



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL**

**DIFERENCIAS DE LAS FRECUENCIAS DE LOS  
POLIMORFISMOS DEL *CYP3A4\*1B* Y *CYP3A5\*3, \*6 Y \*7*  
ENTRE AMERINDIOS HUICHOLAS, CORAS Y  
TARAHUMARAS.**

**TESIS QUE PRESENTA  
Q.F.B. LAURA MARÍA REYES ROSALES**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS  
EN BIOMEDICINA**

DIRECTOR DE TESIS

DRA. en C. MARTHA GUADALUPE SOSA MACÍAS

CO DIRECTOR

DR. en C. ISMAEL LARES ASSEF

DURANGO, DGO

JUNIO, 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 15:00 horas del día 14 del mes de Junio del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN DGO para examinar la tesis titulada:

Diferencias de las frecuencias de los polimorfismos del CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3, \*6 y \*7 entre amerindios Huicholes, Coras y Tarahumaras.

Presentada por el alumno:

REYES

ROSALES

LAURA MARÍA

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre(s)

Con registro: B 0 9 1 2 2 0

aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron APROBAR LA TESIS, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías

Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

Dr. Carlos Galaviz Hernández

Dra. Martha Rodríguez Morán

Dr. Isaias Chaírez Hernández

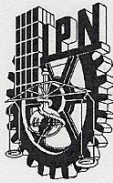
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. José Antonio Ávila Reyes



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL C.I.I.D.I.R. UNIDAD DURANGO I.P.N.





# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS

México, D.F. a 29 de Abril del 2011

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Durango en su sesión ordinaria No. 11 celebrada el día 9 del mes de Noviembre conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

REYES

ROSALES

LAURA MARÍA

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre (s)

Con registro: 

B	0	9	1	2	2	0
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Biomedicina

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:  
Diferencias de las frecuencias de los polimorfismos del CYP3A4\*1B y CYP3A5\*3,\*6 y \*7 entre amerindios Huicholes, Coras y Tarahumaras

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:  
Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías y Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:  
CIIDIR-IPN Unidad Durango

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías

Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

Aspirante

Presidente del Colegio

Laura María Reyes Rosales

Dr. José Antonio Avila Reyes  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACION PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.I.D.I.R.  
UNIDAD DURANGO





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESIÓN DE DERECHOS*

En la Ciudad de **DURANGO, DGO.**, el día **10** del mes **JUNIO** del año **2011**, la que suscribe **REYES ROSALES LAURA MARÍA** alumna del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA** con número de registro **B091220**, adscrito a **CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO**, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la **DRA. MARTHA GUADALUPE SOSA MACÍAS** y del **DR. JOSÉ ISMAEL ANTONIO LARES ASEF** y cede los derechos del trabajo intitulado **“DIFERENCIAS DE LAS FRECUENCIAS DE LOS POLIMORFISMOS DEL CYP3A4\*1B Y CYP3A5\*3,\*6 Y \*7 ENTRE AMERINDIOS HUICHOLAS, CORAS Y TARAHUMARAS”** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **litay86@hotmail.com**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**LAURA MARÍA REYES ROSALES**

Nombre y firma

**El presente trabajo se realizó en el CIIDIR-IPN Unidad Durango en el laboratorio de Biología Molecular de la Central de Instrumentación.**

**Es derivado del proyecto titulado “Polimorfismos genéticos del CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 y CYP2C19 en población indígena del noroeste de México y su impacto en la respuesta a medicamentos”, el cual fue financiado por CONACYT con clave 113063.**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo se lo dedico con todo mi cariño y amor a mi padres Javier y Mercedes por apoyarme, creer en mí y darme todo su cariño, a mis queridas hermanas Arely y Stefania por estar conmigo, escucharme y apoyarme siempre, a mi tía Julia por darme su cariño y apoyo incondicional.

A todas mis amigas por creer en mí, escucharme y alentarme a seguir adelante.

A todas las personas que de alguna manera me ayudaron para cumplir con este objetivo de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al IPN y al CIIDIR Unidad Durango por dejarme formar parte de tan prestigiadas instituciones y contribuir en mi formación profesional.

A mi Directora de tesis a la Dra. Martha Sosa por su apoyo y asesoría para realizar mi tesis.

Al Dr. Ismael Lares por su apoyo y participar como mi codirector.

A la Dra. Martha Rodríguez Moran por su asesoría y por aceptar ser parte de mi comité tutorial.

Al Dr. Gerardo Martínez Aguilar, por su apoyo y por aceptar ser parte de mi comité tutorial.

A todos los compañeros que de alguna u otra forma me dieron sus críticas, sugerencias y apoyo en el desarrollo de mi tesis.

A todos mis maestros que compartieron conmigo sus conocimientos durante estos 2 años de mi maestría.

**¡GRACIAS!**

## ÍNDICE GENERAL

	<b>PÁGINA</b>
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
1. MARCO TEÓRICO.....	2
1.1 Biotransformación.....	2
1.2 Citocromo P450.....	3
1.3 <i>CYP3A</i> .....	5
1.4 Inhibición e inducción del <i>CYP3A</i> .....	6
1.5 <i>CYP3A4</i> .....	8
1.6 <i>CYP3A5</i> .....	11
1.7 Impacto de los polimorfismos en el metabolismo de Fármacos.....	12
1.8 Amerindios.....	13
1.8.1 Población indígena mexicana.....	14
1.8.2 Huicholes.....	14
1.8.3 Coras.....	15
1.8.4 Tarahumaras.....	16



## **CAPÍTULO II**

2.	JUSTIFICACIÓN.....	18
----	--------------------	----

## **CAPÍTULO III**

3.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	19
----	--------------------------------	----

## **CAPÍTULO IV**

4.	HIPÓTESIS.....	19
----	----------------	----

## **CAPÍTULO V**

5.	OBJETIVOS.....	20
5.1	General.....	20
5.2	Específicos.....	20

## **CAPÍTULO VI**

6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
6.1	Diseño.....	21
6.2	Sujetos de estudio.....	21
6.3	Tamaño de muestra.....	21
6.4	Criterios.....	22
6.5	Variable dependiente.....	22
6.6	Variable independiente.....	23
6.7	Variables de estudio.....	23
6.8	Procedimiento.....	26
6.9	Métodos.....	26
6.9.1	Extracción de ADN.....	26

6.9.2	Concentración y pureza de ADN genómico.....	27
6.9.3	Integridad del ADN.....	28
6.9.4	Determinación de las variantes alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> y del <i>CYP3A5 *3, *6, *7</i> por PCR en tiempo real.....	28
6.10	Aspectos éticos.....	33
6.11	Análisis estadístico.....	33

## CAPÍTULO VII

7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	35
7.1	Parámetros antropométricos de las poblaciones estudiadas.....	35
7.2	Pruebas bioquímicas de las poblaciones estudiadas.....	36
7.3	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A4</i> en Huicholes, Coras y Tarahumaras.....	37
7.4	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A5*3</i> en Huicholes, Coras y Tarahumaras.....	40
7.5	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A5*6</i> y <i>*7</i> en Huicholes, Coras y Tarahumaras.....	41
7.6	Comparación las frecuencias alélicas del <i>CYP3A4</i> y <i>CYP3A5</i> entre Huicholes, Coras y Tarahumaras.....	44

## CAPÍTULO VIII

8.	CONCLUSIONES.....	46
----	-------------------	----

## CAPÍTULO IX

9.	BIBLIOGRAFÍA.....	47
----	-------------------	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
Figura 1. Biotransformación de fármacos.....	2
Figura 2. Reacciones de activación o inactivación mediadas por enzimas del citocromo P450.....	5
Figura 3. Tronco de lenguas Yuto-Azteca.....	15
Figura 4. Nanodrop.....	28
Figura 5. Gel de agarosa al 1% de ADN genómico.....	28
Figura 6. Amplificación de PCR en t-real de muestras de ADN genómico.....	31
Figura 7. Amplificación de PCR en t-real , Homocigoto Silvestre..	31
Figura 8. Amplificación de PCR en t-real, Homocigoto Mutado....	31
Figura 9. Amplificación de PCR en t-real, Heterocigoto.....	31
Figura 10. Gráfica de discriminación alélica.....	33

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>PÁGINA</b>
Cuadro 1. Principales familias y subfamilias del CYP450 involucradas en el metabolismo de endobióticos y xenobióticos en el humano.....	4
Cuadro 2. Sustratos, inductores e inhibidores del <i>CYP3A4</i> y <i>CYP3A5</i> ..	7
Cuadro 3. Frecuencias alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> en distintas poblaciones.....	10
Cuadro 4. Frecuencias alélicas del <i>CYP3A5*3</i> en distintas poblaciones.....	11 41
Cuadro 5. Secuencias de las sondas utilizadas para el análisis de las variantes <i>CYP3A4*1B</i> y <i>CYP3A5*3</i> , *6 y *7 por PCR en tiempo real.....	30
Cuadro 6. Tipos de fluorescencias y genotipos correspondientes a las obtenidas por PCR tiempo real.....	32
Cuadro 7. Parámetros antropométricos de las poblaciones estudiadas.....	35
Cuadro 8. Análisis de varianza de parámetros antropométricos.....	35
Cuadro 9. Pruebas bioquímicas de las poblaciones estudiadas .....	36
Cuadro 10. Análisis de varianza de pruebas bioquímicas.....	37



Cuadro11.	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A4*1B</i> en las poblaciones estudiadas .....	38
Cuadro12.	Frecuencias alélicas del <i>CYP3A4*1B</i> en distintas poblaciones.....	39
Cuadro13.	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A5*3</i> en las poblaciones estudiadas .....	40
Cuadro14.	Frecuencias alélicas y genotípicas del <i>CYP3A5*6</i> en las poblaciones estudiadas .....	42
Cuadro15.	Comparación de las frecuencias de los polimorfismos del <i>CYP3A4</i> y <i>CYP3A5</i> entre las poblaciones estudiadas.....	44
Cuadro16.	Calculo del equilibrio de Hardy Wienberg.....	45

## RESUMEN

Se han descrito numerosos polimorfismos genéticos que afectan la funcionalidad de las enzimas del Citocromo CYP450, los cuales constituyen una de las principales causas de efectos adversos o falla terapéutica por fármacos. *CYP3A4* y *CYP3A5* son las isoformas más importantes en el metabolismo de fármacos y las más abundantes en el hígado e intestino. Entre los polimorfismos que disminuyen severamente la síntesis de éstas enzimas y afectan la hidroxilación de diferentes fármacos están *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3*, \*6 y \*7. Dichas variantes se han estudiado en diferentes grupos étnicos, pero son escasos los estudios en población indígena. El objetivo de este trabajo fue identificar las diferencias en las frecuencias de los polimorfismos antes mencionados entre amerindios Huicholes, Coras y Tarahumaras. Se estudiaron 50 individuos de cada grupo. La determinación de los polimorfismos se realizó mediante PCR con sondas TaqMan. La frecuencia del *CYP3A4\*1B* fue de 0.01 en Huicholes y Coras, mientras que en Tarahumaras fue de 0.04. Para *CYP3A5\*3* las frecuencias fueron de 0.06, 0.14 y 0.32 en Huicholes, Coras y Tarahumaras, respectivamente. *CYP3A5\*6* solo se identificó en Coras y Tarahumaras con una frecuencia de 0.01 y el alelo *CYP3A5\*7* no se encontró en ningún grupo. Las diferencias en las frecuencias alélicas no fueron estadísticamente significativas. Las frecuencias del *CYP3A4\*1B* son más bajas que las observadas en Tepehuanos de Durango (0.08) y en otros grupos indígenas del sur de México, e igualmente bajas para el alelo *CYP3A5\*3* en comparación con las de Caucásicos (0.85), hispanos (0.76) y asiáticos (0.71).

## ABSTRACT

Have been reported many genetic polymorphisms that affect the functionality of the CYP450 enzymes, which are a major cause of adverse effects or therapeutic failure by drugs. *CYP3A4* and *CYP3A5* are the most important isoforms in drug metabolism and more abundant in the liver and intestine. Between polymorphisms that severely reduced the synthesis of these enzymes and affect the hydroxylation of different drugs are *CYP3A4\* 1B* y *CYP3A5\* 3*, \* 6 and \* 7. These variants have been studied in different ethnic groups, but few studies in the indigenous population. The objective of this study was to identify differences in the frequencies of polymorphisms between Amerindians Huichol, Cora and Tarahumara. We studied 50 individuals from each group. The determination of the polymorphisms was performed by PCR with Taqman probes. The frequency of *CYP3A4\* 1B* was 0.01 in Huichol and Cora, while in Tarahumara was 0.04. For *CYP3A5\* 3* frequencies were 0.06, 0.14 and 0.32 in Huichol, Cora and Tarahumara, respectively. *CYP3A5\* 6* was identified only Cora and Tarahumara with a frequency of 0.01 and *CYP3A5\* 7* allele was not found in any group. The differences in allele frequencies were not statistically significant. The frequencies of the *CYP3A4 \* 1B* are lower than those observed in Tepehuanos of Durango (0.08) and other indigenous groups in southern Mexico, and equally low for the allele *CYP3A5 \* 3* in comparison with Caucasians (0.85), Hispanics (0.76 ) And Asians (0.71).

