y



utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN. Una vez desvinculada la muestra no podrá ser destruida, pero no se podrá relacionar con usted.

Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de la obtención del ADN.

Procedimiento

Si acepto a participar en la toma de muestras, tendrá lugar lo siguiente:

- + Me examinarán físicamente, tomarán mis medidas de peso, estatura, cintura y cadera para determinar mi Índice de Masa Corporal (IMC).
- + Me someteré a un análisis de laboratorio en el cual me harán una extracción de sangre (el equivalente a 3 tubos de 5mL cada uno). Se me extraerá la sangre para evaluar mi nivel de glucosa, colesterol, triglicéridos, insulina, glucagón, hemoglobina glicosilada y examinarán la presencia de genes de predisposición a la diabetes tipo 2.
- + Me pedirán que mantenga un ayuno de al menos 8 horas antes de la toma de muestra.
- + Me pedirán que responda a un cuestionario para evaluar mis hábitos alimenticios, nivel de estrés y actividad física. En el mismo cuestionario me pedirán algunos datos personales y antecedentes de enfermedades.

Riesgos y molestias

Los riesgos de la extracción de sangre incluyen molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y hematomas.

Beneficios

Después de la extracción de sangre me serán entregados los resultados Bioquímicos (Glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina) y será de mi conocimiento si soy diabético, propenso a la diabetes o una persona sana.

Confidencialidad

No se revelará la identidad de las personas que participen en el estudio en ningún informe o publicación que se genere a partir de este trabajo.

Consentimiento

1. Yo _____ declaro bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
2. Se me ha entregado una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de ADN con un número codificado.
4. Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.



Punto 1. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético referente a la “Diabetes” en mi muestra de ADN.

Punto 2. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra de ADN, con desvinculación de la identidad. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la “Diabetes”.

Punto 3. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de ADN desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades.

¿A quién puedo llamar si tengo preguntas sobre este proyecto?

Si usted tiene preguntas acerca de la recolección de muestras, sus derechos en este proyecto o sobre el almacenamiento de las mismas, puede llamar al Hospital Juárez de México con la Dra. Guadalupe Ortiz López 015557477684, o a la Facultad de Química, UNAM con la Dra. Marta Menjívar Iraheta al 015556223822.

Si deseo participar debo firmar a continuación.

Nombre del participante

Firma del participante

dd-mmm-aaaa
Fecha

Nombre del testigo:	
Firma:	Fecha: _____ dd-mmm-aaaa
Dirección:	Relación con el participante:

Nombre del testigo:	
Firma:	Fecha: _____ dd-mmm-aaaa
Dirección:	Relación con el participante:

Nombre escrito de la persona que explica el consentimiento

Firma de la persona que explica el consentimiento

dd-mmm-aaaa
Fecha



CUESTIONARIO



Estudio de Diversidad Genómica en Poblaciones Nativas Mexicanas: Secuenciación Completa del Genoma como un Recurso de Investigación para Estudios Evolutivos y Aplicados a la Salud

Datos personales:

Nombre: _____ Fecha de nacimiento: _____

Ocupación: _____ Estado Civil: _____

Sexo: _____ Dirección: _____

Escolaridad: _____ Origen étnico: _____

Datos antropométricos:

Peso: _____ kg Talla: _____ m IMC _____

Cintura: _____ cm Cadera: _____ cm ICC _____

Tensión arterial _____

Destrostix _____

Enfermedades:

Diabetes

Edad de diagnóstico _____

Tratamiento: SI NO

Cuál?:

Dieta _____ Insulina _____ Medicamento oral _____ Otro _____

Nombre y dosis del medicamento: _____

Existe historia de :

Coma diabético _____ Neuropatía _____ Desordenes de la piel _____ Enfermedad cardíaca _____

Enfermedad renal _____ Enfermedad vascular _____ Retinopatía _____ Otras _____

Otras enfermedades

Medicamentos y dosis

Antecedentes heredofamiliares:

¿Tiene o tuvo diabetes mellitus algún familiar directo?

Padre _____ Madre _____ Hijos _____ Hermanos _____

Abuelo materno _____ Abuela materna _____ Abuelo paterno _____ Abuela paterna _____



ANEXO III

MÉTODOS MOLECULARES PARA LA EXTRACCIÓN, CUANTIFICACIÓN E INTEGRIDAD DEL ADN

III.1 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ADN

La extracción y purificación de ácidos nucleicos constituye la etapa primaria de la mayoría de los estudios en biología molecular. Los métodos de extracción permiten obtener ácidos nucleicos purificados a partir de diversas fuentes para después realizar análisis específicos de modificaciones genéticas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La calidad y la pureza de los ácidos nucleicos son dos de los elementos más importantes en ese tipo de análisis⁽⁸⁰⁾.

