



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



**“Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos  
\*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* en poblaciones de origen  
Huichol, Cora y Tepehuana de Nayarit y Durango”**

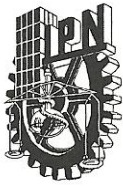
**POR**

**LILIANA WALLANDER COMPEÁN**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO  
DE MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA.**

**DURANGO, DGO.**

**JUNIO DEL 2011**



SIP-14-BIS

## 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:

**Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen CYP2C19 en población de origen Huichol, Cora y Tepehuana de Nayarit y Durango**

Presentada por el alumno:

WALLANDER

Apellido paterno

COMPEAN

Apellido materno

LILIANA

Nombre(s)

Con registro: 

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B | 0 | 9 | 1 | 2 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|

aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

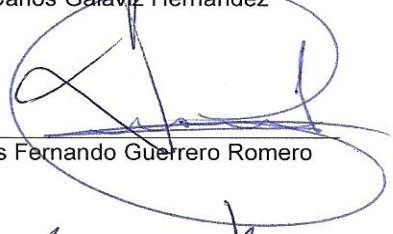
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

#### LA COMISIÓN REVISORA

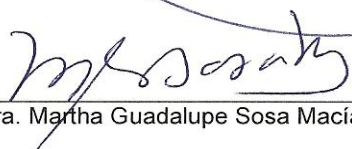
Directores de tesis

  
Dr. Carlos Galaviz Hernández

  
Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

  
Dr. Jesús Fernando Guerrero Romero

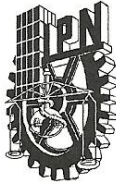
  
Dr. Isaias Chairés Hernández

  
Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
Dr. José Antonio Avila Reyes

ESTADOS UNIDOS MEXICANOS  
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. 3 celebrada el día 4 del mes de Marzo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

WALLANDER

COMPEAN

LILIANA

Apellido paterno

Apellido materno

Nombre (s)

Con registro: 

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B | 0 | 9 | 1 | 2 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:  
Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen CYP2C19 en población de origen Huichol, Cora y Tepehuana de Nayarit y Durango

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:

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

  
Dr. Carlos Galaviz Hernández


Aspirante

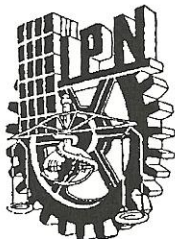
  
Liliana Wallander Compean

  
Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

Presidente del Colegio

  
Dr. José Antonio Avila Reyes

  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACIÓN 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 **9** del mes **JUNIO** del año **2011**, el (la) que suscribe **WALLANDER COMPEÁN LILIANA** alumna del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA** con número de registro **B091223**, adscrito a **CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **DR. CARLOS GALAVIZ HERNÁNDEZ** y del **DR. JOSÉ ISMAEL ANTONIO LARES ASEF** y cede los derechos del trabajo intitulado **“FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE LOS POLIMORFISMOS \*2, \*3 Y \*4 DEL GEN CYP2C19 EN POBLACIÓN DE ORIGEN HUICHOL, CORA Y TEPEHUANA DE NAYARIT Y DURANGO”** 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 **[lilywalcom@msn.com](mailto:lilywalcom@msn.com)**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Liliana', is positioned above the printed name.

**LILIANA WALLANDER COMPEAN**  
Nombre y firma

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología molecular de la academia de Genómica en las instalaciones del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango, Dgo. Bajo la dirección del Dr. Carlos Galaviz Hernández, la codirección del Dr. Ismael Lares Assef y la asesoría de la Dra. Martha Sosa Macías de la Academia de Genómica.

## Dedicatoria

A mi madre porque siempre me ha apoyado, porque gracias a ella estoy culminando mis estudios.

A mi Marido por su paciencia, comprensión y apoyo en días que salía tarde de la Maestría.

A mis hermanos, a mi Gemela Daniela Wallander Compeán que siempre estuvieron apoyándome y alentándome.

Al Dr. Lares que desde que entre a la Maestría confió en mis capacidades.

Y a todos mis maestros que me apoyaron y enseñaron en estos dos años de la maestría.

## Índice

|  |       |
|--|-------|
| Tabla de contenido.....                                      | vi    |
| Glosario .....   | xiii  |
| Símbolos, acronimos y abreviaturas .....                     | xvii  |
| Lista de tablas.....   | xviii |
| Lista de Figuras .....                                       | xix   |
| ABSTRACT .....   | xxi   |
| RESUMEN.....   | xx    |
| <br>   |       |
| I. Introducción .....  | 1     |
| II. Marco teórico .....                                      | 2     |
| 2.1 Factores asociados a la respuesta a fármacos .....       | 2     |
| 2.2 La familia del citocromo P450 .....                      | 3     |
| 2.3 CYP2 .....   | 5     |
| 2.3.1 El gen CYP2C19.....                                    | 5     |
| 2.3.2 Proteína .....   | 6     |
| 2.3.3 Polimorfismos del Gen CYP2C19 .....                    | 6     |
| 2.3.3.1 CYP2C19*2 .....                                      | 7     |
| 2.3.3.2 CYP2C19*3 .....                                      | 8     |
| 2.3.3.3 CYP2C19*4 .....                                      | 9     |
| 2.4 Población Indígena. ....                                 | 9     |
| 2.4.1 Huichol.....   | 10    |
| 2.4.2 Cora.....  | 12    |
| 2.4.3 Tepehuanos .....                                       | 14    |
| 2.5 Poblaciones de hablantes de lengua indígena. ....        | 17    |
| 2.6 Infraestructura.....                                     | 18    |
| 2.7 Salud de los grupos étnicos .....                        | 18    |
| III. JUSTIFICACIÓN.....                                      | 20    |
| 3.2 Pregunta de investigación .....                          | 20    |
| 3.3 Hipótesis.....   | 20    |
| IV. OBJETIVOS .....  | 21    |
| 4.1 Objetivo General.....                                    | 21    |
| 4.2 Objetivos Específicos.....                               | 22    |
| V. Materiales y métodos.....                                 | 22    |
| 5.1 Diseño del Estudio .....                                 | 22    |
| 5.2 Tamaño de muestra. ....                                  | 22    |
| 5.3 Criterios de selección.....                              | 22    |
| 5.3.1 Criterios de inclusión.....                            | 22    |
| 5.3.2 Criterios de exclusión.....                            | 22    |
| 5.3.3 Criterios de eliminación.....                          | 23    |
| 5.4 Variables independiente y dependiente del estudio.....   | 23    |
| 5.5 Variables cualitativas y cuantitativas del estudio. .... | 23    |
| 5.5.1 Variables Cualitativas.....                            | 23    |
| 5.5.1.1 Género.....  | 23    |

---

|   |    |
|---|----|
| 5.5.1.2 Etnia .....   | 23 |
| 5.5.1.3 Lugar de origen.....  | 23 |
| 5.5.1.4 Genotipo .....  | 24 |
| 5.5.1.5 Frecuencia Alélica .....                                    | 25 |
| 5.5.2 Variables Cuantitativas.....                                  | 25 |
| 5.5.2.1 Edad. ....  | 25 |
| 5.5.2.2 Obesidad. ....  | 25 |
| 5.5.2.3 Circunferencia de la cintura.....                           | 26 |
| 5.5.2.4 Niveles séricos de glucosa.....                             | 26 |
| 5.5.2.5 Niveles séricos de colesterol total. ....                   | 26 |
| 5.5.2.6 Valores séricos de triglicéridos.....                       | 26 |
| 5.5.2.7 Lipoproteínas .....   | 26 |
| 5.5.2.8 I. Aterogénico.....   | 27 |
| 5.6 Procedimientos .....  | 27 |
| 5.6.1 Medición de Variables .....                                   | 27 |
| 5.6.2 Extracción de ADN.....  | 28 |
| 5.6.2.1 Protocolo de extracción.....                                | 28 |
| 5.6.3 Electroforesis.....   | 29 |
| 5.6.3.1 Protocolo.....  | 29 |
| 5.6.4 Espectrofotometría.....                                       | 31 |
| 5.6.4 PCR en tiempo real.....                                       | 30 |
| 5.7 Aspectos Éticos .....   | 33 |
| 5.8 Análisis Estadístico.....                                       | 34 |
| 5.9 Recursos materiales .....                                       | 34 |
| VI. Resultados .....  | 35 |
| 6.1 Datos antropométricos de grupos Indígenas.....                  | 35 |
| 6.2 Datos de pruebas bioquímicas de los tres grupos indígenas ..... | 36 |
| 6.3 PCR en tiempo real.....   | 37 |
| 6.3.1 Discriminación y curvas de la PCR en tiempo real.....         | 37 |
| 6.3.2 Curvas de amplificación .....                                 | 38 |
| 6.4 Frecuencias Alélicas .....                                      | 40 |
| 6.5 Frecuencias genotípicas .....                                   | 40 |
| 6.6 Equilibrio de Hardy- Weinberg (HW).....                         | 41 |
| VII. Discusión de resultados.....                                   | 42 |
| 7.1 Datos antropométricos y pruebas bioquímicas.....                | 42 |
| 7.2 Frecuencias Alélicas y Genotípicas.....                         | 43 |
| 7.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg .....                              | 46 |
| 7.4 Importancia Clínica .....                                       | 46 |
| VIII. Conclusiones.....   | 49 |
| Ix. Recomendaciones .....   | 50 |
| X. Sugerencia para trabajos futuros.....                            | 50 |
| XI. Bibliografía .....  | 51 |
| XII. Agradecimientos.....   | 59 |
| XIII. Anexos .....  | 60 |



## Glosario

**ADN (ácido desoxirribonucleico).** Molécula que comprende los genes que forman la estructura y función de los organismos vivos, por medio del cual se transmite la información genética de una generación a otra.

**ADN genómico.** Información genética total que posee un organismo.

**ADN polimerasa.** Enzima que puede sintetizar una nueva cadena de ADN utilizando como molde una cadena de ADN previamente sintetizada.