## INTRODUCCIÓN

La variabilidad en la respuesta a los medicamentos en individuos tratados con las mismas dosis, se ve reflejada en la eficacia del tratamiento, en los efectos adversos y su toxicidad. Uno de los principales factores que influyen en la eliminación de los fármacos son las enzimas del citocromo P450 (CYP), cuya principal función es permitir que los fármacos sean más solubles en agua, y de esta forma ser más fácilmente eliminados en orina o en la bilis. La influencia de factores como la edad, el sexo, el estado nutricional, las funciones renal, hepática y factores ambientales (tratamiento concomitante, tabaco, alcohol, etc.) pueden modificar la actividad de las enzimas CYP. Asimismo, se ha demostrado que los polimorfismos genéticos de diferentes CYP, influyen sobre la mencionada variabilidad en la respuesta a fármacos. Los genes *CYP3A4* y *CYP3A5* que codifican para dos de las enzimas más importantes en el metabolismo de fármacos son muy polimórficos, lo que determina que dentro de las poblaciones humanas existan individuos con fenotipo metabolizador lento, rápido o ultrarrápido en la respuesta a medicamentos.

A pesar de la importancia que tiene el conocimiento de la variabilidad interétnica e interindividual en la respuesta a fármacos, en México existen escasos reportes de la frecuencia de los polimorfismos genéticos del CYP450 en los más 60 grupos étnicos que lo habitan.

El objetivo de esta investigación fue identificar las frecuencias alélicas y genotípicas en poblaciones de origen Huichol, Cora y Tarahumara así como determinar la variabilidad interétnica entre grupos.



## CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

### 1.1. Biotransformación

El metabolismo de xenobióticos es una estrategia común del organismo para convertir los compuestos lipofílicos en sustratos más hidrofílicos y de esta forma facilitar su eliminación. Figura 1.

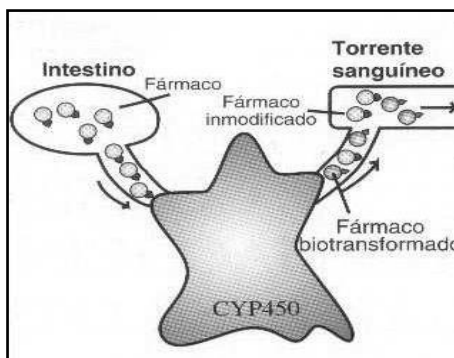


Figura 1. Biotransformación de fármacos

Este proceso está constituido principalmente por dos tipos de reacciones:

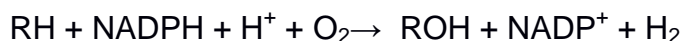
- Reacciones de Fase I:

Son reacciones llevadas a cabo principalmente por la superfamilia de enzimas hepáticas del CYP450. Estas enzimas catalizan una gran cantidad de reacciones que incluyen epoxidaciones, N- desalquilaciones, reducciones, S-oxidaciones e hidroxilaciones de sustratos aromáticos y alifáticos (Guengerich, 1993).

Las enzimas CYP son oxigenasas ya que utilizan una molécula de O<sub>2</sub>, pero solo emplearán un átomo para la oxidación del sustrato (por ello son llamadas monooxigenasas), mientras que el otro es reducido para formar agua, por los equivalentes de reducción proporcionados por el co-sustrato NADPH.

(Nelson, 2002).

La reacción general catalizada por el CYP es la siguiente:



- Reacciones de Fase II:

Son las reacciones cuyos sustratos son los productos activos de las enzimas de Fase I, los cuales son convertidos en compuestos más polares e hidrosolubles al ser conjugados con ácido glucorónico, sulfatos, acetato, glutatión, aminas, aminoácidos y grupos metilo de origen endógeno, lo que facilita su eliminación por las vías renal o biliar (Bailliet *et al.*, 2007).

## 1.2. Citocromo P450

Las enzimas del citocromo P450 están distribuidas en muchos tejidos como cerebro, riñón, pulmón, intestino e hígado, donde son particularmente abundantes (Brosen, 1993). Su estructura contiene un grupo hemo prostético (Protoporfirina IX) ligada a un grupo tiol de un residuo de cisteína, la cual se ubica cerca del extremo carboxilo-terminal de la proteína. El CYP450 posee una masa molecular entre 45 y 62 kD debido a la reducción de los enlaces de la hemoproteína ( $Fe^{+2}$ ) y a la unión con una molécula de monóxido de carbono (Omura y Sato 1964). Estas proteínas tienen además un inusual espectro de absorción a 450 nm, como resultado del complejo que se forma entre el monóxido de carbono y el grupo hemo de la proteína, por lo cual se les denomina CYP450 (Omura y Sato 1964).

Los CYP450 se clasifican en familias y subfamilias de acuerdo a la similitud en su secuencia de aminoácidos (Nelson *et al.*, 1993; Orellana y Guajardo, 2004) De tal forma, que los nombres de las familias del CYP450, son asignadas cronológicamente siguiendo la determinación de la secuencia primaria de la proteína. Aquellas proteínas CYP que presentan 40% o más de identidad en su secuencia, son incluidas en la misma familia, designada por un número arábigo que va después del término CYP (ej: CYP2A6 y CYP2B6 son enzimas que pertenecen a la familia 2). No obstante, si la nueva secuencia presenta una identidad menor del 40%, se genera una nueva familia. Las isoformas con más de 55% de identidad son incluidas en la misma subfamilia, designada por una letra mayúscula. Se emplea un último número arábigo para designar el gen que codifica una enzima específica. En el Cuadro 1 se

muestran las principales familias y subfamilias de enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos. (Chapple, 1998; González–Mendoza, 2007).

**Cuadro 1. Familias y subfamilias del CYP450**

FAMILIA	SUBFAMILIA	GEN INDIVIDUAL
CYP1	CYP1A	CYP1A1, CYP1A2
	CYP1B	CYP1B1
CYP2	CYP2A	CYP2A6, CYP2A7, CYP2A13
	CYP2B	CYP2B6
	CYP2C	CYP2C8, CYP2C9, CYP2C10, CYP2C18 y CYP2C19
	CYP2D	CYP2D6
	CYP2E	CYP2E1
CYP3	CYP2J	CYP2J2
	CYP3A	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43
CYP4	CYP4B	CYP4B1

(Nelson, 2002).

También pueden clasificarse de acuerdo a su función principal en:

A. *Esteroidogénicas*. Están situadas en las mitocondrias. A este grupo pertenecen las familias 5, 7, 11, 17, 19, 21 y 27 (Guengerich, 1993; Nebert y González, 1987; Nelson *et al.*, 1993). Su función es convertir las sustancias que consumimos en constituyentes necesarios para mantener la integridad de la pared celular (esteroides, ácidos biliares, colesterol y prostaglandinas). Su déficit es incompatible con la vida (González, 1992; Guengerich, 1992).

B. *Xenobióticas*. Evolucionaron de las esteroidogénicas durante el período de diferenciación planta-animal. Éstas, metabolizan sustancias biológicas exógenas (de allí el prefijo xeno) permitiendo su eliminación. Se localizan en el retículo endoplasmático liso. A este grupo pertenecen las familias 1, 2, 3, 4 (González, 1990; Guengerich, 1993; Nebert y González, 1987; Nelson *et al.*, 1993; Cuadro 1). Su función es desintoxicar las sustancias consumidas (toxinas, cancerígenos, fármacos, mutágenos), sin embargo, no siempre ocurre eso, ya que pueden originar intermediarios reactivos («activación») capaces de formar uniones covalentes con

macromoléculas, lo cual genera una acción carcinogénica, inmunotóxica o necrótica. Su déficit no es incompatible con la vida (Brosen, 1990; Figura 2). La mayoría de los diferentes fármacos, son metabolizados por una o más enzimas CYP450 xenobióticas.

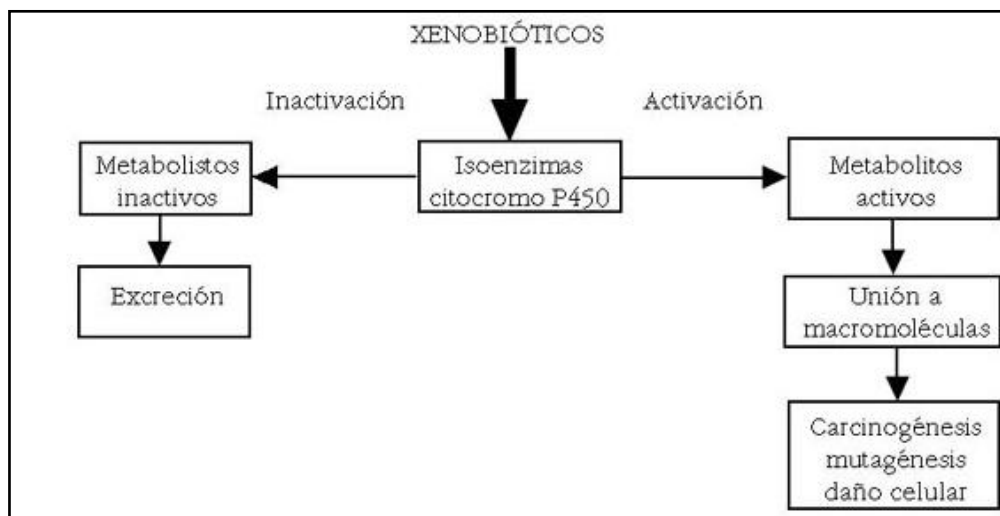


Figura 2. Reacciones de activación o inactivación mediadas por enzimas del Citocromo P450

### 1.3. CYP3A

CYP3A está conformada por las isoformas: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43, las cuales se encargan del metabolismo y eliminación de aproximadamente el 50% de los fármacos usados en la práctica clínica (Shimada *et al.*, 1994). CYP3A7 es una proteína fetal, CYP3A43 se expresa en niveles muy bajos en algunos tejidos, mientras que en adultos CYP3A4 y CYP3A5 son las isoformas predominantes en intestino e hígado, donde representan entre el 30% y 50% del total de las enzimas del CYP450. El CYP3A también se expresa en otros tejidos como la glándula adrenal, cerebro, esófago, riñón, pulmón, próstata y estómago (Sinues *et al.*, 2007).

El CYP3A tiene afinidad selectiva por diversos compuestos endógenos como ácidos biliares, ácidos grasos y prostaglandinas (Nelson *et al.*, 1996). Además, participa en la biotransformación de numerosos fármacos de uso actual como analgésicos, anestésicos, antibióticos, anticancerígenos, anticonvulsivantes, anticoagulantes, antiestrógenos, antivirales, benzodiazepinas, bloqueadores de calcio, entre otros



(Cuadro 2; Cholerton *et al.*, 1992; Wrighton *et al.*, 2000). También está involucrado en la activación de plaguicidas organofosforados (Dai *et al.*, 2001) y de carcinógenos como el benzo[a]pireno y otros derivados de hidrodioles de hidrocarburos aromáticos policíclicos y micotoxinas carcinógenas (Nebert y González, 1987; Li *et al.*, 1995).

#### **1.4. Inhibición e inducción del CYP3A**

La inhibición de la enzima se lleva a cabo por competencia reversible del lugar de unión al sustrato, como consecuencia, disminuye su actividad funcional causando una reducción en el aclaramiento de fármacos y aumentando, aún en dosis terapéuticas, la biodisponibilidad, concentración, vida media y efectos secundarios (Galli y Feijo, 2002; Nemeroff *et al.*, 1996; Ketter y Worthington, 1991; Von Moltke *et al.*, 1994; Cuadro 2).

La inducción se lleva a cabo estimulando la síntesis proteica de la enzima, aumentando su actividad funcional y causando con esto una reducción de la concentración del fármaco, similar al de una reducción de la dosis. La duración del efecto depende de la vida media del fármaco o bien su acción como agente inhibidor o inductor (Galli y Feijo, 2002; Nemeroff *et al.*, 1996; Ketter y Worthington, 1991; Von Moltke *et al.*, 1994; Cuadro 2).

**Cuadro 2. Sustratos, inductores e inhibidores del CYP3A4 Y CYP3A5**

SUSTRATOS EXÓGENOS	INDUCTORES	INHIBIDORES
<p><b>Antidepresivos:</b> amitriptilina Imipramina, nefazodona, sertralina</p> <p><b>Antihistamínicos:</b> Clorfenamina</p> <p><b>Anticonvulsivantes:</b> Carbamacepina, clonazepam, etosuximida zonisamida</p> <p><b>Analgésicos-anestésicos:</b> Alfentailina, etilmorfina, fentanil, lidocaina</p> <p><b>Antibióticos:</b> azitromicina, claritromicina, clindamicina, dapsona, eritromicina, rifampicina</p> <p><b>Antihipertensivos:</b> amlodipina, diltiazem, Felodipina, losartan, nircadipina, nifedipina</p> <p><b>Psicotrópicos:</b> alprazolam, benzfetamina, clozapina, diazepam, midazolam, zolpidem Triazolam</p> <p><b>Quimioterápicos:</b> busulfan, ciclofosfamida doxorubicina</p> <p><b>Inmunosupresores:</b> ciclosporina, rapamicina, tacrolimus</p> <p><b>Drogas de abuso:</b> Derivados del opio y cocaína.</p> <p><b>Contaminantes ambientales:</b> Benzo[a]pirenos, aflatoxina B1, 6-aminocriseno.</p>	<p><b>Antituberculosis:</b> rifampin, rifampicina, rifabutin</p> <p><b>Anticonvulsivantes:</b> fenitoína, fenobarbital, carbamacepina</p> <p><b>Glucocorticoides:</b> dexametasona</p> <p><b>Hierba de San Juan</b></p> <p><b>Antibióticos macrólidos:</b> eritomicina</p>	<p><b>Antifúngicos:</b> ketokonazol, fluconazol, itraconazol, miconazol</p> <p><b>Antibióticos macrólidos:</b> troleandromicina</p> <p><b>Inhibidores proteasa VIH:</b> ritonavir, indinavir, amprenavir</p> <p><b>Antidepresivos:</b> fluvoxamina, fluoxetina, nefazodona</p> <p><b>Antiarrítmicos:</b> amiodarona</p> <p><b>zumo de uva</b></p>

**Fuente:** Drug-interactions, 2003,

## 1.5. CYP3A4

En humanos el gen *CYP3A4* está localizado en el cromosoma 7, en la región 7q 21.3-22.1. Tiene una longitud de 27 Kb y está constituido de 13 exones y 12 intrones. La región promotora incluye una caja TATA, esta región además contiene varios sitios de unión para factores de transcripción, tales como la proteína de unión al octámero (Oct-1), proteínas de unión a CCAAT (CP-1), proteína activadora 3 (AP-3), receptor de estrógenos (ER), receptor progesterona/glucocorticoide (PR/GR), factor nuclear hepático 4 y 5 (HNF4, 5) y P53. Varios factores de transcripción se han asociado con la regulación del gen *CYP3A4*, tales como CAR, ER, FXR, GR, PXR y VDR, los cuales intervienen en la inducción de *CYP3A4*, dependiente de xenobióticos (Gibson, 2002).