La extracción de ADN consta de una etapa de lisis, que consiste en romper las estructuras que confinan el citoplasma y liberar al medio su contenido y otra de purificación, que implica la retirada de la solución final de la mayoría de elementos que pueden interferir en la PCR.

METODOLOGÍA

- ☞ En un tubo falcon 2.5mL de sangre periférica de 15mL:
 - 6.5mL de sacarosa tritón **2x (frío)**
 - 3.5mL de H₂O destilada (estéril)

Mezclar suavemente por inversión e incubar en hielo 10min.
- ☞ Centrifugar a 2000rpm por 15min. 4°C.
- ☞ Decantar el sobrenadante y desechar.
- ☞ Lavar el botón con 2 ml de solución de sacarosa tritón **1x (frío)**.
- ☞ Centrifugar a 2000rpm por 15min. 4°C.
- ☞ Tirar cuidadosamente el sobrenadante, el pellet debe verse color rosado, de lo contrario, lavar nuevamente con sacarosa Tritón **1x (frío)**.
- ☞ Agregar:
 - 1mL de buffer de lisis nuclear
 - 55µL de SDS al 10%
 - 25µL de proteinasa K (5mg/mL)

Mezclar suavemente e incubar a 37°C durante toda la noche con agitación constante.

Posterior a la incubación:

- ☞ Agregar 600 µl de cloruro de sodio saturado y agitar vigorosamente.
- ☞ Centrifugar a 2000 rpm por 15 min a 4 C.
- ☞ Transferir el sobrenadante a otro tubo falcon estéril.



- 3 Agregar 2 volúmenes de etanol al 100% **FRÍO**.
- 3 Mezclar suavemente por inversión y retirar el DNA con una pipeta Pasteur sellada de la punta.
- 3 Lavar el ADN con etanol al 70% dentro de un tubo eppendorf.
- 3 Dejar secar el ADN. (*El ADN seco tiene un aspecto transparente*)
- 3 Disolver el ADN dejando la pipeta pasteur la pipeta por 20 min a 37° C en un tubo eppendorf con 200µL de H₂O grado molecular.

III.2 CUANTIFICACIÓN DE ADN

El ADN aislado es cuantificado mediante espectroscopia UV. El NanoDrop™ Lite, es un espectrofotómetro que permite conocer la pureza y concentración de los ácidos nucleicos obtenidos utilizando microvolúmenes de los mismos. El pico máximo de absorción del ADN está en 260 nm. A esta longitud por lo tanto, la absorción es proporcional a la concentración. La relación $\left(\frac{Abs\ 260}{Abs\ 280}\right) nm$ debe estar en un rango de 1.8-2.0, si es menor probablemente estén presentes proteínas u otros compuestos que absorban a 280nm. La relación $\left(\frac{Abs\ 260}{Abs\ 230}\right) nm$ debe estar en un rango de 2.0-2.2, si es menor puede que existan contaminantes que absorban a 230nm (Figura 18).