**Alelo.** Una de las versiones alternativas de un gen.

**Aminoácido.** Son las unidades elementales constitutivas de las moléculas denominadas Proteínas

**Anticonvulsivos.** Fármacos, u otras sustancias destinadas a combatir, prevenir o interrumpir las crisis convulsivas o los ataques epilépticos.

**Barbitúricos.** Son fármacos que actúan como sedantes del sistema nervioso central y los cuales producen un amplio esquema de efectos, desde sedación suave hasta anestesia.

**Citocromo P450 (CYP).** Es un grupo grande y diverso de enzimas localizado principalmente en el hígado. La función de la mayoría de las enzimas CYP es catalizar la oxidación de sustancias orgánicas. Los sustratos de las enzimas CYP son intermediarios metabólicos, tales como lípidos, hormonas esteroides, así como numerosas sustancias xenobióticas y fármacos

**Consentimiento Informado.** Es un documento legal que se basa en la habilidad de los investigadores de explicarles a los pacientes o participantes de un estudio los objetivos y propósitos de éste.

**Codón.** Triplete de bases en una molécula de ARN que especifica un solo aminoácido.

**Cromosoma.** Son los portadores de la mayor parte del material genético y condicionan la organización de la vida y las características hereditarias de cada especie.

**Enzimas.** Son proteínas que catalizan todas las reacciones bioquímicas. Además de su importancia como catalizadores biológicos, tienen muchos usos médicos y comerciales.

**Efectos adversos.** Son síntomas indeseables previstos que pueden presentar los pacientes ante la prescripción de un determinado fármaco.

**Exón.** Es cualquier segmento de un gen interrumpido representado en el producto maduro del ARN mensajero maduro.

**Fenotipo.** Rasgos o características visibles de un organismo, por ejemplo, el color del cabello, el peso o la presencia o ausencia de una enfermedad. Los rasgos fenotípicos no son necesariamente genéticos.

**Gen.** Unidad hereditaria. Secuencia de ADN cromosómico que se requiere para el origen de un producto funcional.

**Genotipo.** Constitución genética de un individuo, sea en su totalidad o en un locus específico.

**Haplotipos.** Conjunto de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en una sola cromátida que se encuentran estadísticamente asociados. Se puede referir a un solo locus, a varios loci, o incluso a un cromosoma entero.

**Heterocigoto (heterocigótico).** Genotipo con dos alelos diferentes en un locus determinado, un alelo es la forma normal y el otro es el mutante.

**Homocigoto (homocigótico).** Genotipo con dos alelos idénticos en un determinado locus en un par de cromosomas homólogos.

**Interacciones medicamentosas.** Aparición de una modificación medible (en intensidad o duración) del efecto de un fármaco (“objeto”) producida por la administración previa, posterior o conjunta de otro fármaco (“desencadenante”).

**Intrón.** Segmento de un gen que inicialmente se transcribe, pero que se retira de la transcripción del ARN primario por medio del ensamblaje de las secuencias situadas (exones) a cada lado de dicho ARN.

**Isoenzimas.** Son distintas formas moleculares de una misma enzima que presentan o muestran especificidad por el mismo sustrato.

**Ley de Hardy-Weinberg.** El principio de Hardy-Weinberg recibe el nombre del matemático inglés G. H. Hardy y el físico alemán Wilhelm Weinberg. Es un postulado que se aplica a la genética de poblaciones, que nos indica que una población, se haya en equilibrio cuando no actúan factores externos como la selección natural, migraciones y/o mutaciones. Este equilibrio se manifiesta cuando se observa que las proporciones genotípicas y por lo tanto fenotípicas de una población se mantienen constantes.

**Mutación.** Cualquier cambio hereditario en la secuencia de ADN genómico.

**Polimorfismo.** Presencia conjunta en una población de dos o más genotipos alternativos, para que el locus se considere polimórfico tendría que tener una frecuencia mayor de 0.01, de manera que la frecuencia del heterocigoto es al menos de 0.02.

**q.** En citogenética, brazo largo de un cromosoma en genética poblacional.

**Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (real time PCR).** Una variante de la PCR convencional que se basa en la detección y cuantificación

---

simultánea de la fluorescencia emitida por los productos de PCR que se acumulan durante el proceso de amplificación. Utiliza un fragmento de ADN (sonda) complementario a una parte intermedia del ADN que queremos amplificar.

**SNP (polimorfismo de un solo nucleótido).** Es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de una secuencia del genoma.

**Sonda Taqman.** Son secuencias de ADN conocidas, que en un extremo posee un fluoróforo y en el otro una molécula que bloquea la fluorescencia (quencher). Esta secuencia hibrida en el blanco a amplificar flanqueado por los primers (cebadores), cuando se da la amplificación se hidroliza la sonda, separándose el fluoróforo y el quencher, lo cual emite fluorescencia de modo proporcional a la cantidad de producto generado.

**Transversal comparativo.** Tipo de estudio que estudia una población bien definida en un momento determinado.

**Xenobióticos.** Compuestos de naturaleza química muy variada, algunos de los cuales son de origen natural, entre los que se destacan las micotoxinas, si bien, la inmensa mayoría son productos originados por la propia actividad humana, como los contaminantes ambientales o los compuestos químicos de síntesis.

**SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS.**

|              |  |
|--------------|--|
| <b>Aa</b>    | Aminoácidos  |
| <b>AST</b>   | Aspartato aminotrasferasa  |
| <b>ALT</b>   | Alanina aminotransferasa   |
| <b>ARNm</b>  | Ácido ribonucleico mensajero.  |
| <b>°C</b>    | Grados Centígrados   |
| <b>cm</b>    | Centímetros  |
| <b>ADN</b>   | Ácido desoxirribonucleico  |
| <b>EDTA</b>  | Ácido Etileno Diamino Tetracético.   |
| <b>MR</b>    | Metabolizador rápido   |
| <b>HDL</b>   | Lipoproteína de alta densidad del inglés <i>High Density Lipoprotein</i>         |
| <b>IMC</b>   | Índice de masa corporal  |
| <b>Kg</b>    | Kilogramos   |
| <b>LDL</b>   | Lipoproteína de baja densidad del inglés <i>Low Density Lipoprotein</i> .        |
| <b>ml</b>    | Mililitro  |
| <b>mg/dL</b> | Miligramo por decilitro  |
| <b>ng</b>    | Nanogramos   |
| <b>nm</b>    | Nanómetros   |
| <b>pb</b>    | Pares de bases   |
| <b>PCR</b>   | Reacción en cadena de la polimerasa  |
| <b>ML</b>    | Metabolizador lento  |
| <b>rpm</b>   | Revoluciones por minuto  |
| <b>µL</b>    | Microlitros  |
| <b>VLDL</b>  | Lipoproteína de muy baja densidad del inglés <i>Very low Density Lipoprotein</i> |

**Lista de Tablas**

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1. Alelos del <i>CYP2C19</i> en población Caucásica.....  | 7  |
| Tabla 2. Sustratos, Inhibidores e Inductores del gen <i>CYP2C19</i> .....   | 7  |
| Tabla 3. Municipios con más de 310 hablantes de Huichol. ....   | 11 |
| Tabla 4. Municipios con más de 45 hablantes de cora. ....   | 13 |
| Tabla 5. Municipios con más de 15 hablantes de Tepehuano en Durango.....  | 15 |
| Tabla 6. Mortalidad por causas seleccionadas* Nacionales e indígenas .....  | 18 |
| Tabla 7. Clasificación para IMC .....   | 25 |
| Tabla 8. Coctel para la reacción de PCR.....  | 32 |
| Tabla 9. Condiciones de PCR en tiempo real.....   | 32 |
| Tabla 10. Resultados de datos antropométricos de los 3 grupos estudiados.....   | 35 |
| Tabla 11. Resultados de Pruebas Bioquímicas de los 3 grupos estudiados.....   | 36 |
| Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo del <i>CYP2C19*2</i> en<br>Huicholes, Coras y Tepehuanos.....               | 40 |
| Tabla 13. Prueba exacta de Fisher para determinar diferencias en los genotipos del<br><i>CYP2C19*2</i> en las poblaciones de estudio..... | 40 |
| Tabla 14. Frecuencia de las variantes alélicas del <i>CYP2C19</i> en población Hispana. 43  |    |
| Tabla 15. Frecuencias alélicas del <i>CYP2C19*2</i> en diferentes poblaciones.....  | 45 |
| Tabla 16. Frecuencia de las variantes alélicas del <i>CYP2C19*3</i> en población Hispana.<br>.....  | 45 |
| Tabla 17. Frecuencia alélica del polimorfismo <i>CYP2C19*3</i> en diferentes poblaciones<br>.....   | 45 |
| Tabla 18. Medicamentos usados en las poblaciones de estudio.....  | 47 |

## Lista de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Proporción de las diferentes reacciones metabólicas de fase I en el hígado, responsables del metabolismo de fármacos. Tomado de Donato .....   | 3  |
| Figura 2. Ecuación para la reacción oxidasa del P450 y los dos tipos de electrones que son transportados, dependiendo de su localización subcelular..... | 4  |
| Fig. 3 Principales Enzimas del P450 en el Hombre.....  | 5  |
| Figura 4. Secuencia del gen <i>CYP2C19</i> .....   | 6  |
| Figura 5. Estructura en 3D de la proteína del <i>CYP2C19</i> .....   | 6  |
| Figura 6. Lengua predominante en localidades con 40% y más de población indígena según el volumen de hablantes. ....                                     | 17 |
| Figura 7. Mujeres: tasa de mortalidad de las cinco principales causas de muerte entre las menores de un año según condición de indigenismo. 2004.....    | 19 |
| Figura 8. Poblaciones estudiadas de Durango y Nayarit.....   | 24 |
| Figura 9. Cámara de Electroforesis, C.B.S. Scientific Co. Modelo MGU-502T made in USA, 250 Volts DC.....   | 30 |
| Figura 10. Gel Agarosa al 1% de ADN genómico de Huicholes, Coras y Tepehuanos. ....  | 30 |
| Figura 11. NanoDrop 2000/2000c .....   | 31 |
| Figura 12. StepOne Real-Time PCR System by Applied biosystem .....   | 37 |
| Figura 13. Discriminación alélica para el polimorfismo <i>CYP2C19*2</i> en Coras, con los tres genotipos. ....   | 38 |
| Figura 14. Curva de amplificación de un individuo Cora para el homocigoto Silvestre. ....  | 39 |
| Figura 15. Curva de amplificación de un individuo Cora para heterocigoto .....   | 39 |
| Figura 16. Curva de amplificación de un individuo Cora para homocigoto mutado.....   | 39 |