El CYP3A4 presenta una variación interindividual tanto en su expresión como en su actividad. Se han encontrado variaciones de más de 40 veces en los niveles de expresión del CYP3A4 en hígado (Shimada, 1994) y de 10 veces en el metabolismo de sustratos *in vivo* (Thummel y Wilkinson, 1998). Estas diferencias pueden ser atribuidas a los polimorfismos que presenta el gen *CYP3A4*.

Se han encontrado múltiples polimorfismos, sin embargo pocos afectan la transcripción o actividad del CYP3A4 en relación con el alelo silvestre *CYP3A4\*1A* (González, 1988). Las variantes *CYP3A4\*1B*, *CYP3A4\*2*, *CYP3A4\*4*, *CYP3A4\*5* y *CYP3A4\*18* se han relacionado con una alteración en la actividad de este citocromo y con diversas enfermedades.

La variante alélica *CYP3A4\*1B* consiste en un cambio de una adenina por guanina (A-392G) en la región conocida como elemento específico de nifedipina (NFSE) localizado dentro de la región 5' del gen *CYP3A4* (Rebbecket *al.*, 1998; Sata *et al.*, 2000), que resulta en una disminución en la afinidad de unión de factores de transcripción, provocando un decremento en la actividad transcripcional. Respecto a esta variante, es importante señalar que se le ha asociado con mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer de próstata, las poblaciones de raza negra son quienes

presentan una mayor predisposición a desarrollar esta enfermedad. La incidencia de este padecimiento varía sustancialmente entre grupos étnicos, los afro-americanos presentan la mayor incidencia en todo el mundo, lo que concuerda con la alta frecuencia alélica 0.66 encontrada de dicha variante en esta población (Sata *et al.*, 2000), mientras que en asiáticos es menor (Miller *et al.*, 1996), por lo que es posible relacionar la nula frecuencia de la variante *CYP3A4\*1B* en esta población con la poca incidencia de cáncer de próstata (Cuadro 3).

La hipótesis que sostiene que el CYP3A4 está involucrado en el desarrollo de cáncer de próstata se basa en que esta proteína participa en el metabolismo de la testosterona, hidroxilándola y por lo tanto inactivándola. De este modo, aquellos individuos que porten la variante *CYP3A4\*1B* presentarán una disminución en los niveles de CYP3A4, lo cual promoverá una mayor biodisponibilidad de testosterona. Al existir un aumento en los niveles de esta hormona, se fomenta la conversión de esta en dihidrotestosterona, el principal andrógeno involucrado en la regulación de la proliferación celular en próstata (Rebbek, 1998).



**Cuadro 3. Frecuencias alélicas del CYP3A4 \*1B en distintas poblaciones**

POBLACIÓN	FRECUENCIA ALÉLICA <i>CYP3A4*1B</i>	REFERENCIA
Mestizos ( Durango)	0.088	Reyes-Hernández <i>et al.</i> , 2008
Mestizos (Distrito Federal)	0.058	Reyes-Hernández <i>et al.</i> , 2004
Ecuatorianos	0.08	Sinues <i>et al.</i> , 2008
Espanoles del norte	0.04	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Espanoles del sur	0.04	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Hispanoamericanos	0.093	Ballet <i>al.</i> , 1999
Hispanoamericanos	0.11	Paris <i>et al.</i> , 1999
Tepehuanos	0.08	Reyes-Hernández <i>et al</i> 2008
Afro americanos	0.55	Ballet <i>al.</i> , 1999
Afro americanos	0.55	Paris <i>et al.</i> , 1999
Afro americanos	0.66	Sata <i>et al.</i> , 2000
Alemanes	0.03	Dallyet <i>al.</i> , 2004
Ghaneses	0.069	Tayebet <i>al.</i> , 2000
Saudiárabes	0.09	Tayebet <i>al.</i> , 2000
Americanos blancos	0.036	Ballet <i>al.</i> , 1999
Americanos Blancos	0.09	Paris <i>et al.</i> , 1999
Finlandeses	0.042	Sata <i>et al.</i> , 2000
Caucásicos escoceses	0.05	Tayebet <i>al.</i> , 2000
Caucásicos españoles	0.04	Gervasiniet <i>al.</i> , 2005
Caucásicos portugueses	0.04	Cavacoet <i>al.</i> , 2003
Americanos japoneses	0.00	Ballet <i>al.</i> , 1999
Americanos japoneses	0.00	Paris <i>et al.</i> , 1999
Americanos chinos	0.00	Ballet <i>al.</i> , 1999
Americanos chinos	0.00	Paris <i>et al.</i> , 1999
Chinos	0.00	Sata <i>et al.</i> , 2000
Taiwaneses	0.00	Hsieh et al., 2001

## 1.6. CYP3A5

La expresión del CYP3A5 es altamente variable en el hígado, debido en gran parte a la alta frecuencia de la variante *CYP3A5\*3* que presenta la sustitución de una sola base en el intrón 3, y resulta en un procesamiento incorrecto del ARN mensajero y en una proteína no funcional (Lee *et al.*, 2003). Esta variante es un factor potencial de diferencias en la respuesta a fármacos, que además se ha asociado con un aumento de la presión arterial en Afroamericanos. Su frecuencia varía de acuerdo al grupo étnico, presentando los españoles y alemanes las frecuencias más altas (Cuadro 4; Aklillu, 2006; Givens *et al.*, 2003). Otros alelos como *CYP3A5\*6* y *\*7*, disminuyen la síntesis de la enzima funcional y la hidroxilación de fármacos como midazolam (Cavaco, 2003). Por lo tanto, la expresión polimórfica del *CYP3A5* debe ser un factor que contribuye a la marcada variación interindividual observada en el metabolismo de fármacos, mediada por la subfamilia *CYP3A*.

**Cuadro 4. Frecuencias alélicas del *CYP3A5 \*3* en distintas poblaciones**

POBLACIÓN	FRECUENCIA ALÉLICA <i>CYP3A5*3</i>	REFERENCIA
Caucásicos	0.85	Balrametal., 2003
Afroamericanos	0.45	Balrametal., 2003
Japoneses	0.77	Balrametal., 2003
Chinos	0.76	Balrametal., 2003
Malayos	0.061	Balrametal., 2003
Indianos	0.059	Balrametal., 2003
Centro americanos	0.76	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Ecuatorianos	0.88	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Españoles del norte	0.91	Gervasiniet al., 2005
Españoles del sur	0.91	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Alemanes	0.94	Dallyet al., 2004

### **1.7. Impacto de los polimorfismos en el metabolismo de fármacos**

Las reacciones adversas a medicamentos constituyen una de las principales causas que condicionan morbilidad y mortalidad en los pacientes e incrementan los costos de salud. Un estudio en Reino Unido sugiere que 1 de cada 15 ingresos en hospitales se debe a reacciones adversas a fármacos, mientras que un análisis realizado en Estados Unidos muestra que unos 2.2 millones de norteamericanos hospitalizados cada año, tienen reacciones adversas a los fármacos aun cuando estos se han prescrito y administrado adecuadamente (He P *et al.*, 2005; Lazarou *et al.*, 1998; Plummer *et al.*, 2003; Zeigler-Johnson *et al.*, 2004).

Se ha determinado que muchas de esas variaciones individuales en la respuesta a fármacos son ocasionadas por factores genéticos como los polimorfismos (He P *et al.*, 2005; Lazarou *et al.*; 1998; Plummer *et al.*; 2003; Zeigler-Johnson *et al.*, 2004). El cual se define como una variedad genética que puede aparecer en al menos el 1% de la población. Debido a esto, la capacidad metabólica del sistema de enzimas CYP no es igual en todos los miembros de una población. La conversión metabólica y la tasa de excreción de fármacos varían entre individuos, desde extremadamente lentos a ultrarrápidos (Sinues *et al.*, 2007). Es por ello que las diferencias fenotípicas en la cantidad del compuesto que se excreta por una vía controlada mediante mecanismos polimórficos, ha permitido que se clasifique a las personas en metabolizadores lentos (ML) metabolizadores rápidos (MR), y ultra-rápidos (MUR). Clínicamente, los ML serían aquellos individuos con tendencia a presentar efectos adversos cuando se les administran las dosis usadas para la mayoría de la población. Ante las mismas dosis los MUR tenderían a presentar fracaso terapéutico. (Sinues *et al.*, 2007).

## 1.8. Amerindios

Amerindio se deriva del término «indio americano». Este término designa a todos los pueblos originarios de América y a sus descendientes modernos no mestizados. La población amerindia actual en cifras concretas se estima entre 50 y 60 millones de personas en todo el continente (Greenberg y Merritt ,2007)

El continente americano es una de las zonas más diversas etnolingüísticamente. La clasificación de filogenética de las lenguas indígenas de América se agrupan en 80 unidades filogenéticas (Greenberg y Merritt ,2007).

Entre las clasificaciones más polémica se influyentes es la hipótesis amerindia de Joseph Greenberg (1987) que sugiere que las lenguas indígenas americanas se pueden agrupar en tres unidades filogenéticas

- Las lenguas amerindias propiamente dichas, que englobaría la gran mayoría de lenguas americanas.
- Las lenguas esquimo-aleutianas, que formarían parte de una supuesta macrofamilia euroasiática.
- Las lenguas na-dené, que formarían parte de la hipotética macrofamilia de né-caucásica.

Además propone una división en grupos de las lenguas amerindias sobre una evidencia lingüística (Greenberg y Merritt, 2007).

### **1.8.1. Población indígena mexicana.**

México se distingue a nivel mundial por su gran diversidad étnica, determinada por más de 60 grupos etnolingüísticos con tradiciones particulares que conservan características de sus formas de vida ancestrales.

El número de individuos que compone a las poblaciones indígenas en México es considerable. Según el 2<sup>do</sup> Censo de población y vivienda 2005 (INEGI, 2005), el número de hablantes de lengua indígena era de 6, 011,202 correspondiendo a un 6% de la población total del país.

Por lo general se acepta que las condiciones socioeconómicas indígenas, tales como los ingresos, la educación, la dieta, el tipo de vivienda y el acceso a los servicios de salud, pueden influir en el estado de salud. Sin embargo son pocos los estudios que han analizado la influencia de la característica grupo étnico en el estado de salud (Navarrete, 2008).

.

### **1.8.2. Huicholes**

Los *wixaritari* (singular: *wixarika*) o huicholes son uno de los cuatro grupos indígenas que habitan en la región conocida como el Gran Nayar, en la porción meridional de la Sierra Madre Occidental (Johannes, 2003). La palabra *wixarika* significa “huichol”, la cual es una versión castellanizada de este término. El territorio tradicional de la población Huichola se encuentra ubicado a ambos lados del cañón del río Chapalagana, abarcando porciones de cuatro estados: Jalisco, Nayarit, Durango y Zacatecas (Johannes, 2003). Se encuentran distribuidos principalmente en los municipios de Mezquitic y Bolaños, Jalisco; El Nayar y La Yesca, Nayarit y Mezquitil, Durango. El 2<sup>do</sup> Censo de población y vivienda del 2005 estimó que el total de población en hogares huicholes fue de 43,929 (INEGI 2005).

El huichol está emparentado con el náhuatl, el pima, el yaqui y el cora, los cuales forman parte de la familia Yuto-azteca (Figura 3; Johannes, 2003).

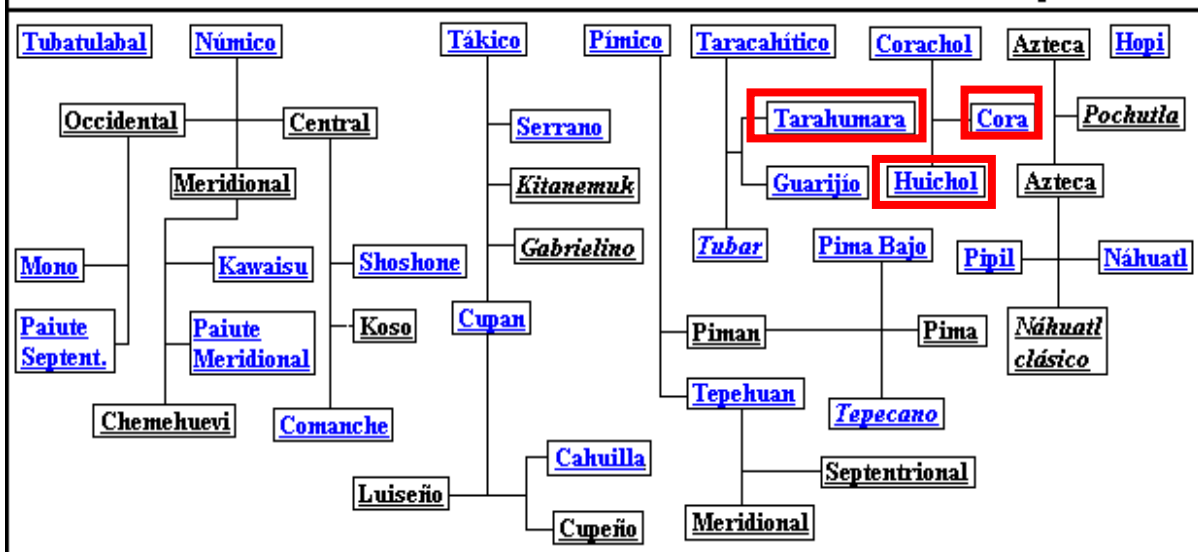


Figura 3. Tronco de lenguas Yuto- Azteca

Los huicholes distinguen dos tipos de enfermedades: las originarias de la sierra y las traídas por los españoles. Las primeras son aquellas que forman parte de su cosmovisión y que requieren de la medicina tradicional para su curación; en cambio, las segundas deben ser tratadas con la medicina científica (Johannes, 2003).