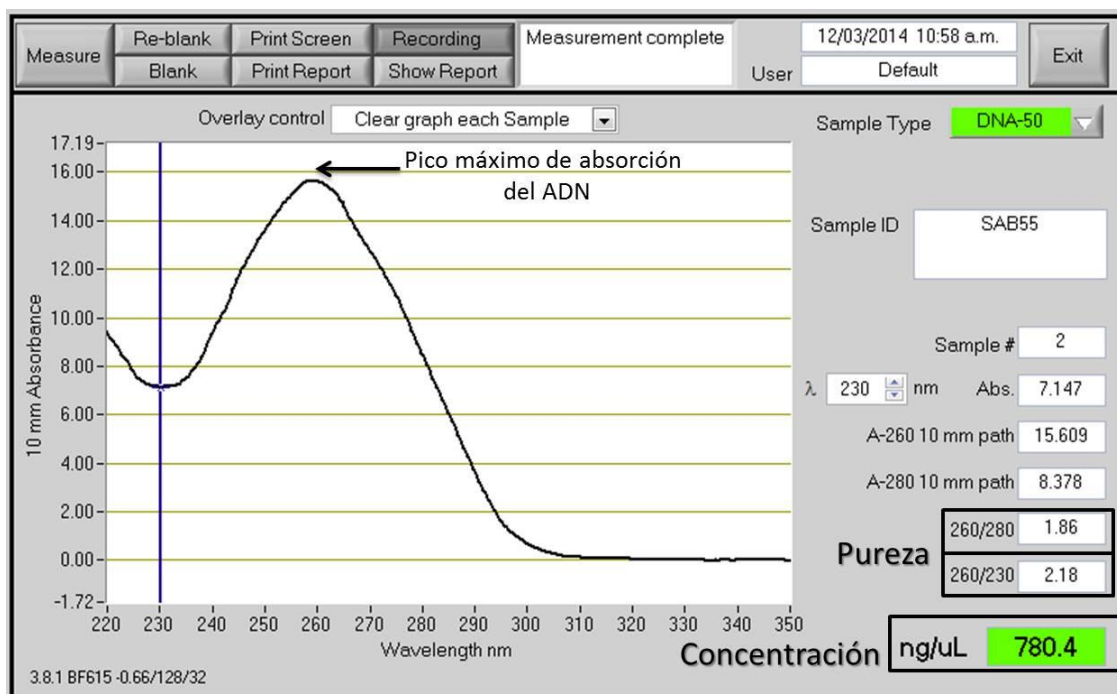


Figura 19 Patrón típico de absorción de ácidos nucleicos



III.3 TÉCNICA DE ELECTROFORESIS

La integridad del ADN extraído, así como el tamaño de distintos fragmentos de ADN (por ejemplo, productos de PCR), pueden ser verificadas mediante electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida. La electroforesis consiste en la separación de moléculas (proteínas, isoenzimas, ácidos nucleicos) a través de un polímero (matriz) entrelazado de porosidad controlable (agarosa, acrilamida, almidón). La matriz funciona como un filtro, separando las moléculas en un campo eléctrico, de acuerdo al tamaño y la carga neta que poseen. En el caso de los ácidos nucleicos, el grupo fosfato es el responsable por la fuerte carga negativa en condiciones de pH neutro, haciendo que los fragmentos migren hacia el polo positivo (ánodo) durante la electroforesis⁽⁸¹⁾.

Los ácidos nucleídos separados en geles de agarosa pueden visualizarse mediante una tinción selectiva con agentes intercalantes como cationes aromáticos o planares, por ejemplo el ión etidio, el naranja de acridina o la proflavina y al iluminarlos con luz UV producen una fluorescencia mucho más intensa que la generado por el colorante libre, lo cual permite evaluar su integridad⁽⁸²⁾.

METODOLOGÍA

1.- Preparación del gel de agarosa al 1%

- 3 Pesar 0.7g de agarosa y disolverlos en 70mL de buffer TBE 1x
- 3 Calentar en el microondas en lapsos de 20s hasta que la agarosa quede totalmente disuelta.
- 3 Cuando la solución de agarosa haya alcanzado una temperatura soportable por la mano, agregar 1 μ L de bromuro de etidio (10mg/mL). Mezclar de manera circular evitando que se forme burbujas en el gel.
- 3 Colocar el o los peines en el molde de corrida. Verter lentamente el gel líquido por uno de los extremos y retirar las burbujas que queden sobre el área de corrida de las muestras con una punta limpia.
- 3 Dejar polimerizar la agarosa

2.- Para la corrida de electroforesis.

- 3 Llenar la cámara de electroforesis con buffer TBE 1x hasta cubrir el gel.
- 3 En cada pozo colocar 5 μ L de muestra de ADN y 3 μ L de buffer de carga. (Este paso requiere de cierta rapidez para evitar que la muestra se difunda en el gel).



- 3 Conectar los electrodos correctamente de la cámara a la fuente de poder y correr la electroforesis a 70V durante 1h.

La figura 20 expone la integridad del ADN utilizando la técnica anterior en el laboratorio.

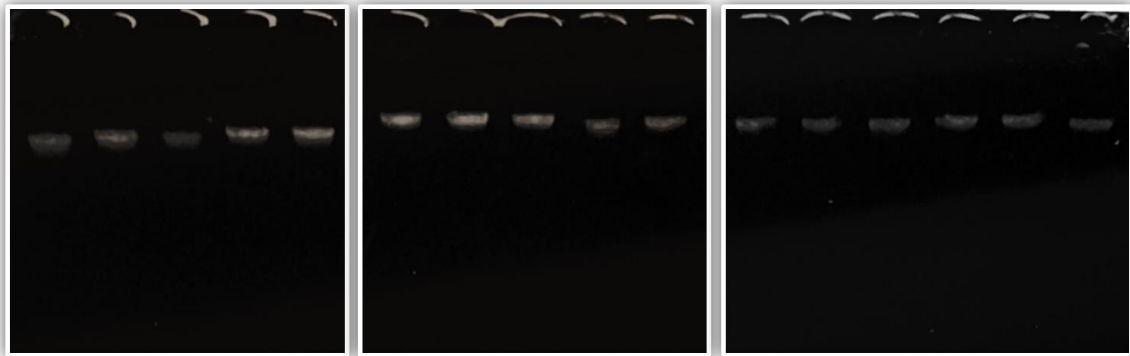


Figura 20. Integridad del ADN en un gel de agarosa al 1%, revelado con Bromuro de Etidio.