## RESUMEN

Los genes del CYP450 son altamente polimórficos, lo que determina la síntesis de enzimas con actividad disminuida, incrementada o sin actividad. Las enzimas del CYP2C son bien conocidas por su importancia clínica para metabolizar más del 20% de todos los medicamentos. La subfamilia del CYP2C, comprenden tres genes *CYP2C8*, *CYP2C9* y *CYP2C19*, este último metaboliza el 2% de todos los fármacos. Hay una marcada variabilidad interétnica en la frecuencia de las variantes alélicas del *CYP2C19*, \*2, \*3 y \*4 las cuales están asociadas con una mayor prevalencia del fenotipo metabolizador pobre. Métodos: se usó PCR en tiempo real para evaluar los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* en 150 individuos de tres diferentes comunidades indígenas (Huicholes, Coras y Tepehuanos) de Durango y Nayarit. Resultados: La frecuencia del alelo *CYP2C19*\*2 se encontró con una frecuencia de en Huicholes 0.09 (9%), 0.08 (8%) en Coras y 0.1 (10%) en Tepehuanos; mientras que los Polimorfismos *CYP2C19*\*3 y \*4 no se encontraron en estas poblaciones de estudio. Conclusiones: Los resultados de este estudio genético en poblaciones indígenas de Durango y Nayarit podrían ser importantes para determinar las directrices en los tratamientos de medicamentos en estas poblaciones.

Palabras clave: población Indígena, polimorfismos del *CYP2C19* y farmacología.



**ABSTRACT**

CYP450 genes are highly polymorphic, which determines the synthesis of enzymes with low, increased or null activity. CYP2C enzymes are well known for their ability to metabolize more than 20% of available drugs. CYP2C sub-family include three genes *CYP2C8*, *CYP2C9* and *CYP2C19*, the latter engaged to metabolize 2% of all drugs. There exist a great inter-ethnic variability in the frequency of allelic variants *CYP2C19*, \*2, \*3 and \*4, which are associated with a higher prevalence of poor metabolizer phenotype. Methods: Real time PCR was used to determine the polymorphic variants \*2, \*3 and \*4 in *CYP2C19* gene in 150 subjects from different indigenous communities (Huicholes, Coras and Tepehuanos) from Durango and Nayarit states. Results: *CYP2C19*\*2 allele was found with a frequency of 0.09 (9%) in Huicholes, 0.08 (8%) in Coras and 0.1 (10%) in Tepehuanos. *CYP2C19*\*3 and \*4 were not found in the studied populations. Conclusions: The results found in this study on indigenous populations from Durango and Nayarit, provides valuable information about the frequency of *CYP2C19* \*2 polymorphism which could be important to determine guidelines on drug treatment in these populations.

Keywords: Indigenous population, polymorphisms of *CYP2C19* and pharmacology.

## I. INTRODUCCIÓN

Existe una marcada variabilidad genética que puede afectar enzimas metabolizadoras de xenobióticos, como las isoenzimas del citocromo P-450 (*CYP*). Las enzimas *CYP* son el mejor grupo estudiado y las que han adquirido más relevancia por su influencia en los procesos de biotransformación no sólo de xenobióticos, sino también de sustancias endógenas (Boletín, 2003). Hasta el momento se han identificado más de 50 isoenzimas del Citocromo P450 en el ser humano, y de éstas, las isoenzimas *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP2E6* y *CYP3A4* están relacionadas con la oxidación de un gran número de xenobióticos (Goldstein y De Morais, 1994; Bertillon *et al.*, 1992).

Los individuos pueden ser clasificados de acuerdo con la tasa metabólica (TM) en metabolizadores rápidos (MR) que son los más frecuentes, y los metabolizadores lentos (ML), los cuales están asociados a la existencia de algún polimorfismo (Weber, 1997).

El principal defecto molecular detectado en el gen de la isoenzima *CYP2C19* consiste en una mutación denominada *CYP2C19\*2* que consiste en un cambio nucleotídico A>G en el exón 5 del gen. Se ha descrito otra mutación denominada *CYP2C19\*3* consistente en una transición de una G >A en el exón 4 del mismo gen. En ambos polimorfismos se produce un codón de terminación prematuro, generando una enzima totalmente inactiva (De Morais *et al.*, 1994; Weber, 1997). Sin embargo para el *CYP2C19\*4*, existen escasos estudios de dicha variabilidad en grupos indígenas de nuestro país.

Existe un bajo porcentaje de pueblos indígenas en México (11%) comparado con otros países entre los que destacan Bolivia (60%), Guatemala (45%) y Perú (30%) (Censo de los E.U.A., 2000). Se han realizado numerosos estudios en los que se ha demostrado que hay una marcada variabilidad intraindividual e interindividual en la respuesta a medicamentos (Bing Zhu, 2001).

## II. MARCO TEÓRICO.

### 2.1 Factores asociados a la respuesta a fármacos

Dentro de los factores que influyen en la respuesta a los medicamentos están la interindividualidad y la interetnicidad (Luo *et al.*, 2004); diferentes estudios han identificado variaciones en la respuesta a los medicamentos en poblaciones con diferente ancestría, dependiendo particularmente si provienen del sur o del norte de México (López *et al.*, 2005; Lares *et al.*, 2005; Sosa *et al.*, 2006).

Las variaciones en la respuesta a los medicamentos dependen en gran medida de la concentración del fármaco alcanzada en su lugar de acción y que es consecuencia de los procesos de absorción, distribución metabolismo y eliminación (Rowland *et al.*, 1980; Armijo, 1983). Todos estos procesos son controlados por diferentes factores endógenos como edad factores patológicos, dieta, alcoholismo, tabaquismo, factores genéticos y el tratamiento concomitante destacando el factor genético como uno de los principales determinantes, para el cual, se han identificado variaciones interpopulacionales (Santiago *et al.*, 2002; Luo *et al.*, 2004; Weide y Steijns, 1999).

La mayoría de los fármacos, requieren para su eliminación de un metabolismo realizado principalmente a nivel hepático (Figura 1). Cualquier variable que afecte el metabolismo podría ser decisiva en la eliminación de un fármaco. Gran parte de la variabilidad interindividual se puede explicar por cambios en el metabolismo

Las reacciones químicas que participan en el metabolismo de fármacos se clasifican en:

1. **Fase I:** principalmente son reacciones de oxidación, hidrólisis y reducción.
2. **Fase II:** principalmente conjugan los sustratos con otros compuestos de origen endógeno. (Santiago *et al.*, 2002; Goodman y Gilman, 2006; Rowland y Tozer, 1980).

#### Enzimas de fase I

---

Estas enzimas introducen o exponen un grupo funcional del fármaco original, y lo convierten en un metabolito más polar. Las reacciones pueden o no culminar con la pérdida de actividad farmacológica y son catalizadas principalmente por enzimas del citocromo P450 (Figura 1).

### Enzimas de fase II

La acción de las **enzimas de Fase II** (transferasas), Conjugan los productos del metabolismo de fase I con agentes endógenos como ácido glucurónico, sulfato y glutatión, generando conjugados inactivos para su excreción por orina y heces (Nebert y González, 1987).

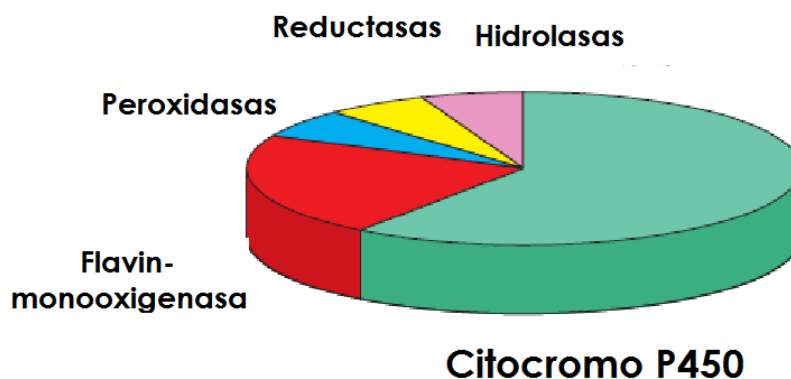


Figura 1. Proporción de las diferentes reacciones metabólicas de fase I en el hígado, responsables del metabolismo de fármacos. Tomado de Donato: [www.ranf.com/publi/mono/014/cap01.pdf](http://www.ranf.com/publi/mono/014/cap01.pdf).

## 2.2 La familia del citocromo P450

El CYP450 fue observado por primera vez por Martin Klingenberg (1958), quién estuvo estudiando las propiedades espectrofotométricas de un pigmento microsomal, en el hígado de ratas, en el cual observo la reducción del agente de ditionito de sodio que fue agregado previamente a la dilución de los microsomas con monóxido de carbono, observándose absorbancias con una banda única y un pico máximo de 450 nm.

Los P450's son miembros de la clase de enzimas llamados oxigenasas. Específicamente de las monooxigenasas o una mezcla de las funciones oxidasas.

Las enzimas catalizan las reacciones químicas de las conversiones oxidativas con la ecuación ilustrada en la figura 2. Donde dos electrones originados de NADPH son transferidos de la hemoproteína por una flavoproteína en presencia de un químico orgánico y de oxígeno molecular. El químico orgánico es oxidado y uno de los átomos de la molécula de oxígeno es incorporado dentro del producto químico (Hasler *et al.*, 1999).