Las enfermedades más comunes en la población son: infecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel; parasitosis, tuberculosis, problemas dentales, partos de alto riesgo y cáncer cervico-uterino y mama. La desnutrición afecta a la mayoría de la población (CDI, 2009).

### 1.8.3. Coras

El territorio ocupado por el grupo cora abarca la porción noreste del estado de Nayarit; está limitado al norte por el estado de Durango, donde habitan los tepehuanos y algunos mexicaneros; por el oriente hasta los límites de Jalisco habitado por huicholes y mestizos; desde los ríos Jesús María y Chapalagana hasta el río Santiago al sur, y por el oeste con la localidad de San Pedro Ixcatlán y el río



San Pedro. La población cora se concentra en los municipios del Nayar, Acaponeta, Rosamorada y Ruiz, en el estado de Nayarit. Los principales pueblos son: Jesús María, Mesa del Nayar -centro ceremonial- y Santa Teresa. Los coras de la costa habitan principalmente en el municipio de Ruiz (Jáuregui, 2004).

Los coras se llaman a sí mismos *Nayeri*, aunque existen gentilicios para los habitantes de cada comunidad; de tal manera que a los habitantes de Santa Teresa se les conoce como tereseños o quamaruci, a los de Jesús María, maritecos o chusete y a los de Mesa del Nayar, meseños o yohke. En el año 2005 la población cora se estimó en 17,086 habitantes, quienes hablan su lengua natal perteneciente a la familia yuto-azteca, que junto con el idioma huichol, conforma la subfamilia corachol (Figura 3) (Jáuregui, 2004).

En la cosmovisión indígena, los curanderos o médicos tradicionales tienen la capacidad de curar o provocar enfermedades ya que tienen como aliados a los dioses y a los espíritus, y pueden transitar entre el mundo natural y el sobrenatural. Lo anterior no significa que en sus prácticas no utilicen medicamentos alópatas u otros elementos relacionados con la medicina institucional; sin embargo de acuerdo a su concepción mágico-religiosa del proceso salud-enfermedad las medicinas no surten efecto si antes el hombre cora no ha arreglado cuentas con los dioses (CDI, 2009).

Entre la población es frecuente la desnutrición, las enfermedades de la piel y las gastrointestinales, en parte debido a la escasez de agua, tanto potable como no potable (CDI, 2009).

#### **1.8.4. Tarahumaras**

Los tarahumaras se llaman a sí mismos *rarámuri*, que traducen como “gente en oposición al mestizo”, al hombre de barba, el chabochi o *yorí* (Pintado, 2004).

La mayoría de los tarahumaras viven en la Sierra Tarahumara, ubicada en el noroeste de México, en el estado de Chihuahua. Es una región donde escasea el

agua, de clima extremo: con profundas y calurosas barrancas, al igual que elevadas y frías cumbres. Pese a las prolongadas sequías, la Sierra se distingue por su inmensidad y su impactante belleza (Pintado, 2004).

La lengua tarahumara forma parte de la familia yuto-azteca (Figura 3), que se extiende desde Utah en los Estados Unidos hasta Centroamérica y está considerada junto con el concho y el guarijío dentro del subgrupo cahíta-ópata-tarahumara, emparentado con el subgrupo pima-tepehuano y el corahuichol (Pintado, 2004).

La diversidad de lenguas yuto-aztecas que se hablan en el noroeste de México puede ser indicativa de que los hablantes de estas lenguas han ocupado el territorio por miles de años, la población indígena hablante de la lengua nativa tarahumara para el año 2005 fue de 75,321 individuos mayores de 5 años de edad (INEGI 2005, Pintado, 2004).

Desde la perspectiva de este grupo, la salud refleja la calidad de las relaciones del individuo con otros seres del universo pues el que sean protegidos o dañados por ellos, depende de la interacción del hombre con los seres sobrenaturales. El cuerpo está constituido por sapá (partes carnosas o músculos), ochí (huesos) y lá (sangre), animados por una o más almas. Las enfermedades más serias son aquellas que pueden causar la pérdida definitiva de las almas y que suelen ser provocadas por algún hechicero o por la ingestión de las plantas jícuri o bakánowi. Los trastornos comunes son tratados a nivel doméstico, donde el sipáame o raspador es quien cura por medio de la raspa del jícuri y el bakánow; el owirúame que cura por succión; el onéame que sana a través de los sueños; y el wanáame quien también succiona el mal. Las enfermedades más comunes en este grupo indígena son respiratorias y gastrointestinales (Pintado, 2004).

## CAPÍTULO II

### 2. JUSTIFICACIÓN

Dado que se han descrito diferencias interétnicas significativas en tepehuanos, españoles, africanos y asiáticos entre otros grupos, en la frecuencia de los polimorfismos en los genes *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3, \*6 y \*7*, los cuales son factores de riesgo para inducir toxicidad y falla terapéutica por fármacos y otros xenobióticos, se considera importante estudiar su frecuencia en grupos indígenas de México. Aunque los grupos indígenas son considerados una minoría poblacional (6% del total), representan una proporción importante de la población mexicana y no necesariamente presentan una estructura genética similar a la población mestiza Mexicana.

Su estudio desde esta perspectiva, constituye un instrumento útil para la generación de terapias farmacológicas, a partir de un conocimiento farmacogenético que permita la identificación de medicamentos de alto riesgo en estas poblaciones, y la predicción de su respuesta al tratamiento.

### **CAPÍTULO III**

#### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Existen diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3,\*6,\*7* entre amerindios Huicholes, Coras y Tarahumaras?

### **CAPÍTULO IV**

#### **4. HIPÓTESIS**

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3,\*6,\*7* entre amerindios Huicholes, Coras y Tarahumaras son diferentes.

## CAPÍTULO V

### 5. OBJETIVOS

#### 5.1. General

Identificar las diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3,\*6,\*7* entre Huicholes, Coras y Tarahumaras.

#### 5.2. Específicos

- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3\*6\*7* en poblaciones de origen Huichol, Cora y Tarahumara.
- Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas del *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3\*6\*7* entre las poblaciones de estudio.

## CAPÍTULO VI

### 6. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 6.1. Diseño

Ambispectivo, transversal y comparativo.

#### 6.2. Sujetos de estudio

Los indígenas de origen Huichol, son habitantes de la comunidad de Bancos de Calítique (520 habitantes), del municipio del Mezquital, del estado de Durango y de la comunidad el Naranjo (240 habitantes) del municipio de Ruiz, del estado de Nayarit.

Los indígenas de origen Cora, son habitantes de la comunidad de San Juan Corapan (832 habitantes), del municipio de Ruiz, del estado de Nayarit.

Los indígenas de origen Tarahumara, son habitantes de la comunidad de Choguita (290 habitantes) del municipio de Guachochi, del estado de Chihuahua.

#### 6.3. Tamaño de muestra

Para el estudio de las variantes *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3\*6\*7*, se estableció un tamaño de muestra de 50 sujetos de cada grupo indígena.



#### 6.4. Criterios de selección

##### Inclusión

- Hombres y mujeres
- Mayores de 18 años
- Firmen la carta de consentimiento informado
- Ancestría indígena de 3 generaciones
- Pertenencia a las etnias Huichol, Cora y Tarahumara

##### Exclusión

- Personas mestizas.
- Personas de un grupo indígena diferente a los del estudio.

##### Eliminación

- Muestras de sangre insuficiente, contaminada y/o con ADN degradado.
- Retiro de su consentimiento informado.
- Relación parental en 1<sup>ro</sup> a 2<sup>do</sup> grado.

#### 6.5. Variable dependiente

Diferencias en las Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del *CYP3A4* \*1B y *CYP3A5* \*3, \*6, \*7.

*-Variable cualitativa policotómica.*

- Frecuencias alélicas y genotípicas del *CYP3A4* 1\*B y del *CYP3A5* 3\*, 6\* y 7\*

La cual se determinará como homocigoto silvestre (ambos alelos *CYP3A4*\*1A), heterocigoto (un alelo mutado y otro silvestre), homocigoto mutado (ambos alelos mutados).

## 6.6. Variable independiente

Poblaciones de origen huichol y cora, de los estados de Nayarit y Durango y tarahumaras de Chihuahua.

*-Variable cualitativa policotómica.*

Se determinó con una entrevista previa a los sujetos de estudio, donde se preguntó: origen indígena, lengua nativa y ancestría indígena de 3 generaciones.

## 6.7. Variables intervinientes

El análisis de estas variables, permitió describir las poblaciones indígenas de estudio, desde diferentes puntos de vista como: características antropométricas, estado de salud y hábitos alimenticios, los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas se le entregaron a cada voluntario, con el fin de obtuvieran un beneficio al participar en esta investigación.

- Género

*-Variable cualitativa dicotómica.*

- Se registro de acuerdo al fenotipo observado: hombre o mujer

- Edad

*- Variable cuantitativa continua.*

Para fines de este estudio se consideró la edad en años cumplidos de acuerdo a la fecha de nacimiento.

- Peso

*- Variable cuantitativa continua.*

Para fines de este estudio se midió el peso mediante una báscula analítica, previamente calibrada, donde se pesó a las personas en ayuno de pie, con ropa ligera y sin zapatos el resultado se expresó en kilogramos. Indicador valores expresados en Kg.

- Talla

- *Variable cuantitativa continua.*

Para fines de este estudio se determinó la talla de acuerdo a la estatura medida con una cinta métrica expresada en metros, se midió a las personas de pie sin calzado y se determinó la estatura desde el talón hasta la parte superior de la cabeza. Indicador valores expresados en metros (m).

- Índice de masa corporal (IMC)

- *Variable cuantitativa continua.*

Se calculó utilizando el índice de Quetelet, con la fórmula:  $\text{Peso (Kg)} / \text{talla (m}^2\text{)}$ . Para fines de este estudio se considerará obesidad a los valores de IMC mayores o iguales a 30. Indicador valores expresados en  $\text{Kg} / \text{m}^2$ .

Para efectos del presente estudio y la determinación de las siguientes variables, se tomó muestra sanguínea, de los participantes en condición de ayuno, de aproximadamente 10 horas, manifestado por el entrevistado antes de la toma de su muestra. Los valores de referencia establecidos se determinaron de acuerdo al estudio de González D, 2008.

- Perfil Hepático

-*Variables cuantitativas continuas.*

Se midió de acuerdo a los niveles séricos de Aspartato amino transferasa (AST) y Alanina amino transferasa (ALT) mediante técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia de AST (5- 32U/L) y de ALT (7-33U/L).

- Perfil Lipídico

-*Variables cuantitativas continuas.*

**TRIGLICERIDOS.** Se consideraron triglicéridos totales a los valores séricos de triglicéridos en suero venoso determinados mediante técnicas enzimáticas. Se

tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia 40-149 mg/dL.

*COLESTEROL*. Se consideró colesterol total a los valores séricos de colesterol determinados por técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia 150-200 mg/dL.

*LIPIDOS DE BAJA DENSIDAD* (por sus siglas en ingles LDL) se determinaron mediante los valores séricos de LDL en suero venoso utilizando técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del valor de referencia  $\leq 130$  mg/dL.

*LIPIDOS DE ALTA DENSIDAD* (por sus siglas en ingles HDL) se determinaron mediante los valores séricos de HDL en suero venoso utilizando técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia para hombre 35-55 mg/dL y para mujer 45-65 mg/dL.

*LIPIDOS DE MUUY BAJA DENSIDAD* (por sus siglas en ingles VLDL) se determinaron mediante la siguiente fórmula: los valores séricos de Triglicéridos/ 5 en suero venoso utilizando técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia favorables 6-37 mg/dL.

*INDICE ATEROGÉNICO*. Se determinó mediante la siguiente formula Colesterol total / HDL en suero venoso, se tomaron valores de referencia hombres  $< 4.9$  y mujeres  $< 4.4$ .

*GLUCOSA*. Se consideró la medición de glucosa en ayuno por los valores séricos de glucosa determinados por técnicas enzimática. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia 60-99 mg/dL.

*CREATININA*. Se consideró la medición de creatinina a los valores séricos de creatinina determinados por técnicas enzimáticas. Se tomaron como valores normales los encontrados dentro del rango de referencia para hombres de 0.7-1.3 mg/dL y para mujer de 0.5-1.2 mg/dL.

## **6.8. Procedimientos.**

Este estudio comenzó con la selección de la población, de acuerdo a su origen indígena. A las personas que cumplieron con los criterios de inclusión, se les explicó el objetivo del estudio, invitándoles a participar. Las mediciones antropométricas, exploración física, historia clínica y farmacológica, hábitos alimenticios, tabaquismo, alcoholismo y tomas de muestra sanguínea, se realizaron solo después de la firma de la carta de consentimiento informado.

## **6.9. Métodos**

### **6.9.1. Extracción de ADN**

Se colectaron 5 mL de sangre periférica, de cada individuo, en tubos vacutainer con EDTA como anticoagulante. Posteriormente se extrajo el ADN, utilizando el kit DNA Mini y Blood Mini (QIAamp<sup>®</sup>), de QIAGEN<sup>®</sup>.