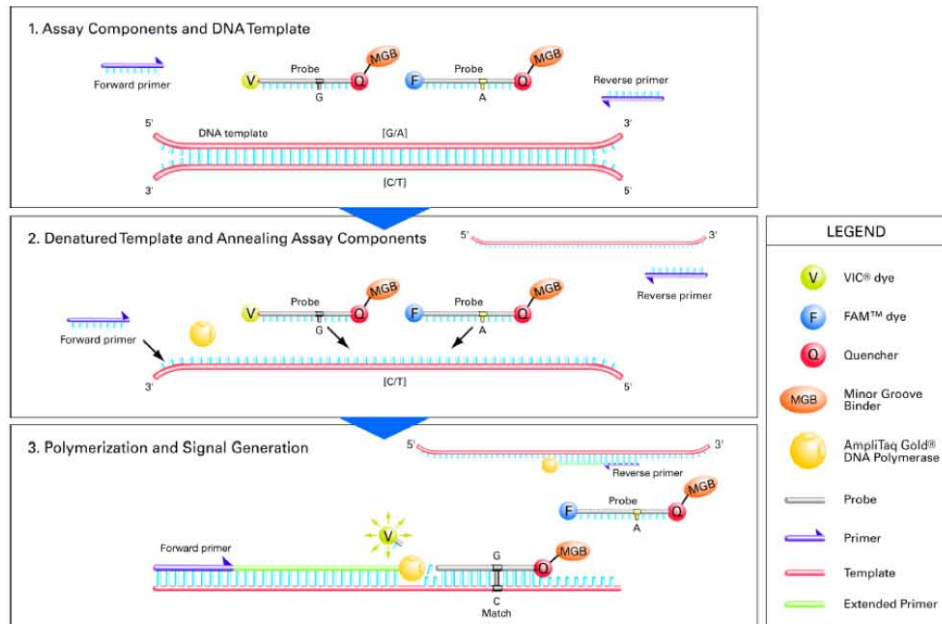
ANEXO IV

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. Los estudios farmacogenéticos implican la determinación de diversas variantes genéticas de enzimas y transportadores relacionados con el metabolismo de los fármacos. Los experimentos optimizados de genotipificación se realizan para detectar polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) específicos en una secuencia de ácido nucleico diana en las muestras de ADN genómico purificado. Para obtener los resultados de genotipificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), existen dos maneras: al final del experimento, o de forma continua durante el experimento. La recolección de datos al final del experimento se le denomina PCR en punto final (metodología cualitativa). La recolección de datos durante el experimento se considera PCR en tiempo real (metodología cuantitativa). El PCR en tiempo real utiliza la química de nucleasa 5' y sondas Taqman, cada ensayo permite determinar el genotipo de los individuos para un único polimorfismo.



Esquema del ensayo 5' nucleasa en un Equipo Applied Biosystems® ViiA™ 7





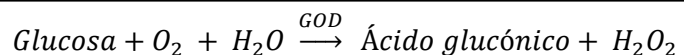
ANEXO V PERFIL BIOQUÍMICO

La evaluación del perfil bioquímico de los individuos, consistió en la determinación de las concentraciones de glucosa, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol LDL y triglicéridos en suero mediante el uso de métodos enzimáticos-colorimétricos.

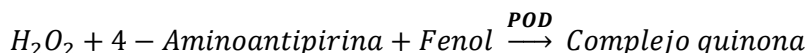
FUNDAMENTOS

GLUCOSA

La glucosa es oxidada en presencia de la enzima glucosa oxidasa (GOD) para formar ácido glucónico y peróxido de hidrógeno.



El peróxido de hidrógeno reacciona bajo la influencia de la peroxidasa (POD) con fenol y 4-aminoantipirina, dando lugar a la formación de un complejo rojo-violeta de quinona.



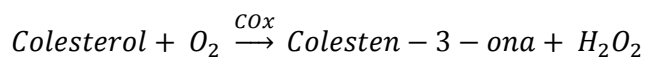
La intensidad del color rojo-violeta es proporcional a la concentración de glucosa.