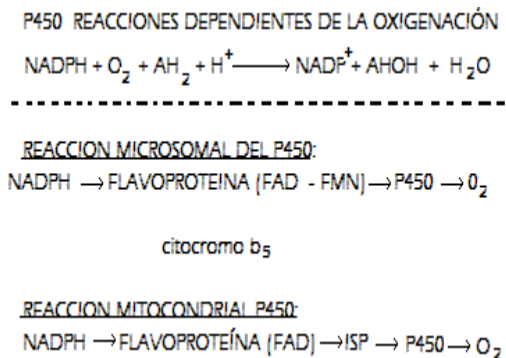


Figura 2. Ecuación para la reacción oxidasa del P450 y los dos tipos de electrones que son transportados, dependiendo de su localización subcelular.

El citocromo P450 es el principal catalizador de las reacciones de fase I y constituye la ruta metabólica primaria para el metabolismo de medicamentos (Gardiner *et al.*, 2006). Esta familia está constituida por un grupo de 57 proteínas que son codificadas por 17 genes. Están implicadas en el metabolismo oxidativo de compuestos endógenos como esteroides, ácidos grasos o vitaminas liposolubles (A y D) y del metabolismo de xenobióticos entre los que se encuentran diversos medicamentos, carcinógenos, pesticidas, alcaloides, etc. (Wislocki *et al.*, 1980; Nebert y González 1987; Ortiz 1995). Algunos genes del CYP450 son altamente polimórficos (Nebert, 2008), generando cambios en la cantidad de enzima expresada, generando enzimas con una alterada actividad enzimática (reducción, incremento o inactivación).

En 1989 se propuso la forma de nombrar a los integrantes de la familia de P450. Usando la abreviatura CYP para hacer referencia al citocromo P450, posteriormente se le agrega un número que corresponde a la familia, después se coloca una letra que corresponde a la subfamilia, seguido de un número que corresponde a la

isoenzima y por último un asterisco seguido de un número que nos describe la variabilidad alélica. (Miranda y Ostrosky, 2004). En la Fig. 3 se observan las principales familias y subfamilias de enzimas del CYP450 en el hombre.

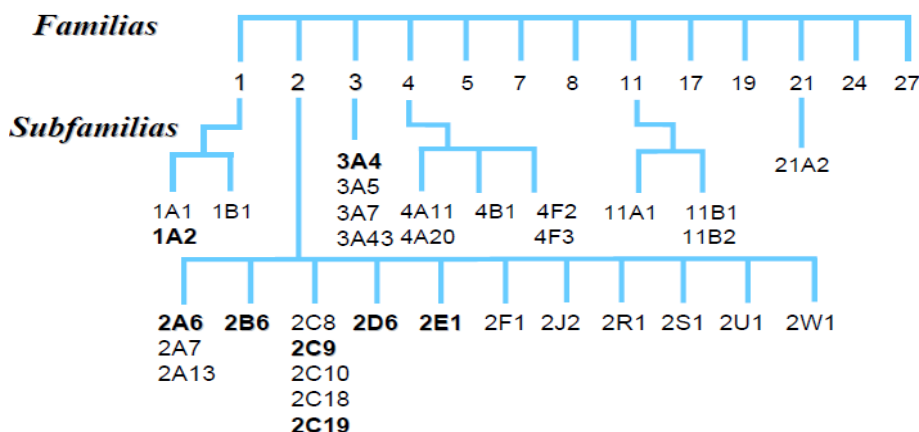


Figura 3. Principales Enzimas del P450 en el Hombre.

### 2.3 CYP2

La familia 2 del citocromo P450 comprende cinco subfamilias en el humano: *CYP2A*, *CYP2B*, *CYP2C*, *CYP2D* y *CYP2E* (Nebert y González, 1987). La subfamilia *CYP2C* representa aproximadamente el 20% del contenido hepático del total de los citocromos P450 (Shimada *et al.*, 1994; Imaoka *et al.*, 1996) y dentro de ella, el más abundante es el *CYP2C9*, seguido de *CYP2C8* y *CYP2C19* (Edwards *et al.*, 1998).

Los sustratos del *CYP2C* incluyen algunos medicamentos de los que se prescriben con más frecuencia (De Morais *et al.*, 1994; Klotz *et al.*, 2004).

#### 2.3.1 El gen *CYP2C19*

El gen está localizado en el cromosoma 10q24, contiene 9 exones y 38 SNPs en la región codificante, figura 3 (NCBI, 2010).

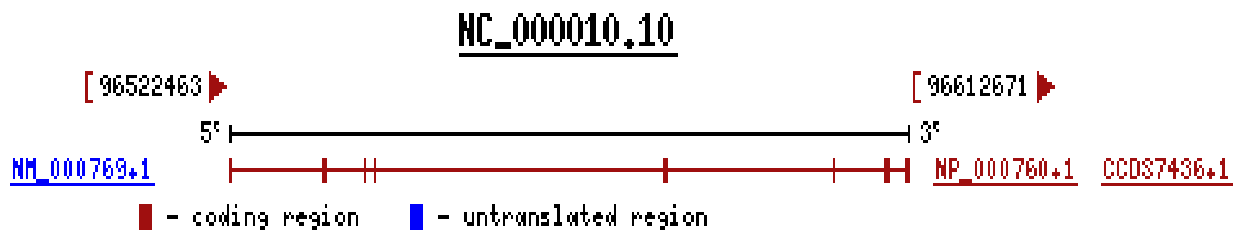


Figura 4. Secuencia del gen *CYP2C19*

### 2.3.2 Proteína.

*CYP2C19* es una proteína de 490aa, está presente principalmente en el hígado, aunque la actividad también se ha observado en el intestino (Obach et al., 2001).

Figura 4.

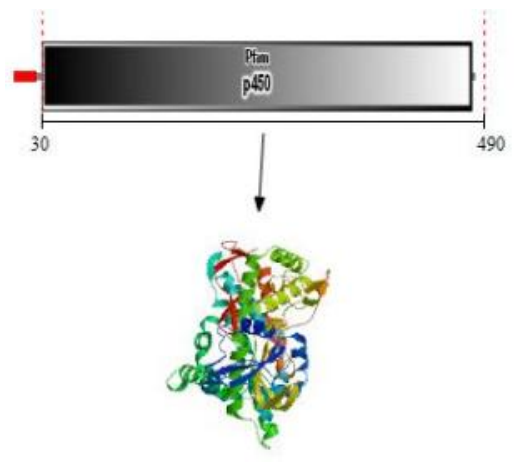


Figura 5. Estructura en 3D de la proteína del *CYP2C19*.

### 2.3.3 Polimorfismos del Gen *CYP2C19*

Actualmente, se han descrito 20 alelos del gen *CYP2C19* que están asociados con la producción de proteínas deficientes o con la ausencia de actividad enzimática (Gardiner et al., 2006).

En la tabla 1, se muestran los resultados del estudio de las mutaciones más comunes y su consecuencia sobre la función enzimática, así como la frecuencia alélica, en población Caucásica (De Morais *et al*, 1996).

Tabla 1. Alelos del *CYP2C19* en población Caucásica.

| Designación       | Características de la mutación    | Actividad Enzimática | Frecuencia Alélica (%) |
|-------------------|-----------------------------------|----------------------|------------------------|
| <i>CYP2C19</i> *1 | Tipo Silvestre                    | Normal               |                        |
| <i>CYP2C19</i> *2 | 681G>A Sustitución exón 5         | Deficiente           | 15                     |
| <i>CYP2C19</i> *3 | 636 G> A Sustitución en el exón 4 | Deficiente           | 0.3                    |
| <i>CYP2C19</i> *4 | 1 A>G sustitución                 | Deficiente           | 0.6                    |

La enzima codificada por el gen *CYP2C19*, es responsable del metabolismo de un gran número de medicamentos clínicamente relevantes algunos con un estrecho margen terapéutico, incluido el anticonvulsivo mefenitoína, omeprazol, diazepam, y barbitúricos Tabla 2. Lista actualizada de los medicamentos que interactúan con *CYP2C19* clasifican en sustratos, inhibidores e inductores:

Tabla 2. Sustratos, Inhibidores e Inductores del gen *CYP2C19*.

| Sustratos  | Inhibidores   | Inductores   |
|--|---|--|
| lansoprazol, omeprazol, pantoprazol, rabeprazol, fenitoína; mefenitoína, fenobarbital, amitriptilina, carisoprodol, citalopram, clomipramina, ciclofosfamida; hexobarbital, imipramina, indometacina; mefobarbital, moclobemida, nelfinavir; nilutamida, primidona, progesterona; proguanil; propranolol; tenipósido; warfarina, clopidogrel | Inhibidores: cloranfenicol, cimetidina, felbamato, fluvoxamina, indometacina, ketoconazol, modafinilo, probenecid, topiramato | carbamazepina, noretindrona, prednisona, rifampicina, lansoprazol, oxcarbazepina, ticlopidina, |

### 2.3.3.1 *CYP2C19*\*2

*CYP2C19* \*2, también se conoce históricamente como *CYP2C19m1*, se detectó por primera vez en poblaciones de Caucásicos y asiáticos como ML de mefenitoína (De



Morais *et al.*, 1994). El alelo \*2 también contribuye al fenotipo ML de omeprazol (Roh *et al.*, 1996).

Este polimorfismo se caracteriza por llevar una sustitución de G > A en el nucleótido 681 en el exón 5 que crea un sitio de empalme aberrante. El cambio altera el marco de lectura del ARNm a partir del aminoácido 215 y produce un codón de terminación prematuro con 20 aminoácidos menos, dando lugar a una proteína truncada no funcional., en la cual había 234 aminoácidos y era catalíticamente inactiva porque carecía de la región hemo-vinculante. De Morais *et al.*, (1994) desarrolló una prueba basado en PCR para los alelos defectuosos del *CYP2C19*, donde demostró que 7 de cada 10 caucásicos y 10, de cada 17 japoneses eran homocigotos para este alelo. En poblaciones asiáticas el 99% de los pacientes con PM presentan este polimorfismo *CYP2C19* \*2 (De Morais *et al.*, 1994).