Este kit consta de los siguientes reactivos:

- Solución stock QIAGEN proteasa
- Buffer AL<sup>†</sup>
- Buffer AW1<sup>†</sup>
- Buffer AW2\*
- Columna Mini spin QIAamp
- Buffer AE

El procedimiento fue el siguiente:

1. Se colocaron 20 µL de proteinasa K (QIAGEN) en un tubo de micro centrifugación de 1.5 mL.
2. Se le adicionaron 200µL de la muestra (sangre total) al tubo de centrifugación.

3. Luego se agregaron 200µL del Buffer AL a la muestra y se mezcló por pulso-vortex por 15 seg.
4. Se incubó a 56°C por 10 min.
5. Brevemente se centrifugó para remover las gotas de la parte inferior de la tapa.
6. Se adicionaron 200 µL de etanol (90-100%) a la muestra, y se mezcló de nuevo por vortex-pulso por 15s, después de mezclar, se centrifugó brevemente el tubo para remover las gotas de la parte inferior de la tapa.
7. Cuidadosamente, se aplicó la mezcla del paso seis a la columna de Mini spin QIAamp y esta a su vez en un tubo de 2 mL, sin mojar el borde. Se cerró la tapa y se centrifugó a 8000 rpm por un min. Se colocó la columna antes mencionada en otro tubo de 2mL, y se desechó el tubo contaminado.
8. Cuidadosamente se abrió el tubo con la columna Mini spin QIAamp y se adicionaron 500µL del buffer AW1 sin mojar la tapa, se cerró el tubo y se centrifugó a 8000rpm por un minuto. Se colocó la columna antes mencionada en otro tubo de 2 mL, y se desechó el tubo contaminado.
9. Cuidadosamente se abrió el tubo con la columna Mini spin QIAamp y se adicionaron 500µL del buffer AW2 sin mojar la tapa, se cerró el tubo y se centrifugó a 14,000 rpm por tres min. Se colocó la columna antes mencionada en otro tubo de 2 mL, y se desechó nuevamente el tubo de 2 mL.
10. Se recomienda pasar la columna a otro tubo de 2mL y desechar el anterior, luego de centrifugar a alta velocidad por 1min.
11. Se colocó la columna QIAamp en un tubo limpio de 1.5mL previamente rotulado, cuidadosamente se adicionaron 200µL de buffer AE. Después se incubó el tubo a una temperatura de 15-25°C por 1 min y finalmente se centrifugó a 8000rpm por un min.

#### 6.9.2. Concentración y pureza del ADN genómico

Para determinar el grado de pureza de las muestras de ADN se obtuvo el cociente de la concentración de ADN/proteína. Mediante un NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer (marca THERMOSCIENTIFIC; Figura 4), se midió la cantidad de



ADN y proteína a una longitud de onda de 260 y 280 nm, respectivamente. Cuando el ADN tiene un cociente menor a 1.8 se considera con impurezas (Robert E y Farrell JR, 2010).



Figura 4. NanoDrop

### 6.9.3. Integridad del ADN

Para comprobar que el ADN genómico no está degradado, se realizó un análisis por electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Se cargaron 4µL de muestra por pozo y se corrió la electroforesis dentro de una cámara horizontal durante 45 min a 90 volts. El ADN se visualizó mediante luz UV en un transiluminador (Figura 5).

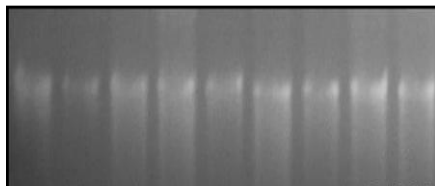


Figura 5. Gel de agarosa al 1% de ADN genómico

### 6.9.4. Determinación de las variantes alélicas del *CYP3A4\*1B* y del *CYP3A5 \*3,\*6,\*7* por PCR en tiempo real.

La determinación de los polimorfismos del *CYP3A4* y *CYP3A5* se realizó mediante PCR-Tiempo Real. La amplificación y detección de los alelos silvestres y/o mutantes se llevó a cabo mediante el uso de sondas TaqMan, las cuales son oligonucleótidos cuya secuencia es complementaria a la región central del amplicón, formadas de 13 a 18 nucleótidos, el extremo 5' está marcado con un reportero fluorescente y el extremo 3' con un apagador (quencher). Cuando estas dos moléculas se encuentran unidas por la sonda, toda la fluorescencia emitida por el reportero es absorbida por el apagador, por lo que la fluorescencia global observada es igual a cero, a este

fenómeno se le conoce como Forster (fluorescente) y FRET (transferencia de energía resonante) .Las sondas TaqMan tiene un  $T_m$  (temperatura por ciclo) mayor que los primers, la sonda se une a su secuencia blanco específica antes que los primers. De esta forma cuando la DNA polimerasa se une al extremo 3' del primer e inicia la elongación 5'→3'. Al ser degradada, libera al reportero del apagador (quencher) lo que suprime el fenómeno FRET y la fluorescencia emitida puede ser determinada por el sistema de detección del instrumento. La fluorescencia emitida es proporcional a la cantidad de sonda degradada, y esta a su vez es proporcional a la cantidad de templado generado, esto permite visualizar el incremento del amplicón a lo largo de la reacción de PCR (AppliedBiosystems, 2011).

Para la detección del alelo silvestre *CYP3A4\*1A* se utilizó una sonda TaqMan marcada con el fluorocromo VIC, mientras que para el alelo mutante (*CYP3A4\*1B*) se usó una sonda TaqMan marcada con el fluorocromo FAM.

Para la determinación de las variantes alélicas del *CYP3A5\*3, \*6, \*7* y detección del alelo silvestre *CYP3A5\*1*, se utilizaron sondas TaqMan marcadas con el fluorocromo FAM, mientras que para los alelos mutantes (*CYP3A5\*3* y *\*7*) se usaron sondas TaqMan marcadas con el fluorocromo VIC. El alelo mutante de la sonda *CYP3A5 \*6* fue marcado con VIC. Las sondas fueron diseñadas mediante el uso del Software Primer Express (AppliedBiosystems, 2011).La secuencia de las sondas para la variantes alélicas se muestra en el cuadro 5.

**Cuadro5. Secuencias de las sondas utilizados para el análisis de las variantes alélicas CYP3A4\*1B y CYP3A5 \*3, \*6 y \*7 mediante PCR-Tiempo Real.**

Nombre	Secuencia de sondas TaqMan
<b>CYP3A4</b> *1B(VIC/FAM)	<b>CYP3A4*1B –nif</b> VIC 5'-AAGGGCA <u>A</u> GAGAGAG-3' FAM 5'-AAGGGCAG <u>G</u> GAGAGAG-3'
<b>CYP3A5</b> *3 (FAM/VIC)	<b>C_26201809_30</b> ATGTGGTCCAAACAGGGAAGAGATA[T/C]TGAAAGACAAAAGAGCTCTTTAAAG
*6(VIC/FAM)	<b>C_30203950_10</b> CTAAGAAACCAAATTTAGGAACTT[C/T]TTAGTGCTCTCCACAAAGGGGTCTT
*7(FAM/VIC)	<b>C_32287188_10</b> CCATCTGTACCACGGCATCATAGGT[A/-]AGGTGGTGCCTGGAAGGAAAGAAAC

(Appliedbiosystems, 2011)

Amplificación por PCR-Tiempo Real. Este ensayo se realizó en un termociclador StepOne® de tiempo real marca AppliedBiosystems™. La mezcla de reacción al 1X contenía 2 µl de ADN genómico (~20 ng), 5 µl de Taqman Universal PCR Master mix (AppliedBiosystems™), 0.5µl de oligonucleótidos y sonda y 2.5µl de agua grado biología molecular. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo siguiendo las condiciones de amplificación que a continuación se describen:

:

- |        |        |  |
|--------|--------|--|
| • 95°C | 10 min | } Desnaturalización inicial<br>40 ciclos |
| • 95°C | 15 seg |  |
| • 60°C | 1 min  |  |

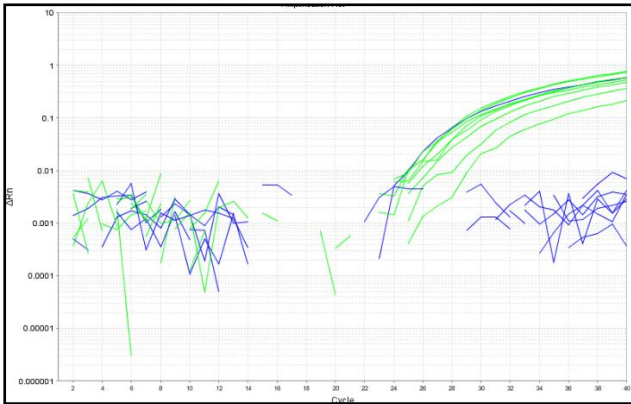


Figura 6. Amplificación de PCR t-real de muestras de ADN genómico.

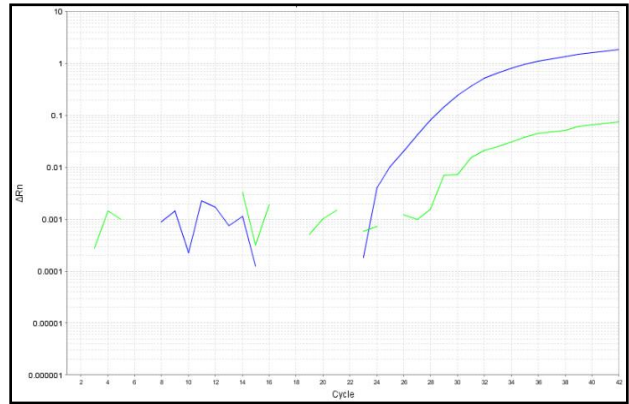


Figura 7. Amplificación de PCR t-real, Homocigoto silvestre.

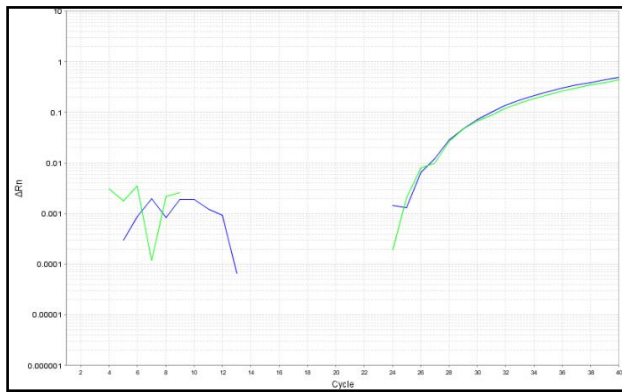


Figura 8. Amplificación de PCR t-real, Heterocigoto.

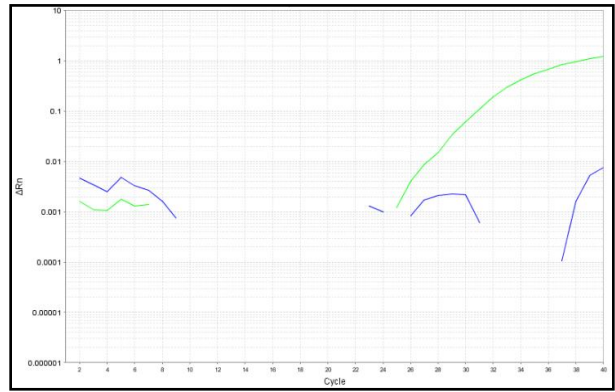


Figura 9. Amplificación de PCR t-real, Homocigoto mutado.

Discriminación alélica. Una vez concluida la reacción se observaron las curvas de amplificación de los alelos (Figuras 6).

En la figura 7 se observa mayor fluorescencia emitida por el fluorocromo FAM (línea azul) para la sonda C\_26201809, dicho fluorocromo indica el genotipo  $*1/*1$  (Homocigoto Silvestre), mientras que en la figura 8 se determinó la presencia de ambos fluorocromos FAM y VIC con la misma intensidad y magnitud debido a que representa un genotipo heterocigoto  $*1/*3$ . Finalmente la figura 9 determina un genotipo  $*3/*3$  donde el fluorocromo que marca este genotipo mutado es VIC (línea verde), el cual está en mayor cantidad y magnitud con respecto a FAM (línea azul), para el gen *CYP3A5*. En el cuadro 6 se indica la interpretación de las fluorescencias

obtenidas y el genotipo correspondiente de acuerdo a como fue marcada cada sonda.

**Cuadro 6. Tipos de fluorescencias y genotipos correspondientes obtenidos mediante PCR-Tiempo Real.**

Fluorescencia registrada	Genotipo
<i>CYP3A4*1B</i>	
Solo fluorescencia de VIC	Homocigoto para el alelo silvestre, <i>CYP3A4*1<sup>a</sup></i>
Solo fluorescencia de FAM	Homocigoto para el alelo mutante <i>CYP3A4*1B</i>
Ambas fluorescencias	Heterocigotos
<i>CYP3A5 *3</i>	
Solo fluorescencia de FAM	Homocigoto para el alelo silvestre, <i>CYP3A5*1</i>
Solo fluorescencia de VIC	Homocigoto para el alelo mutante <i>CYP3A5*3</i>
Ambas fluorescencias	Heterocigotos
<i>CYP3A5*6</i>	
Solo fluorescencia de VIC	Homocigoto para el alelo silvestre, <i>CYP3A5*1</i>
Solo fluorescencia de FAM	Homocigoto para el alelo mutante <i>CYP3A5*6</i>
Ambas fluorescencias	Heterocigotos
<i>CYP3A5*7</i>	
Solo fluorescencia de FAM	Homocigoto para el alelo silvestre, <i>CYP3A5*1</i>
Solo fluorescencia de VIC	Homocigoto para el alelo mutante <i>CYP3A5*3</i>
Ambas fluorescencias	Heterocigotos

(Appliedbiosystems, 2011)

Finalmente, se hizo la discriminación alélica la cual nos permite agrupar a los individuos de acuerdo a su genotipo. Así pueden distribuirse dentro de grupos como silvestres (puntos azules), heterocigotos (puntos verdes) y mutantes homocigotos (puntos rojos) (cuadro negro control negativo). La distribución de los puntos en el

plano cartesiano está en función de la cantidad de fluorescencia emitida por cada fluorocromo (FAM/VIC) y la concentración de ADN de cada muestra (Figura 10).