COLESTEROL TOTAL

La colesterol esterasa (CE) hidroliza los ésteres de colesterol, produciendo colesterol libre y ácidos grasos.

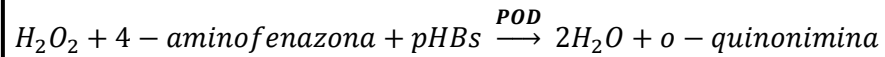


El colesterol libre se oxida en presencia de la enzima colesterol oxidasa (COX) para formar colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno.





El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona y fenol (contenido en el buffer), en presencia de la peroxidasa (POD). Se produce una quinonimina de color rojo.

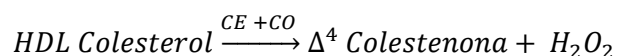
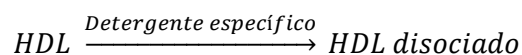


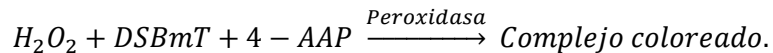
La intensidad del color rojo es proporcional a la concentración total de colesterol.

COLESTEROL-HDL (C-HDL)

Las lipoproteínas plasmáticas son partículas esféricas que contienen cantidades variables de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y proteínas. La proporción relativa de proteína y lípido determina la densidad de estas lipoproteínas y provee las bases sobre la cual establecer la clasificación. Estas clases son: quilomicrones, proteínas de muy baja densidad (VLDL), proteínas de baja densidad (LDL) y proteínas de alta densidad (HDL).

El método se basa en la reacción de la enzima colesterol oxidasa (CO) con el colesterol no-esterificado, y la disolución selectiva del la HDL utilizando un detergente específico. En el primer reactivo, el colesterol no-esterificado no HDL es sometido a una reacción enzimática tras la cual el peróxido producido es consumido por la enzima peroxidasa con DSBmT, obteniéndose un producto incoloro. El segundo reactivo consiste en un detergente capaz de solubilizar el HDL específicamente, reaccionando con la enzima colesterol esterasa (CE) y el complejo cromogénico de la etapa anterior, formándose un compuesto coloreado, en forma directamente proporcional a la concentración de colesterol HDL en la muestra.





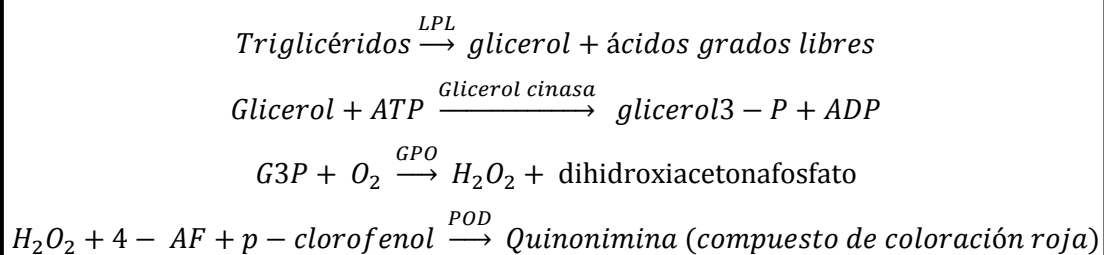
COLESTEROL LDL (C-LDL)

Después de la cuantificación de colesterol total y triglicéridos por métodos enzimático-colorimétrico. La determinación de C-LDL se realiza por medio de métodos directos de acuerdo al cálculo de Friedewald. Teniendo validez cuando los niveles de triglicéridos son menores a 400mg/dL.

$$C - LDL = CT * C - HDL * \left(\frac{TG}{5}\right)$$

TRIGLICÉRIDOS (TG)

Los triglicéridos, debidos a la acción de lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por GPO. Finalmente, el peróxido de hidrogeno (H₂O₂) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja.



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada.

**Tabla 17 Valores de referencia en población mexicana adulta**

Variable	Valores de referencia
ICC ⁸³	H>0.90/M \geq 0.85
IMC ⁸⁴	
Bajo peso	<18.5
Normal	18.5-24.9
Sobrepeso	25.0-29.9
Obesidad	\geq 30
PAD alta (mmHg) ⁷⁵	\geq 140
PAS alta (mmHg) ⁷⁵	\geq 90
Glucosa ⁸⁵	
Prediabetes	100-125
Diabetes	\geq 126
Colesterol Total ⁸⁶	
Deseable	<200
Triglicéridos ⁸⁶	
Deseable	< 150
Colesterol HDL ⁸⁶	
Bajo	< 40
Alto	\geq 60
Colesterol LDL ⁸⁶	
Deseable	< 100