### **2.3.3.2 CYP2C19\*3**

Este polimorfismo es el segundo más estudiado del *CYP2C19*, el cual lleva el cambio 636G> A que resulta en un Trp / Ter en el aminoácido 212 y el truncamiento de la proteína. *CYP2C19* \*3 también fue conocido históricamente como *CYP2C19m2* (De Morais *et al.*, 1994).

Este alelo es mucho menos frecuente en Caucásicos, afro-americanos, hispanos y latinos. Las poblaciones de las islas del Pacífico de Papúa Nueva Guinea y Vanuatu, tienen una alta frecuencia de alelos *CYP2C19* \*2, también tienen una frecuencia inusualmente alta de *CYP2C19* \*3 en el cual puede ser importante para la profilaxis con el proguanil que es un sustrato del *CYP2C19* (Masta *et al.*, 2003; Kaneko *et al.*, 1999).

### **2.3.3.3 CYP2C19\*4**

Esta variante alélica fue observada por Ferguson *et al.*, (1998) quien identificó una mutación de A>G en el codón de inicio del *CYP2C19*, dando lugar a una sustitución Met1/val. La frecuencia de este alelo en población Caucásica fue de 0.6% en ML. Estudios de expresión y transcripción *in vitro* confirmaron que *CYP2C19* \*4 representa un alelo defectuoso.

## **2.4 Población Indígena.**

México tiene una composición pluriétnica y pluricultural producto de la diversidad de grupos indígenas que habitan y conservan sus propias instituciones sociales, económicas, culturales y políticas.

El texto constitucional, reformado en 2001, define a los indígenas como los descendientes de las poblaciones que vivían en lo que hoy es el territorio mexicano antes de la llegada de los españoles en 1517, en el que se aclara que son indígenas únicamente aquellos que conservan total o parcialmente las culturas, las instituciones y las formas de vida de estos pueblos prehispánicos (Navarrete, 2008).

La diversidad de lenguas, orígenes, formas de vida y ecosistemas se traduce en una inagotable diversidad cultural. Los mitos y rituales, las tecnologías y las costumbres, las formas de vestir y las de hablar, las ideas y las creencias varían mucho entre los diferentes pueblos indígenas. Sin embargo, esta diversidad no quiere decir que los distintos grupos no tengan nada en común. Tras milenios de historia compartida antes de la llegada de los europeos y los africanos a este territorio, los pueblos indígenas compartían importantes elementos de su herencia cultural (Navarrete, 2008).

Los pueblos indígenas en México están integrados por aproximadamente 6.6 millones de personas, que constituyen más de la décima parte de la población. En México hay 21,407 localidades con más de 40% de población indígena. En el Censo 2005, se registró a la población indígena con 62 grupos etnolingüísticos y sus respectivas variantes (INEGI, 2010).

La mayoría de los indígenas en México vive en los estados del sur (INI, 1999). El 96% de los indígenas viven en áreas rurales, con escasos caminos, transporte público deficiente, malas condiciones de vivienda, bajo nivel educativo y en condiciones de pobreza extrema y alta marginación (Torres *et al.*, 2003).

Las malas condiciones de salud, están influenciadas por la desigualdad social, que se refleja en el proceso de transición epidemiológica en México (Torres *et al.*, 2003). El proceso de transición se caracteriza por una disminución en la incidencia de enfermedades infecciosas y un incremento en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas. En México los índices de morbilidad y mortalidad por ambas causas siguen siendo elevados (Torres *et al.*, 2003; Mega *et al.*, 2009).

#### **2.4.1 Huichol**

Los indígenas Wixarikas (pronunciación Vuirraricas), conocidos en la actualidad como huicholes, habitan el Oeste central de México en la Sierra Madre Occidental principalmente en los Estados de Jalisco y Nayarit. Se autodenominan wixarica o 'la gente' en su lengua, llamada por los lingüistas Wixaritari o vaniuki (conocido como lengua huichola), que pertenece a la familia de lenguas uto-aztecas. El etnónimo huichol, fue dado por los mexicas de forma despectiva desde antes de la conquista Española.

Los Wixaritaris hablan una lengua del grupo cora-chol que está cercanamente emparentado con el grupo nahua o aztecoide. Además han recibido influencias mesoamericanas, lo cual se refleja en que el huichol tiene rasgos típicos de esa área lingüística (Neurath, 2003).

---

En el país hay 35 724 hablantes de huichol, de ellos, 17 702 son hombres y 18 022, mujeres. Los hablantes de huichol residen principalmente en los estados de Nayarit, Jalisco, Durango y Zacatecas.

Los municipios con mayor número de hablantes de huichol son: Mezquitic (9 282) y Bolaños (2 301), en Jalisco; Del Nayar (8 803), Tepic (4 132) y La Yesca (3 837), en Nayarit. A nivel nacional, 11.4% de los hablantes de huichol no habla español (7.4% de los hombres y 15.3% de las mujeres). En el estado de Jalisco se registran los mayores porcentajes de población huichol monolingüe: 13.6% de los hombres y 28.1% de las mujeres. En el municipio de Mexquitic reside el 61.9% de la población huichol que no habla español y en Del Nayar el 23.7 %.

En la estructura por edad y sexo de la población que habla huichol, destaca una base muy amplia, con altos porcentajes de población de 5 a 9 años (17.6%) y de población de 10 a 14 (17.2 por ciento) (Navarrete, 2008).

Respecto a sus movimientos migratorios se observa que, entre el año 2000 y el 2005, Jalisco perdió 882 huicholes, en tanto que Nayarit ganó 599 y Zacatecas 192. En 2005 se registraron 9 104 hogares donde el jefe y/o su cónyuge hablan huichol. Estos hogares están formados por 45 960 personas. De los miembros de 5 años y más, 34 853 hablan lengua indígena y 3 678 no; a su vez un alto porcentaje (86.4) de los que tienen de 5 a 9 años hablan lengua indígena (Tabla 3).

**Tabla 3. Municipios con más de 310 hablantes de Huichol.**

| Municipio                  | Entidad federativa | Total | Hombres | Mujeres |
|----------------------------|--------------------|-------|---------|---------|
| <b>Mezquitic</b>           | Jalisco            | 9 282 | 4 490   | 4 792   |
| <b>Del Nayar</b>           | Nayarit            | 8 803 | 4 331   | 4 472   |
| <b>Tepic</b>               | Nayarit            | 4 132 | 2 052   | 2 080   |
| <b>La Yesca</b>            | Nayarit            | 3 837 | 1 844   | 1 993   |
| <b>Bolaños</b>             | Jalisco            | 2 301 | 1 141   | 1 160   |
| <b>Mezquitic</b>           | Durango            | 1 748 | 827     | 921     |
| <b>Santa María del Oro</b> | Nayarit            | 839   | 433     | 406     |
| <b>Ruíz</b>                | Nayarit            | 717   | 362     | 355     |
| <b>Santiago Ixcuintla</b>  | Nayarit            | 339   | 163     | 176     |
| <b>Rosamorada</b>          | Nayarit            | 311   | 143     | 168     |

Las viviendas de los hogares huicholes presentan características precarias, se observa que el 30.4% de ellas obtiene el agua de un río, arroyo, lago o de otra fuente semejante y 13.4% lo hace de un pozo; 22.5% tienen agua entubada dentro de la vivienda y 24% dentro del terreno; 70% carecen de drenaje y 63.2% de servicio sanitario; 70.1% tienen piso de tierra y sólo 39% tienen electricidad.

De cada 100 viviendas huicholas, 38 carecen de electricidad, drenaje, servicio sanitario y agua entubada dentro de la vivienda o en el terreno. Respecto a los bienes disponibles, se observa que 26% de las viviendas tienen televisión, 14.6% cuentan con refrigerador, 8.3% con lavadora y 2.7% con computadora. El 70.4% de las viviendas carece de todos los bienes mencionados (INEGI, 2005)

A pesar del patrón de asentamiento disperso, los huicholes cuentan con organizaciones comunitarias estables y complejas (Navarrete, 2008).

#### **2.4.2 Cora**

Los Coras son un grupo étnico que vive en la Sierra del Nayar, y más precisamente, en el municipio de El Nayar, en el oriente del estado de Nayarit. También tienen asentamientos en el estado de Jalisco. Los Coras se nombran así mismos Nayeri, etónimo del que deriva el nombre del estado de Nayarit (Jáuregui, 2004).

En el país hay 17 086 hablantes de cora, 8 787 hombres y 8 299 mujeres. El 97.1% de los hablantes de cora reside en el estado de Nayarit; también existe presencia importante en Baja California (0.6%) y Jalisco (0.7%). Los municipios con mayor cantidad de hablantes de cora son: Del Nayar (12 935), Rosamorada (1 296) y Ruiz (1 235), en Nayarit (tabla 4). A nivel nacional, 22.3% de la población que habla cora no habla español; 17% de los hombres y 27.9% de las mujeres. El 96.5% de los cora monolingües reside en el municipio del Nayar. En la estructura por edad y sexo se observan altos porcentajes de menores de 15 años: 17.1% de niños de 5 a 9 años y 16.2% de 10 a 14; así como de población joven de 15 a 29 años (30.7 %). El 54.2%

---

de la población cora de 15 años y más sabe leer y escribir y el 40.1% carece de escolaridad: 33.7% de los hombres y 46.8% de las mujeres. Sólo 28.7% de los jóvenes de 15 a 19 años asiste a la escuela, siendo su promedio de escolaridad de 8.3 años, mientras el promedio de los que no asisten es de 4.6 años (Jáuregui, 2004).