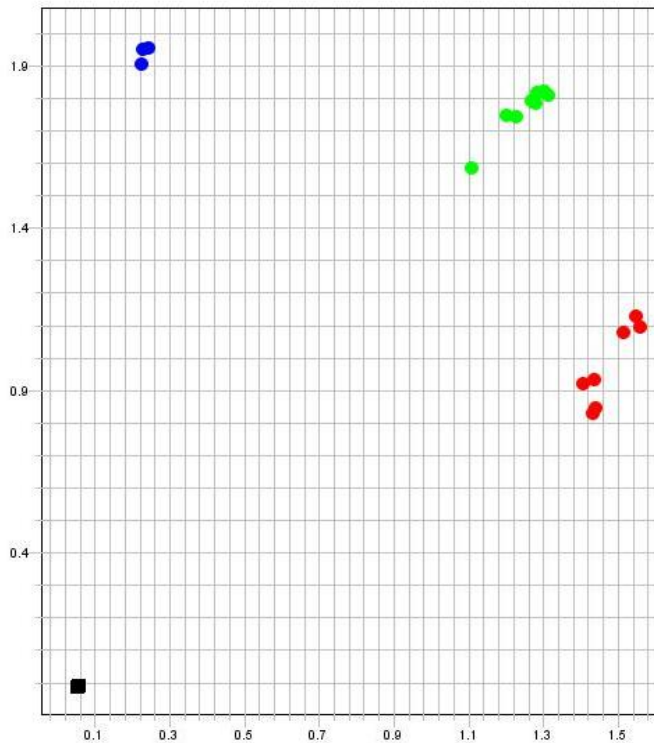


Figura 10. Gráfica de discriminación alélica.

### 6.10. Aspectos éticos

Este trabajo de investigación fue aprobado por el comité de Ética e investigación del Hospital General de Durango de la SSA. Se proporcionó una hoja informativa del estudio a cada sujeto y se firmó una carta de consentimiento informado, con la firma del voluntario y tres testigos.

### 6.11. Análisis estadístico

Los parámetros antropométricos y pruebas bioquímicas, se analizaron con estadística paramétrica mediante análisis de varianza (ANOVA de una vía), las diferencias entre cada uno de los grupos indígenas se determinaron por la prueba de Bonferroni. Para variables sin distribución normal se utilizó estadística no paramétrica, Kruskal Wallis.

También, se calcularon las frecuencias alélicas mediante la siguiente fórmula:

$(\text{Homocigotos mutados} * 2 + \text{Heterocigotos}) / \text{Total de sujetos} * 2$ . (Agundez *et al.*, 1997)

Así mismo se determinó el equilibrio de Hardy Weinberg para determinar frecuencias genotípicas con la siguiente fórmula:

p es la frecuencia del alelo A1  $0 \leq p \leq 1$

q es la frecuencia del alelo A2  $0 \leq q \leq 1$  y  $p + q = 1$

Siendo las frecuencias alélicas iguales para ambos géneros, por ejemplo: hombres

(p,q) mujeres (p,q).

En la generación siguiente:  $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$  donde:

$p^2$  = frecuencia del genotipo A1 A1 <-- homocigoto silvestre

$2pq$  = frecuencia del genotipo A1 A2 <-- heterocigoto

$q^2$  = frecuencia del genotipo A2 A2 <-- homocigoto mutado

Estas frecuencias se mantienen constantes de generación en generación. (Kalmes y Huret, 2001).

Posteriormente se establecieron diferencias entre grupos indígenas en los diferentes polimorfismos empleando la prueba de  $X^2$ .

Se consideró un valor de p menor de 0.05 para determinar la significancia estadística. La información se procesó mediante el paquete estadístico Statistics versión 7.0.



## CAPÍTULO VII

### 7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 7.1. Parámetros antropométricos de las poblaciones estudiadas

Se estudiaron 150 individuos de origen Huichol, Cora y Tarahumara (50 integrantes de cada grupo). En el cuadro 7 se muestran las características antropométricas (media  $\pm$  desviación estándar) de los tres grupos estudiados, en las que no se observaron diferencias significativas entre las poblaciones, calculadas por un análisis de varianza cuadro 8.

**Cuadro 7. Parámetros antropométricos de las poblaciones estudiadas**

VARIABLE	Huichol n= 50	Cora n= 50	Tarahumara n= 50	p
<b>Edad (años)</b>	45.90 $\pm$ 14.81	50.84 $\pm$ 20.01	44.72 $\pm$ 12.88	0.137
<b>Peso (Kg)</b>	59.35 $\pm$ 14.1	59.65 $\pm$ 13.74	56.96 $\pm$ 11.37	0.532
<b>Talla (m)</b>	1.56 $\pm$ 0.09	1.55 $\pm$ 0.07	1.53 $\pm$ 0.08	0.189
<b>IMC (Kg/cm<sup>2</sup>)</b>	24.46 $\pm$ 6.44	24.46 $\pm$ 4.86	24.25 $\pm$ 4.61	0.975

n = número de individuos, IMC=índice de masa corporal. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA una vía). No hubo diferencias significativas entre grupos con respecto a cada variable.

**Cuadro 8. Análisis de varianza de parámetros antropométricos**

VARIABLES	SS	df	MS	SS error	df error	MS error	F	p
Edad	1054.173	2	527.086	38509.30	147	261.9680	2.012	0.137
Peso	218.421	2	109.210	25361.09	147	172.5244	0.633	0.532
Talla	0.026	2	0.0129	1.13	147	0.0077	1.685	0.188
IMC	1.463	2	0.731	4237.89	147	28.8292	0.025	0.974

SS: suma de cuadrados, df: grados de libertad, MS: cuadrados medios

## 7.2. Pruebas bioquímicas de las poblaciones estudiadas

A los participantes se les determinaron algunas pruebas bioquímicas con el fin de caracterizar mejor a las poblaciones, además de otorgarles un beneficio inmediato a los participantes, al entregarles sus resultados. Solo se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa, colesterol, aspartato transaminasa y alanina amino transferasa (AST, ALT) y lípidos de baja densidad (por sus siglas en inglés LDL), e índice aterogénico, entre las distintas poblaciones indígenas (Cuadro 9 y 10).

**Cuadro 9. Pruebas Bioquímicas de las poblaciones estudiadas**

VARIABLE	Huichol n= 50	Cora n= 50	Tarahumara n= 50	p	LSD
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0.68±0.14	0.82±0.63	0.77±0.11	0.19	
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	69.96±11.58	83.24±26.59	83.02±12.83	0.00 * **	Hb, Ca, Ta
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	167.4±32.62	166.4±37.53	114.5±27.03	0.00 **†	Tb, Ha, Ca
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	135(98-170)	151(89-233)	148(98-204)	0.70	
<b>AST (mg/dL)</b>	34.55(28.70-42)	16.6(12.80-22.70)	36.50(31-45)	0.00*†	Cb, Ha, Ta
<b>ALT (mg/dL)</b>	24.50(19-31)	10(6-16)	27(22-39)	0.00*†	Cb, Ha, Ta
<b>LDL (mg/dL)</b>	84.58±25.29	82.75±29.41	67±16.28	0.00 ** †	Tb, Ha, Ca
<b>HDL (mg/dL)</b>	41.65±10.18	39.66±11.22	40.94±11.98	0.08	
<b>VLDL (mg/dL)</b>	27(20-34)	30.50(18-47)	29.6(19.60-40.80)	0.71	
<b>Índice aterogénico (mg/dL)</b>	4.07±0.94	4.38±1.60	3.76±1.03	0.004 * †	Cb, Ha, Ta

n = número de individuos, IMC=índice de masa corporal. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA una vía). Para las diferencias entre grupos se usaron las pruebas de Kruskal Wallis y Bonferroni: LSD diferencias mínimas significativas Huichol: H, Coras: C, Tarahumaras: T, a= igual, b= diferente COMBINACIONES DE GRUPOS INDIGENAS: \*Huichol Vs Cora; \*\*Huichol Vs Tarahumara; † Cora Vs Tarahumara.

**Cuadro 10. Análisis de varianza de Pruebas bioquímicas**

VARIABLE	SS	df	MS	SS error	df error	MS error	F	p
Creatinina (mg/dL)	0.49	2	0.243	22	147	0.15	1.641	0.197
Glucosa (mg/dL)	5782.84	2	2891.420	49288	147	335.29	8.623	0.000
Colesterol (mg/dL)	16694.81	2	8347.407	156982	147	1067.91	7.816	0.000
Triglicéridos (mg/dL)	16503.69	2	8251.847	1595287	147	10852.29	0.760	0.469
AST (mg/dL)	8828.20	2	4414.102	39288	147	267.27	16.515	0.000
ALT (mg/dL)	15470.07	2	7735.035	241370	146	1653.22	4.678	0.010
LDL (mg/dL)	13878.91	2	6939.454	88538	147	602.30	11.521	0.000
HDL (mg/dL)	639.01	2	319.505	18929	147	128.77	2.481	0.087
VLDL (mg/dL)	662.50	2	331.251	63845	147	434.32	0.762	0.468
Índice aterogénico (mg/dL)	20.74	2	10.370	276	147	1.88	5.523	0.004

SS: suma de cuadrados, df: grados de libertad, MS: cuadrados medios

A todos los individuos participantes se les entregaron los resultados de su perfil bioquímico, con la finalidad de que aquellos que presentaron cifras por arriba de los valores establecidos de referencia, tuvieran un seguimiento clínico en su comunidad de origen por su médico correspondiente.

### 7.3. Frecuencias alélicas y genotípicas del *CYP3A4* en las poblaciones estudiadas

Cuatro participantes de origen Cora mostraron el genotipo heterocigoto (\*1A/\*1B), mientras que en los Huicholes y Tarahumaras solo un individuo de cada comunidad presentó dicho genotipo. Ninguno de los participantes presentó el genotipo homocigoto (\*1B/\*1B). Por lo tanto, la frecuencia alélica del alelo *CYP3A4\*1B* fue más alta en la población Cora (0.04) que en las poblaciones de origen Huichol y Tarahumara (ambas del 0.01) (Cuadro 11). Estas frecuencias son más bajas que las observadas en Tepehuanos del sur del Estado de Durango (0.08) (Reyes-Hernández et al., 2008) y que las de otros grupos indígenas de México, como los Tzotziles, Tzeltales, Tojolobales y Lacandones del estado de Chiapas, en los que la frecuencia es del 0.05 al 0.07 y en Mazatecos del estado de Oaxaca del 0.13 (Datos no publicados, Sosa-Macías; Cuadro 12). Asimismo, la frecuencia en mestizos también

está por arriba de la encontrada en las poblaciones estudiadas (5.8-8.8%) (Reyes *et al.*, 2008) y difiere de manera importante respecto a las poblaciones africanas en las que esta variante es la más frecuente (55-69%), por lo que se piensa que se haya originado en esta población (Paris *et al.*, 1999; Tayeb *et al.*, 2000). Sin embargo, en asiáticos este polimorfismo está prácticamente ausente (Ballet *et al.*, 1999; Hsieh *et al.*, 2001; Paris *et al.*, 1999; Sata *et al.*, 2000).

**Cuadro 11. Frecuencias alélicas y genotípicas del CYP3A4\*1B en las poblaciones estudiadas**

Población	Genotipo			Frecuencia alélica
	*1A/*1A: AA	*1A/*1B:AG	*1B/*1B: GG	
Huicholes	49(98)	1(2)	0	0.01
Coras	46(92)	4(8)	0	0.04
Tarahumaras	49(98)	1(2)	0	0.01

(% porción de individuos con un determinado genotipo del total de la población analizada). Frecuencia alélica = (Alelos homocigotos x 2 + Alelos heterocigotos)/Sujetos totales x 2. Homocigoto silvestre (\*1A/\*1A); heterocigoto (\*1A/\*1B); homocigoto mutado (\*1B/\*1B).

Se ha determinado que el análisis de las variaciones genéticas interindividuales e interétnicas, es importante en áreas como la farmacogenética y toxicogenética, ya que la predisposición genética puede estar en función de los SNP, los cuales pueden condicionar a la presencia de genotipos que ocasionan fallas terapéuticas y riesgo de toxicidad (Meyer y Gut, 2002). La variante alélica CYP3A4\*1B puede afectar la acción terapéutica de medicamentos incluidos en el cuadro básico de medicamentos usados en los grupos indígenas tales como la prednisona, ampicilina, carbamazepina y el diazepam (datos obtenidos por la historia clínica documentada en esta investigación), que por ser sustratos de esta enzima, pueden predisponer a fallas terapéuticas o intoxicación en los individuos que presenten un genotipo homocigoto mutado o bien heterocigoto. Además, pueden provocar la activación de carcinógenos como los hidrocarburos policíclicos aromáticos a los que se exponen en el humo de la leña. Además la variante CYP3A4\*1B puede predisponer a desarrollar

enfermedades relacionadas como trastornos hormonales por ser estos últimos sustratos endógenos de estas enzimas.

Sin embargo, se requiere un análisis del fenotipo para confirmar el tipo de metabolismo de cada individuo.