**Tabla 4. Municipios con más de 45 hablantes de cora.**

| Entidad Federativa | Municipio          | Total  | Hombres | Mujeres |
|--------------------|--------------------|--------|---------|---------|
| Nayarit            | Del Nayar          | 12 935 | 6 571   | 6 364   |
| Nayarit            | Rosamorada         | 1 296  | 658     | 638     |
| Nayarit            | Ruiz               | 1 325  | 596     | 639     |
| Nayarit            | Tepic              | 658    | 385     | 273     |
| Nayarit            | Acaponeta          | 145    | 72      | 73      |
| Nayarit            | Xalisco            | 80     | 39      | 41      |
| Nayarit            | San Blas           | 68     | 39      | 29      |
| Durango            | Mezquital          | 59     | 28      | 31      |
| Nayarit            | Santiago Ixcuintla | 52     | 24      | 28      |
| Baja California    | Tijuana            | 48     | 32      | 16      |

En México hay 4 091 hogares donde el jefe y/o su cónyuge hablan cora, formados por 22 900 personas. El porcentaje de miembros de 5 años y más que habla lengua indígena asciende a 87.4, igualmente alto es el correspondiente a los niños de 5 a 9 años (82.1). Las viviendas de los hogares Coras presentan características precarias. Destaca que 12.5% están constituidas por un solo cuarto; 30.5% obtienen el agua de un río, arroyo, lago u otra fuente semejante y 17.8% la obtienen de un pozo; 70.6% carecen de drenaje; sólo 44% tienen electricidad; 67.4% no tienen servicio sanitario y 65.4% tienen piso de tierra (INEGI, 2005).

De cada 100 viviendas Coras, 38 carecen de electricidad, drenaje, servicio sanitario y agua entubada dentro de la vivienda o dentro del terreno. De igual manera, la disponibilidad de bienes en las viviendas donde se habla cora es reducido; sólo 26.1% tienen televisión, 16.5% disponen de refrigerador, 8% tienen lavadora y 1.9% computadora. En 71 de cada 100 viviendas se carece de televisión, refrigerador, lavadora y computadora (INEGI, 2005).

Los Coras hablan su propia lengua indígena, correspondiente a la familia yuto-azteca, la cual, junto con el idioma huichol, conforma la subfamilia corachol. El cora tiene cinco variantes lingüísticas principales: mariteco (de Jesús María), sanfrancisqueño (de San Francisco), meseño (de Mesa del Nayar, Santa Cruz del Guaybel y Presidio de los Reyes), tereseño (de Santa Teresa, Dolores y San Blas), corapeño (de San Juan Corapan, Rosarito y Mojocuahtla). La necesidad de una variante estandarizada para fines de la lectoescritura ha impuesto tendencialmente la variante mariteca, quizá porque en Jesús María se asienta la cabecera municipal y porque de ahí provienen los maestros bilingües encargados de la elaboración de los textos escolares (Jáuregui, 2004).

Los matrimonios interétnicos —ya sea con indígenas o con mestizos— han conducido a que las nuevas generaciones abandonen la lengua cora en favor de la *lingua franca* contemporánea de la región, el idioma español. La influencia del sistema escolar del Estado mexicano ha sido devastadora en la implantación del castellano y el desplazamiento de la lengua cora. Por un lado, los maestros bilingües durante mucho tiempo no han contado con los textos adecuados en lengua nativa; frecuentemente son asignados por la burocracia para impartir clases en poblaciones diferentes de las de su lengua materna y, lo más grave, se llega a aceptar a maestros mestizos, quienes se hacen pasar por profesores bilingües (Jáuregui, 2004).

### **2.4.3 Tepehuanos**

Los Tepehuanos están divididos en dos grupos: Tepehuanos de norte y del sur. Los Tepehuanos del sur son uno de los cuatro grupos indígenas que habitan en la región conocida como el gran Nayar, en el área meridional de la Sierra Madre Occidental, en porciones de los estados de Durango, Nayarit, Zacatecas y Jalisco. La denominación de tepehuanos del sur, fue para distinguirlos del grupo de tepehuanos que habitan en el estado de Chihuahua (Tepehuanos del norte).

En el país hay 22 549 hablantes de tepehuano de Durango, 11 033 hombres y 11 516 mujeres. El 96.4% residen dentro del estado de Durango, aunque en Zacatecas y Nayarit tienen presencia significativa. Los municipios con mayor número de hablantes de tepehuano de Durango son: Mezquital (17 233), Pueblo Nuevo (2 720) y Durango (981). A nivel nacional, 17% de los hablantes de tepehuano de Durango no hablan español (12.1% de los hombres y 21.7% de las mujeres). El 97.1% de los tepehuanos monolingües residen en Mezquital, Durango. En la estructura por edad y sexo de los hablantes de tepehuano de Durango destacan altos porcentajes de población de 5 a 9 años (17.8%), de 10 a 14 (16.9%) y de 15 a 19 (14.3 por ciento). Los movimientos migratorios de los tepehuanos de Durango son escasos (Navarrete, 2008).

En el país, 60.5% de la población tepehuana de Durango de 15 años y más sabe leer y escribir (72.5% de los hombres y 49.4% de las mujeres) y 40.3% carece de escolaridad (30.4% de los hombres y 49.5% de las mujeres). Sin embargo, 45.4% de los jóvenes de 15 a 19 años asiste a la escuela, siendo su promedio de escolaridad de 8.1 años, mientras el de los que no asisten de 5.2 años. De las mujeres que tienen de 15 a 19 años, 17.7% tienen al menos un hijo nacido vivo. El conteo registró 4 960 hogares donde el jefe y/o su cónyuge hablan tepehuano de Durango, los cuales están formados por 28 585 personas. Altos porcentajes de los miembros hablan lengua indígena, entre los de 5 años y más, 92 por ciento; y 89.6% entre los de 5 a 9 años (tabla 5) (Navarrete, 2008).

**Tabla 5. Municipios con más de 15 hablantes de Tepehuano en Durango**

| Municipio    | Entidad federativa | Total  | Hombres | Mujeres |
|--------------|--------------------|--------|---------|---------|
| Mezquital    | Durango            | 17 233 | 8 351   | 8 882   |
| Pueblo Nuevo | Durango            | 2 720  | 1 338   | 1 382   |
| Durango      | Durango            | 981    | 534     | 447     |
| Súchil       | Durango            | 578    | 277     | 301     |



---

|                         |           |     |     |     |
|-------------------------|-----------|-----|-----|-----|
| <b>Valparaíso</b>       | Zacatecas | 531 | 267 | 264 |
| <b>Huajicori</b>        | Nayarit   | 181 | 87  | 94  |
| <b>Vicente Guerrero</b> | Durango   | 117 | 56  | 61  |
| <b>Canatlán</b>         | Durango   | 30  | 17  | 13  |
| <b>Acaponeta</b>        | Nayarit   | 20  | 9   | 11  |
| <b>Fresnillo</b>        | Zacatecas | 19  | 13  | 6   |

---

Respecto a las viviendas de los hogares tepehuanos de Durango destaca que solamente 7.7% están constituidas por un solo cuarto, 45.6% disponen de agua de un río, arroyo, lago u otra forma similar y 29.7% la obtienen de un pozo; 80.2% carecen de drenaje; solamente 38.4% tienen electricidad; 49.9% carecen de servicio sanitario y 37.8% tienen servicio sin admisión de agua; 59.2% de las viviendas tienen piso de tierra y 26.8% tienen recubrimiento de madera, mosaico u otro material. De cada 100 viviendas, 36 no tienen electricidad, drenaje, servicio sanitario ni agua entubada dentro de la vivienda o dentro del terreno.

La presencia de bienes es escasas en las viviendas donde se habla tepehuano de Durango: en 14.9% de ellas hay televisión, en 6.4% refrigerador, en 3.7% lavadora y en 1.4% computadora. Cabe señalar que en 82.2% de las viviendas no se cuenta con ninguno de estos bienes (INEGI, 2005).

La lengua nativa de los tepehuanos del sur cuenta con dos variantes dialectales: el *o'dam*, o tepehuán del sureste, y el *audam*, o tepehuán del suroeste. El dialecto *o'dam* se concentra en las poblaciones del municipio de Mezquital, Durango, la segunda *audam* en las poblaciones del municipio de Pueblo nuevo, Durango, y de Huajicori, Nayarit.

Las palabras *o'dam* y *audam*, significan “gente”. El vocablo *tepehuán* o *tepehuanes*, con el que históricamente se ha denominado a este grupo y a sus homónimos del norte, deriva del náhuatl *tepetl*, “cerro” o “montaña” y la partícula posesiva *hua*, de tal

forma que tepehuanes significa “poseedores del cerro” o “habitantes de la montaña”. (Reyes, 2006).

## 2.5 Poblaciones de hablantes de lengua indígena.

Las poblaciones que cuentan con un mayor número de hablantes de su lengua Indígena se muestran en el siguiente figura 5.