**Cuadro 12. Frecuencias alélicas del CYP3A4\*1B en distintas poblaciones**

<b>Población</b>	<b>No. de sujetos</b>	<b>Frecuencia alélica 1*B</b>	<b>Referencia</b>
Huicholes	50	0.01	Este estudio
Coras	50	0.04	Este estudio
Tarahumaras	50	0.01	Este estudio
Tepehuanos	100	0.08	Reyes-Hernández et al, 2008
Mazatecos	132	0.13	Datos no publicados (Sosa-Macías 2011)
Tzotziles	174	0.05	Datos no publicados (Sosa-Macías 2011)
Tzeltales	21	0.07	Datos no publicados (Sosa-Macías 2011)
Tojolabales	76	0.04	Datos no publicados (Sosa-Macías 2011)
Lacandones	144	0.08	Datos no publicados (Sosa-Macías 2011)
Hispanos (Durago,Méx)	108	0.088	Reyes-Hernández et al, 2008
Hispanos (DF, Méx)	100	0.08	Reyes-Hernández et al, 2008
Hispanos-E.U	121	0.11	Paris et al, 1999
Brasileños	472	0.08	Paris et al, 1999
Africanos-E.U	116	0.55	Paris et al, 1999
Ghaneses	100	0.69	Tayeb et al, 2000
Sauditas	101	0.09	Tayeb et al, 2000
Caucásicos-EU	273	0.036	Ball et al, 1999
Caucásicos-EU	117	0.09	Paris et al, 1999
Escoceses	101	0.05	Tayeb et al, 2000
Espanoles	177	0.04	Gervasini et al, 2005
Asiáticos	-	0.00	Ball et al., 1999 ; Paris et al., 1999 ; Tayeb

#### 7.4. Frecuencias alélicas y genotípicas del CYP3A5\*3 en las poblaciones de estudio.

El polimorfismo CYP3A5\*3 fue el más frecuente en la población de origen Tarahumara, en la que el 52% presentó el genotipo heterocigoto (\*1/\*3) y el 6 % fue homocigoto \*3/\*3, con una frecuencia alélica de 0.32. En los grupos Cora y Huichol la frecuencia de este polimorfismo fue de 0.14 y 0.06, respectivamente, presentándose solo en individuos con genotipo homocigoto \*3/\*3 en ambas poblaciones (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Frecuencias alélicas y genotípicas del CYP3A5\*3 en las poblaciones estudiadas**

Población	Genotipo			Frecuencia alélica
	*1/*1: AA	*1/*3: AG	*3/*3: GG	
Huicholes	47(94)	0	3(6)	0.06
Coras	43(86)	0	7(14)	0.14
Tarahumaras	20(40)	26(52)	3(6)	0.32

(% porción de individuos con un determinado genotipo del total de la población analizada). Frecuencia alélica = (Alelos homocigotos x 2 + Alelos heterocigotos)/Sujetos totales x 2. Homocigoto silvestre (\*1/\*1); heterocigoto (\*1/\*3); homocigoto mutado (\*3/\*3).

El genotipo \*3/\*3 se ha asociado con presión arterial alta en población de raza negra, mientras que en población caucásica el genotipo \*1/\*3 provoca una mayor resistencia a la insulina a través de un mecanismo desconocido (Ho *et al.*, 2005). La ausencia de individuos heterocigotos en los grupos Cora y Huichol puede ser debido a la probable consanguinidad en estos grupos, ya que por lo general son comunidades pequeñas con alto grado de endogamia. Sin embargo, mediante la entrevista hecha a cada voluntario se trató de identificar a los familiares que también aceptaron participar en este estudio, lo cual no descarta la posibilidad de un sesgo de información, que es difícil de controlar.

El alelo CYP3A5\*3 se ha descrito con alta frecuencia en diferentes grupos raciales, con el siguiente orden de importancia: españoles (0.91), caucásicos (0.85), centroamericanos (0.76) y asiáticos (0.71) (Cuadro 4) las cuales son mayores a las

frecuencias encontradas en los grupos indígenas de este estudio. Se han descrito frecuencias cercanas a nuestras poblaciones en hindúes (0.05) y malayos (0.06) y parecidas a la población Tarahumara (0.32) en afro-americanos (0.45) (Balram *et al.*, 2003).

**Cuadro 4. Frecuencias alélicas del CYP3A5 \*3 en distintas poblaciones**

POBLACIÓN	FRECUENCIA ALÉLICA CYP3A5*3	REFERENCIA
Huicholes	0.06	Este estudio
Coras	0.14	Este estudio
Tarahumaras	0.32	Este estudio
Caucásicos	0.85	Balrametal., 2003
Afroamericanos	0.45	Balrametal., 2003
Japoneses	0.77	Balrametal., 2003
Chinos	0.76	Balrametal., 2003
Malayos	0.061	Balrametal., 2003
Hindúes	0.059	Balrametal., 2003
Centro americanos	0.76	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Ecuatorianos	0.88	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Espanoles del norte	0.91	Gervasiniet al., 2005
Espanoles del sur	0.91	Sinues <i>et al.</i> , 2007
Alemanes	0.94	Dallyet al., 2004

#### **7.5. Frecuencias alélicas y genotípicas de los alelos CYP3A5\*6 y\*7 en las poblaciones de estudio.**

El polimorfismo CYP3A5\*6 solo se identificó en los grupos de origen Cora y Tarahumara con una frecuencia del 0.01 en ambas poblaciones, y en los Huicholes no se identificó (Cuadro 14). Por lo tanto, para este polimorfismo los tres grupos indígenas son genotípicamente parecidos.

**Cuadro 14. Frecuencias alélicas y genotípicas del CYP3A5\*6 en las poblaciones estudiadas**

Población	Genotipo			Frecuencia alélica
	*1/*1: AA	*1/*6: AG	*6/*6: GG	
Huicholes	50	0	0	0
Coras	49(98)	1(2)	0	0.01
Tarahumaras	49(98)	1(2)	0	0.01

(% porción de individuos con un determinado genotipo del total de la población analizada). Frecuencia alélica = (Alelos homocigotos x 2 + Alelos heterocigotos)/Sujetos totales x 2. Homocigoto silvestre (\*1/\*1); heterocigoto (\*1/\*6); homocigoto mutado (\*6/\*6).

El polimorfismo *CYP3A5\*7* no se encontró en ninguno de los tres grupos indígenas estudiados.

La baja frecuencia del polimorfismo *CYP3A5\*6* y la ausencia del polimorfismo *CYP3A5\*7* en estas poblaciones amerindias, concuerda con las frecuencias reportadas en sujetos caucásicos y asiáticos, en los que también están ausentes (Plummer *et al.*, 2003). Por otro lado, en sujetos africanos se identificó con una frecuencia relativamente alta (10-22%), por lo que se sugiere que este alelo es de origen africano (Plummer *et al.*, 2003). Estas diferencias pueden reflejar evolución e influencia de factores ambientales en distintas áreas geográficas (Gorodezky, 1988).

Los genes *CYP3A4* y *CYP3A5*, al igual que los genes de otros citocromos, participan en el metabolismo de múltiples fármacos, por lo que la presencia de polimorfismos con repercusiones funcionales en la actividad de la enzima, como los alelos analizados en este estudio, pueden provocar intoxicaciones o fallas terapéuticas por medicamentos que son sus sustratos. A este respecto, los tres grupos indígenas estudiados no están exentos de presentar este tipo de respuestas, debido a que actualmente cuentan con el apoyo de los servicios de salud de la SSA o del IMSS, que les proveen de medicamentos.



Se ha buscado la influencia de los polimorfismos *CYP3A4\*1B* y *CYP3A5\*3* en enfermedades como cáncer de mama y próstata, ya que el estradiol y la testosterona son sustratos endógenos de estas enzimas y las variantes \*1B, \*3, \*6 y \*7, afectan su funcionalidad, lo que podría desencadenar enfermedades o trastornos hormonales que pueden generar el desarrollo de células carcinogénicas (Rebbeck *et al.*, 1998; París *et al.*, 1999).

Debido a lo anterior, el presente estudio permite detectar a los individuos y poblaciones que pudieran presentar efectos no deseados durante la administración de algún tratamiento farmacológico y su posible susceptibilidad a desarrollar enfermedades provocadas por trastornos hormonales o por exposición a contaminantes ambientales, que pueden llegar a desencadenar efectos carcinogénicos.

Es importante enfatizar que los polimorfismos del *CYP3A4* y *CYP3A5* evaluados en este estudio no son apropiados para establecer vínculos filogenéticos entre distintas poblaciones. Lo anterior es debido a que las variantes alélicas que aquí se analizaron se encuentran localizadas dentro de genes ubicados en un autosoma. Para fines de estudios de antropología molecular son más adecuados los marcadores que se localizan en el cromosoma Y ó en el ADN mitocondrial. Sin embargo en la actualidad se está analizando la evaluación de múltiples SNPs autosómicos que son extraordinariamente informativos

### 7.6. Comparación de las frecuencias alélicas del *CYP3A4 \*1B* y *CYP3A5\*6* y *\*7* entre las poblaciones de estudio.

Se compararon las frecuencias alélicas en las poblaciones de estudio y se observó que son diferentes entre ellas, sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas (Cuadro 15).

**Cuadro 15. Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos del *CYP3A4* y *CYP3A5* entre las poblaciones estudiadas.**

POLIMORFISMOS	HUICHOL	CORAS	TARAHUMARAS	$\chi^2$	(p)
<i>CYP3A4*1B</i>	0.01	0.04	0.01	3.0	0.3679
<i>CYP3A5 *3</i>	0.06	0.14	0.32	3.0	0.2231
<i>CYP3A5 *6</i>	0	0.01	0.01	0.0	1.0
<i>CYP3A5 *7</i>	0	0	0	0.0	1.0

Se uso  $\chi^2$  para determinar las diferencias en las frecuencias alélicas para cada grupo indígena, de acuerdo al nivel de significancia asignado para  $p < 0.05$ , no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Para saber si las poblaciones de estudio estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, se calcularon las frecuencias alélicas esperadas a partir de las frecuencias del alelo *CYP3A4\*1B* obtenidas de los datos experimentales, y mediante la prueba de  $\chi^2$  se determinó que los valores esperados no fueron significativamente diferentes de los observados, por lo que se concluye que las que las poblaciones de origen Cora, Huichol y Tarahumara están en equilibrio para este sistema genético. En el cuadro 16 se ejemplifico el cálculo de dicho equilibrio determinado para el *CYP3A4\*1B*, (Cuadro16).

**Cuadro 16. Calculo del equilibrio de Hardy Weinberg**

<b>Frecuencias Observadas VS Esperadas</b>				
$\chi^2 = .0051015$ df = 2 p < .997452				
<b>GENOTIPOS CYP3A4*1B</b>	<b>Individuos Observados</b>	<b>Individuos Esperados</b>	<b>(O-E)</b>	<b>(O-E)*2/E</b>
*1A/ *1A	49.000	49.005	-0.005	0.000
*1A/*1B	1.000	0.990	0.010	0.000
*1B/*1B	0.000	0.005	-0.005	0.005
SUMATORIA	50.000	50.000	-0.000	0.005

Debido a los resultados obtenidos mediante la determinación de frecuencias alélicas de todos los polimorfismos estudiados y el cálculo de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos indígenas analizados podemos concluir que la hipótesis propuesta por este estudio se rechaza ya que no hubo diferencias estadísticamente significativas, sin embargo los indígenas mexicanos representan una variedad genética inigualable a otras razas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación es importante tomar en cuenta las características propias de cada grupo indígena y el análisis de ellos de manera independiente y de acuerdo a su etnia.

## CAPÍTULO VIII

### 8. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que el 4% de los individuos de origen Tarahumara lleva el alelo *CYP3A4\*1B*, y el 1% de la población de origen Cora y Huichol. El 32, 14 y 6% de los individuos Tarahumaras, Coras y Huicholes, respectivamente, llevan el polimorfismo *CYP3A5\*3*.

El polimorfismo *CYP3A5\*6* solo se identificó en el 1% de la población Cora y Tarahumara, mientras que la variante *CYP3A5\*7* está ausente en las tres poblaciones indígenas. A pesar de las diferencias en las frecuencias alélicas entre los grupos, éstas no fueron estadísticamente significativas, lo que puede determinar el comportamiento y distribución de estas variantes alélicas en ciertas poblaciones indígenas, las cuales no dejan de ser poblaciones aisladas por cuestiones sociales y culturales y tienen contacto con otras poblaciones lo que puede determinar mezclas con otros grupos indígenas.

Además la determinación del genotipo de *CYP3A4/5* obtenida en este estudio, será de utilidad para determinar si existe asociación con el fenotipo de cada individuo, el cual se obtendrá a partir del uso de fármacos sustratos de esta enzima y por lo tanto marcadores metabólicos de la actividad de las enzimas *CYP3*, tal asociación se determinara con la finalización del proyecto principal del que se deriva esta investigación. Esta asociación, entre el genotipo y el fenotipo va a ser un indicador de la actividad funcional de la enzima o sea de la capacidad para metabolizar o biotransformar un fármaco.

## CAPÍTULO IX

### 9. BIBLIOGRAFÍA

Aklillu E, Dandara C, Bertilsson L. (2006). Pharmacogenetics of cytochrome P450s in African populations - Clinical and molecular evolutionary implications. In: Suarez-Kurtz G, ed. Pharmacogenetics in Admixed Populations. Austin: Landes Bioscience.

Applied biosystems. (2011). Disponible en internet:  
<http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home.html>  
[https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=ABAssayDetailDisplay&assayID=C\\_\\_26201809\\_30&Fs=y](https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=ABAssayDetailDisplay&assayID=C__26201809_30&Fs=y). Fecha de consulta: Mayo del 2011

Argundez JA, Ramirez R, Hernandez M, Llerena A, Benitez J. (1997). Molecular heterogeneity at the CYP2D6 gene locus in Nicaraguans: impact of gene-flow Europe. *Pharmacogenetics*. 7: 337-340

Bailliet G, Santos MR, Alfaro EL, Dipierri JE, Demarchi D A, Carnese FP, Bianchi NO. (2007). Allele and genotype frequencies of metabolic genes in Native Americans from Argentina and Paraguay. *ScienceDirect*. 627: 171-177.