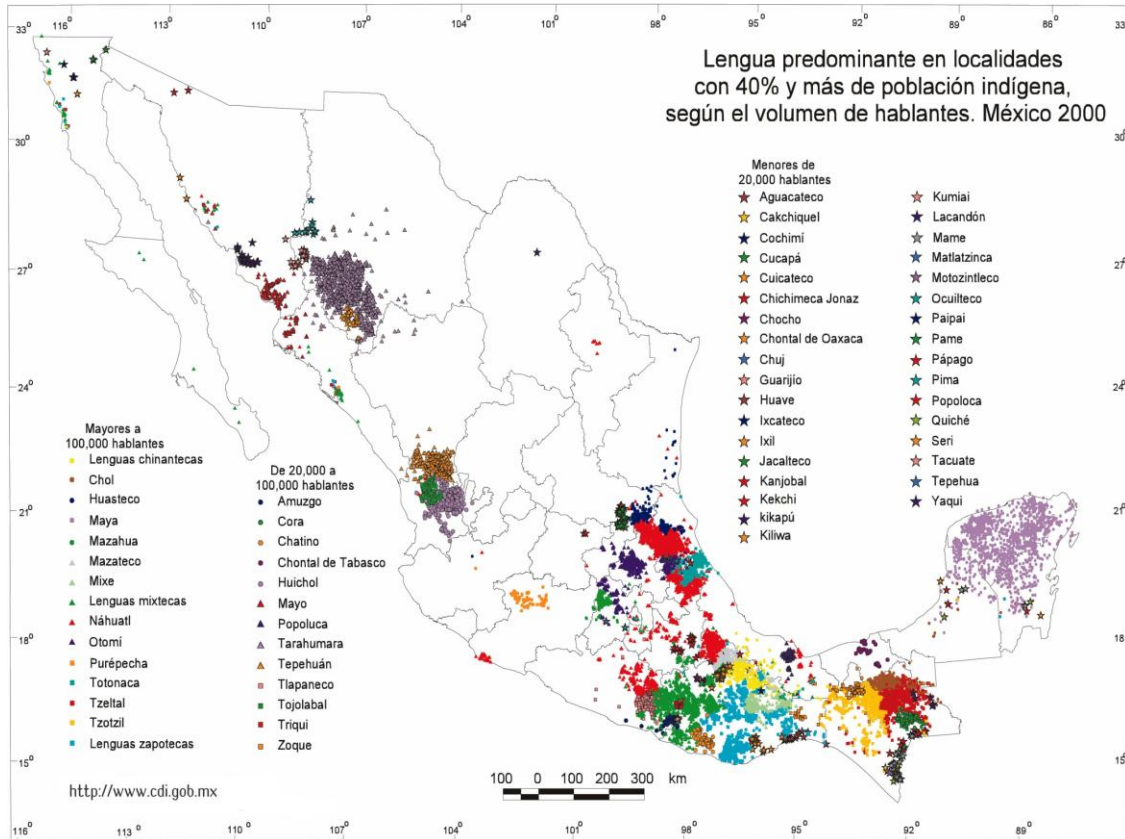


Figura 6. Lengua predominante en localidades con 40% y más de población indígena según el volumen de hablantes.

En México hay actualmente un total de 6, 011, 202 Habitantes indígenas de los cuales Durango tiene un total de 27,792 habitantes y Nayarit 41,689 Habitantes (INEGI, 2010).

## 2.6 Infraestructura

Las comunidades indígenas de Huicholes, Coras y Tepehuanos a las que se ha hecho referencia con anterioridad, se encuentran establecidas en regiones de difícil acceso en la sierra madre occidental. Por ejemplo, los tepehuanos se encuentran en las regiones más apartadas en Durango y Nayarit. Para llegar a cualquiera de las cabeceras comunales es necesario viajar cinco horas como mínimo y, en algunos casos, alrededor de quince, tiempo que puede aumentar considerablemente si los caminos están en malas condiciones (Reyes, 2006).

La atención en salud es provista fundamentalmente por los sistemas del IMSS oportunidades y la secretaría de salud en forma de primer nivel de atención. Los individuos indígenas de las tres etnias son atendidos por dichos sistemas, en los que se sabe que existe una deficiencia importante en el número de médicos por comunidad y por paciente.

## 2.7 Salud de los grupos étnicos

El 75% de las poblaciones de grupos étnicos de México viven en la pobreza, y esto se refleja en el mal acceso a los servicios de salud debido a las barreras geográficas (*Torres et al., 2003*). En la tabla 7 se muestran las principales causas de mortalidad.

**Tabla 6. Mortalidad por causas seleccionadas\* Nacionales e indígenas**

| CAUSA                    | NACIONAL | INDÍGENA |
|--------------------------|----------|----------|
| Diabetes mellitus        | 36       | 16       |
| Tumores                  | 53       | 33       |
| Enfermedades del corazón | 69       | 46       |
| Cirrosis                 | 24       | 23       |
| Neumonías                | 22       | 29       |
| Tuberculosis             | 4        | 9        |
| Materna                  | 4        | 14       |
| Diarreas                 | 11       | 34       |

\*Tasa por 100,000 habitantes

Fuente: SSA, 2001.

En la siguiente gráfica se puede observar la tasa de mortalidad en mujeres de acuerdo a la condición de indigenismo.

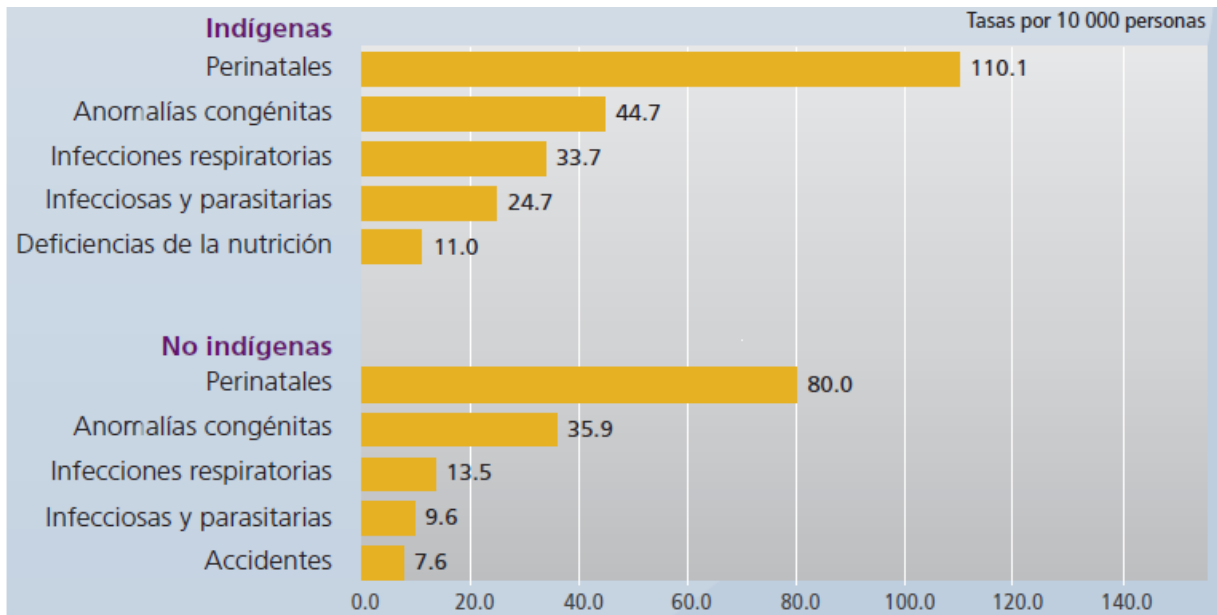


Figura 7. Mujeres: tasa de mortalidad de las cinco principales causas de muerte entre las menores de un año según condición de indigenismo. 2004

Las distancias y la dificultad en el transporte generan un alto índice de morbilidad y mortalidad, secundarios a la falta de atención médica oportuna y con ello la búsqueda de alternativas en la atención médica que promueven el consumo de remedios tradicionales y en otros casos la autoprescripción medicamentosa con los riesgos que ello implica.

### III. JUSTIFICACIÓN

Existen diferencias importantes en el metabolismo de algunos fármacos y xenobióticos entre poblaciones de distinto origen étnico, resultado principalmente de diferencias en los genes del citocromo P450 (CYP). Los grupos indígenas en México también están sujetos a variaciones en la respuesta a fármacos y xenobióticos, por lo que se han evaluado y detectado variaciones polimórficas en los genes *CYP2D6* y *CYP3A4* en Tepehuanos del estado de Durango. Sin embargo, aún no se ha evaluado el citocromo *CYP2C19* en otros grupos indígenas, por lo que resulta importante comparar las variaciones polimórficas de este gen entre Huicholes, Coras y Tepehuanos, de los estados de Nayarit y Durango, con el objeto de detectar posibles diferencias interindividuales e interétnicas entre ellos.

#### 3.2 Pregunta de investigación

¿Existen diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* entre las poblaciones de origen Huichol, Cora y Tepehuano de Nayarit y Durango?

#### 3.3 Hipótesis

Los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* muestran diferencias alélicas y genotípicas en las poblaciones de origen Huichol, Cora y Tepehuano de Nayarit y Durango.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General:

Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* en poblaciones de origen Huichol, Cora y Tepehuano Nayarit y Durango.

### 4.2 Objetivos Específicos:

- ⊙ Determinar las frecuencias de las variantes alélicas \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* en personas de origen Huichol, Cora y Tepehuano de Nayarit y Durango.
- ⊙ Determinar las frecuencias genotípicas de las variantes \*2, \*3 y \*4 del *CYP2C19* en personas de origen Huichol, Cora y Tepehuano de Nayarit y Durango.
- ⊙ Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre los grupos estudiados.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS.

**5.1 Diseño del Estudio:** Transversal comparativo, ambispectivo.

Grupos de estudio: personas pertenecientes a los grupos indígenas Huichol, Cora y Tepehuano de Durango y Nayarit.

**5.2 Tamaño de muestra.**

Dado que aún no se conocen las frecuencias de estos polimorfismos en grupos indígenas se evaluaron 50 sujetos de cada grupo étnico.

**5.3 Criterios de selección**

**5.3.1 Criterios de inclusión:**

- Personas mayores de 18 años
- Que sean de poblaciones de origen Huichol, Cora y Tepehuana del sur, definida por lengua nativa
- Ancestría de 3 generaciones
- De comunidades de Nayarit y Durango
- Que firmen carta de consentimiento informado.

**5.3.2 Criterios de exclusión:**

- Personas de origen mestizo dentro de las comunidades antes mencionadas.
- Personas con relación parental
- Ancestría indígena dudosa

### **5.3.3 Criterios de eliminación:**

- Personas que deseen retirarse voluntariamente del estudio
- Muestras de ADN degradado.

### **5.4 Variables independiente y dependiente del estudio.**

Independiente: Grupos étnicos, Huichol, Cora y Tepehuano.

Dependiente: Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismo \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19*.

### **5.5 Variables cualitativas y cuantitativas del estudio.**

#### **5.5.1 Variables Cualitativas.**

##### **5.5.1.1 Género**

Variable nominal dicotómica

Indicador: masculino, femenino.

##### **5.5.1.2 Etnia**

Variable nominal

Para este estudio se invitó a participar a individuos de poblaciones indígenas que hablen su lengua nativa y que demuestren pertenencia al grupo étnico a través de ancestría de 3 generaciones.