Ball SE, Scatina J, Kao J, Ferron G M, Fruncillo R, Mayer P, Weinryb I, Guida M, Hopkins P J, Warner N. y Hall, J. (1999). Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin.Pharmacol.Ther*. 66: 288-294.

Balram C, Sharma A, Sivathasan C and Lee E. J. (2003). Frequency of C3435T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *J Clin Pharmacol*. 56: 78-83.

Brosen K. (1993). Isozyme specific drug oxidation: genetic polymorphism and drug-drug interactions. *Nord J Psychiatry*. 47 (30):21-6.

Brosen K. (1990). Recent developments in hepatic drug oxidation: implications for clinical pharmacokinetics. *ClinPharmacokinet.* 18:220-39.

Cavaco I, Gil J, Gil-Berglund E, Ribeiro V. (2003). CYP3A4 and MDR1 alleles in a Portuguese Population. *ClinChemLabMed.* 41: 1345-1350

CDI. (2009). Coras monografía. Disponible en internet:[http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com\\_content&task=view&id=591&Itemid=62](http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=591&Itemid=62)

CDI. (2009). Huicholes monografía. Disponible en internet:[http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com\\_content&task=view&id=596&Itemid=62](http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=596&Itemid=62). Fecha de consulta: Febrero 2010

Chapple C. (1998). Molecular–genetic analysis of plant cytochrome P450 dependent monooxygenases. *Annu. Rev. Plant. Biochem.Plant. Mol. Biol.* 49, 311–343.

Cholerton S, Daly A K and Idle JR. (1992). The role of individual human cytochrome P450 in drug-metabolism and clinical-response. *Trends in Pharmacological Sciences.*13:434-439.

Dai D, Tang J, Rose R, Hodgso E, Bienstock R J, Mohrenweiser H W. y Goldstein J. A. (2001). Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*299: 825-381.

Dally H, Bartsch H, Jäger B, Edler L, Schmezer P, Spiegelhalder P, Dienemann H, Drings P, Kayser K, Schulz V and Risch A. (2004). Genotype relationships in the CYP3A locus in Caucasians. *Cancer Lett.*207: 95–99.

Drug-interactionsTable. (2003). Disponible en internet: [www.drug-interactions.com](http://www.drug-interactions.com). Fecha de consulta: Enero del 2011.

Galli E. y Feijo. (2002). Citocromo P450 y su importancia clínica revisión actualizada. *Revista de Neuro-Psiquiatría*. 65: 187-201

Gervasini G, Vizcaino S, Gasiba C, Carrillo JA y Benitez J. (2005). Differences in CYP3A5\*3 genotype distribution and combinations with other polymorphisms between Spaniards and Other Caucasian populations. *Ther Drug Monit*. 27:819-21.

Gibson G, Plant NJ, Swales KE, Ayrton A y El-Sankary W. (2002). Topics in Xenobiochemistry. Receptor-dependent transcriptional activation of cytochrome P4503A genes: induction mechanisms, species differences and interindividual variation in man. *Xenobiotica*. 3: 165-206.

Givens RC, Lin YS, Dowling AL, Thummel KE, Lamba JK, Schuetz EG, Stewart P. and Watkins PB. (2003). CYP3A5 genotype predicts renal CYP3A activity and blood pressure in healthy adults. *Journal Appli Physiol*. 95:1297-1300.

Gonzalez FJ. (1992). Human cytochromes P450: problems and prospects. *Trends Pharmacol Sci*. 13:346-52.

Gonzalez FJ, NebertDW. (1990). Evolution of the P450 gene superfamily: animal-plans "warfare", molecular drive and human genetic differences in drug oxidation. *Trends Genet*. 6:182-6.

Gonzalez F, Schmid B, Umeno M, McBride O, Hardwick J, Meyer U, Gelboin, H, Idle J. (1988). Human P450PCN1: sequence, chromosome localization, and direct evidence through cDNA expression that P450PCN1 is nifedipine oxidase. *DNA*. 7: 79-86.

González-Mendoza D. (2007). El complejo enzimático citocromo P450 en las plantas. *Rev. Int. Contam. Ambient* [online].23 (4): 177-183. Disponible en internet:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S01](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01). Fecha de consulta: Agosto 2010.

Gorodezky C. (1988). Variación genética del MHC en la población mexicana. *Histocomp Lat Amer.* 1:8-12.

Greenberg J, y Merritt R. (2007). *An Amerind Etymological Dictionary* (12 edición). Stanford: Dept. of Anthropological Sciences Stanford University. Disponible en internet: <http://www.merrittruhlen.com/files/AED5..pdf>

Guengerich FP. (1992). Human cytochrome P450 enzymes. *Life Sci.* 50:1471-8.6.

Guengerich, F. (1993). Cytochrome P450 enzymes. *American Scientist.* 81: 440-447.

Ho H, Pinto A, Hall S, Flockhart D, Li L, Skaar T, Cadman, O'Connor D, Wagner U, Fineberg N, Weinberger M. (2005). Association Between the CYP3A5 Genotype and Blood Pressure. *Hypertension.* 45:294-298.

He P, Court M, Greenblatt D, Von Moltke L. (2005). Genotype–phenotype associations of cytochrome P450 3A4 and 3A5 polymorphism with midazolam clearance in vivo. *Clin Pharmacol Ther.* 77:373–387.

Hsieh KP, Lin YY, Cheng CL, Lai M, Lin M.S, Siest JP. y Huang JD. (2001). Novel mutations of CYP3A4 in Chinese. *Drug metabolism and disposition.* 29: 268-273.

INEGI (2005). Disponible en internet:

<http://www.inegi.org.mx/sistemas/TabuladosBasicos/Default.aspx?c=10398&s=est>.

Fecha de consulta: Mayo 2011



Jáuregui J. (2004). Coras. Disponible en internet:[http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_details&Itemid=&gid=13](http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com_docman&task=doc_details&Itemid=&gid=13) Fecha de consulta: Febrero 2010

Johannes N. (2003). Hicholes. Disponible en internet: [http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_details&Itemid=&gid=18](http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com_docman&task=doc_details&Itemid=&gid=18) Fecha de consulta: Abril 2010

Kalmes R, Huret JL. (2001). Modelo de Hardy-Weinberg. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. Disponible en internet: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Educ/HardySp.html>. Fecha de consulta: Abril del 2011.

Ketter T, Worthington K. (1991). Principles of clinically important drug interactions with carbamazepine. Part I and Part II. *J Clin Psychopharmacol*. 11:198-203, 306-313.

Laboratoriomledesma. (2009). Disponible en internet: [http://www.laboratoriomledesma.com/2009/01/cmo-interpretar-un-analisis-de-sangre\\_05.html](http://www.laboratoriomledesma.com/2009/01/cmo-interpretar-un-analisis-de-sangre_05.html). Fecha de consulta Marzo del 2011.

Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. (1998). Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA*. 279:1200-1205.

Lee S-J, Ilse P, Goldstein JA, Van Schaik R. (2003). A new CYP3A5 variant, CYP3A5\*11, is shown to be defective in Nifedipine metabolism in a recombinant cDNA expression system. *Drug metabolism and disposition*. 35(1): 67-71.

Li AP, Kaminski DL y Rasmussen A. (1995). Substrates of human hepatic cytochrome P450 3A4. *Toxicology*. 104: 1

Lisker R. (1981). Estructura genética de la población mexicana, aspectos médicos y antropológicos. México, D.F.: Salvat Editores.

Mejía-Aranguré J, Fajardo-Gutiérrez A, Gómez-Delgado A, Cuevas-Uriostegui M, Hernández-Hernández D, Garduño-Espinoza J, Navarrete-Navarro S, Velásquez-Pérez L, Martínez-García M. (1995). El tamaño de muestra: un enfoque práctico en la investigación clínica pediátrica. *Boletín Médico Hospital Infantil de México*. 52 (6):385.

Meyer U. y Gut J. (2002). Genomics and the prediction of xenobiotic toxicity. *Toxicology*. 181-182: 463-466.

Meyer UA. (1991). Genotype or phenotype: the definition of a pharmacogenetic polymorphism. *Pharmacogenetics*. 1: 66-7.

Miller B A, Kolonel L N, Bernstein L, Young J L, Swanson G M, West , Key CR, Liff JM, Glover CS. y Alexander GA. (1996). Racial/ethnic patterns of cancer in the United States 1988-1992. National Cancer Institute, NIH Publ. No. 96-4104, Bethesda, MD

Navarrete LF. (2008). Los pueblos indígenas de México. Disponible en internet: [http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_details&gid=62&Itemid=24](http://www.cdi.gob.mx/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=62&Itemid=24) Fecha de consulta: Febrero 2010.

Nebert DW, Gonzalez FJ. (1987). P450 genes: structure, evolution and regulation. *Ann Rev Biochem*. 56:945-93.

Nelson D. (2002). Cytochrome P450s in humans. Disponible en internet: <http://drnelson.utmem.edu/P450lect.html>. Fecha de consulta: Enero 2010

Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, Guengerich FP, Estabrook R W, Feyereisen R, González FJ, Coon MJ, Gunsalus IC, Gotoh O, Okada K. y Nebert W. (1993). The

P450 superfamily: Update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biology*. 12: 1-51.

Nelson DR, Koymans L, Kamataki T, Stegeman JJ, Feyereisen R, Waxman DJ, Waterman MR, Gotoh O, Coon MJ, Estabrook R W, Gunsalus IC. y Nebert DW. (1996). P450 Superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*.6: 1-42.

Nemeroff CB, De Vane CL, Pollock BG. (1996). Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry*.153:311-20.

Omura T. y Sato R. (1964). The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes: II. Solubilization, purification and properties. *J. Biol. Chem.* 239, 2379–2385.

Orellana M, Guajardo V. (2004). Cytochrome P450 activity and its alteration in different diseases. *Revista Médica Chilena*. 132: 85-94.

Paris PL, Kupelian P.A, Hall JM, Williams TL, Levin H, Klein E A, Casey G y Witte JS. (1999). Association between a CYP3A4 genetic variant and clinical presentation in African-American prostate cancer patients. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*. 8: 901-905.

Pintado A. (2004). Tarahumaras. CDI: (Pueblos indígenas del México contemporáneo). Pp:35

Plummer SJ, Conti DV, Paris PL, Curran AP, Casey G, Witte JS. (2003). CYP3A4 and CYP3A5 genotypes, haplotypes, and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*.12:928–932.

Ravussin E, Valencia M, Esparza J, Bennett P, Schulz L. (1994). Effects of a traditional lifestyle on obesity in Pima indians. *Diabetes Care*. 17:1067-1073.

Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, y Malkowicz S B. (1998). Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *Journal of the National Center Institute*. 90: 1225-1229

Reyes-Hernandez OD, Arteaga-Illan G, Elizondo G. (2004). Detection of *CYP3A4\* 1B* and *CYP3A4\* 2* polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin Genet*. 66: 166–168.

Reyes-Hernández, Ismael Lares-Asseff, Sosa-Macias, Vega L, Albores A and Elizondo G. (2008). A Comparative Study of CYP3A4 Polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo Populations. *Pharmacology* .81:97–103

Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stoker P, Miller VP, Zheng W, Raunio H, Crespi CL y González FJ. (2000). *CYP3A4* allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clinical pharmacology & therapeutics*. 67: 48-56.

Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y y Guengerich FP. (1994). Interindividual variations in human liver cytochrome P450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: Studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *Journal Pharmacol. Exp. Ther.* 270: 414-423.

Sinúes B, Vicente J, Fanlo A, Mayayo-Sinúes E, González-Andrade F, Sánchez-Q D. and Martínez-Jarreta B. (2008). *CYP3A5\*3*, *CYP3A4\*1B* and *MDR1 C3435T* genotype distributions in Ecuadorians. *Disease Markers*. 24: 325–331.

Sinues B, Vicente J, Fanlo A, Vasquez P, Medina J, Mayayo E, Conde B, Arenaz I, Martinez-Jarreta B. (2007). *CYP3A5\*3* and *CYP3A4\*1B* Allele distribution and

Genotype Combinations: Differences Between Spaniards and Central Americans. *Ther Drug Monit.* 29 (4):412-416.

Tayeb MT, Clark C, Ameyaw MM, Haites NE, Evans DA P, Tariq M, Mobarek A, Ofori-Adjei D y McLeod HL. (2000). CYP3A4 promoter variant in Saudi, Ghanaian and Scottish Caucasian populations. *Pharmacogenetics*.10: 753-756.

Thummel K and Wilkinson G. (1998). In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A4. *Annual Reviews, Pharmacology & Toxicology.* 38: 389-430.

Von Moltke LL, Greenblatt DJ, Cotreau-Bibbo M, Harmatz J, Shader R. (1994). Inhibitors of ofalprazolam metabolism in vitro: effect of serotonin reuptake inhibitor antidepressants, ketoconazole and quinidine. *Br J Clin Pharmacol.* 38:23-31.

Wrighton SA, Schuetz EG, Thummel KE, Shen DD, Korzekwa KR. y Watkins PB. (2000). The human CYP3A subfamily: practical considerations. *Drug Metabolism Reviews.* 32: 339-361.

Zeigler-Johnson C, Friebel T, Walker AH, Wang Y, Spangler E, Panossian S, Patacsil M, Aplenc R, WeinAJ, Malkowicz SB, Rebbeck TR. (2004). CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A43 genotypes and haplotypes in the etiology and severity of prostate cancer. *Cancer Res.* 64:8461–8467.