Indicador: Huichol, Cora y Tepehuano.

##### **5.5.1.3 Lugar de origen.**

Variable nominal

Se consideraron para el estudio poblaciones de Nayarit y Durango.



Del grupo Huichol se incluyeron voluntarios de la comunidad de Bancos de Calitque (Mpo. Mezquital, Durango). Del grupo de Cora se seleccionaron voluntarios de las comunidades de San Juan Corapan y Presidio de los Reyes (Mpio. de Ruiz Nayarit). Los Tepehuanos estudiados son habitantes de la comunidad de Duraznitos (Mpo. Mezquital, Durango). En la siguiente figura se muestra la localización de las comunidades indígenas mencionadas.

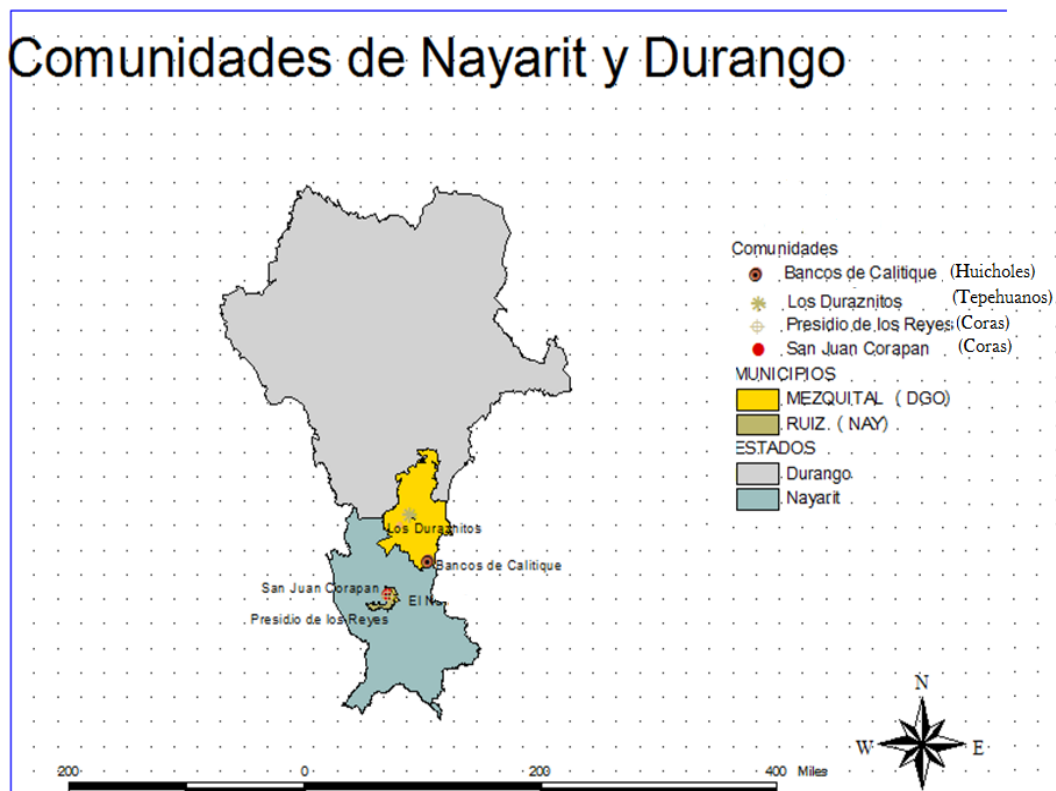


Figura 8. Poblaciones estudiadas de Durango y Nayarit.

#### 5.5.1.4 Genotipo.

Variable cualitativa

Se estudió la presencia de los alelos mutado y/o silvestre y la combinación de estos para generar tres posibles genotipos: homocigoto mutado, homocigoto silvestre y heterocigoto.

### 5.5.1.5 Frecuencia Alélica:

Variable cualitativa

Se determinó la frecuencia alélica de los polimorfismos \*2, \*3 y \*4 del gen *CYP2C19* en una población de 150 personas (50 de cada grupo indígena) considerando dos alelos por persona, por lo que se hará el cálculo de la siguiente manera:

$$Fi = \frac{\text{monocigotos mutados} \times 2 + \text{heterocigotos}}{\text{Total población}} \times 2$$

Indicador: se indicará la frecuencia en porcentaje (%)

### 5.5.2 Variables Cuantitativas.

#### 5.5.2.1 Edad.

Se consideró como edad a los años cumplidos por el sujeto en el momento del estudio.

#### 5.5.2.2 Obesidad.

Se estimó a través del cálculo de índice de masa corporal (IMC) que expresa la relación del peso corporal en kg/ estatura en metros al cuadrado. Utilizando la siguiente clasificación (tabla 8).

Tabla 7. Clasificación para IMC

| Clasificación | Valores (Kg/m <sup>2</sup> ) |
|---------------|------------------------------|
| Normal        | 18.50 - 24.99                |
| Sobrepeso     | ≥ 25.00 < 30                 |
| Obeso         | ≥ 30.00                      |

(\*Jordi Salas et al., 2007)  
Indicador: kg/m<sup>2</sup>.

### **5.5.2.3 Circunferencia de la cintura**

Se estimó el grado de obesidad central a través de la medición del perímetro de la cintura. La medición de la cintura se realizó a nivel de la cicatriz umbilical, con una cinta métrica con escala en centímetros.

Indicador: cm. Mujeres >90 cm y Hombres >100 cm

### **5.5.2.4 Niveles séricos de glucosa.**

Variable cuantitativa.

La toma de muestras sanguíneas se realizó en condiciones de 8 horas de ayuno

Indicador: Rango normal 70-100 mg/dL de glucosa en ayuno (Diabetes Care, 2010)

### **5.5.2.5 Niveles séricos de colesterol total.**

Variable cuantitativa

Se consideró como colesterol total a los valores séricos de colesterol determinados en suero venoso.

Indicador: tomando como rango normal de referencia < 200 mg/dl (Semenkovich, 2007).

### **5.5.2.6 Valores séricos de triglicéridos.**

Variable cuantitativa.

Se determinaron los valores séricos de este estudio en suero venoso.

Indicador: rango normal de referencia < 150mg/dl (Semenkovich, 2007).

### **5.5.2.7 Lipoproteínas**

Variables cuantitativas

Se determinaron estas lipoproteínas las cuales se agrupan en lipoproteínas de baja densidad (LDL), de muy baja densidad (VLDL) y de alta densidad (HDL).

Indicadores: mg/dL.

Tomando como rango de referencia normal:

HDL:  $\geq 50$  mg/dL en el Hombre y en Mujeres  $\geq 40$  mg/dL

LDL:  $< 100$  mg/dL

VLDL: 5 - 40 mg/dL (Semenkovich, 2007).

#### **5.5.2.8 I. Aterogénico**

Esta prueba sirve para realizar una valoración del riesgo de enfermedad cardiovascular. Este valor surge de la relación entre los valores de colesterol total/colesterol HDL. Su valor de referencia debe ser menor a 5.

### **5.6 Procedimientos**

#### **5.6.1 Medición de Variables**

La estatura se determinó utilizando una cinta métrica con escala en centímetros (marca) con el sujeto sin calzado apoyando los talones a la pared. El peso se registro en una báscula (marca), con el individuo sin calzado. Con estos datos se determinó el IMC

Se estimó el grado de obesidad central a través de la medición del perímetro de la cintura, a nivel de la cicatriz umbilical, con una cinta métrica con escala en centímetros.

Posteriormente se les realizó un breve cuestionario con las siguientes variables, Edad, genero, lugar de origen, fecha de nacimiento, lengua nativa, ocupación y escolaridad, ancestría. Anexo1

También se realizaron el análisis de pruebas bioquímicas como, perfil lipídico, Glucosa, pruebas de función hepática (AST y ALT) e Índice Aterogénico, con la finalidad de describir los desordenes del metabolismo de los participantes del estudio.

## 5.6.2 Extracción de ADN

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante el uso de tubos vacutainer con EDTA como anticoagulante. El ADN genómico se aisló a partir de 2mL de sangre total mediante el Kit Qiagen.

### 5.6.2.1 Protocolo de extracción:

- 1.- Pipetear 20  $\mu$ L de proteasa (o Proteinasa K) en un tubo eppendorff de 1.5 ml.
- 2.- Añadir 200  $\mu$ L de sangre al eppendorff.
- 3.- Añadir 200  $\mu$ L de solución amortiguadora (SA) AL a la muestra. Agitar con vórtex 15 segundos.
- 4.- Incubar a 56°C por 10 minutos.
- 5.- Centrifugar brevemente para llevar el contenido total de la reacción al fondo del tubo.
- 6.- Añadir 200  $\mu$ L de EtOH (96-100%) a la muestra y agitar con vórtex por 15 segundos. Centrifugar brevemente.
- 7.- Transferir la muestra del paso 6 a una columna QIAmp Spin colocada en un tubo de 2ml. Centrifugar a 8.000 rpm durante 1 minuto, colocar la columna en un tubo de 2 ml y desechar el tubo con el filtrado.
- 8.- Añadir 500  $\mu$ L de SA AW1. Centrifugar a 8.000rpm por 1minuto, y colocar la columna en un tubo nuevo de 2 ml y desechar el tubo con el filtrado.
- 9.- Añadir 500  $\mu$ L de SA AW". Centrifugar a velocidad máxima (14,000 rpm) por 3 minutos.
- 10.- Colocar la columna en un tubo eppendorff nuevo de 1.5 ml y añadir 200 $\mu$ L de SA AE o agua destilada. Mantener a temperatura ambiente durante 1 minuto y centrifugar a 8,000 rpm por 1 minuto y guardar a temperatura de 4°C.

### 5.6.3 Electroforesis.

La integridad del ADN genómico se evaluó a través de electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio.

#### 5.6.3.1 Protocolo

- Pesar 0.700gr de agarosa y colocar en un matraz
- Agregar 75 mL de Buffer Tris--- (TAE) 1 x
- Calentar en un horno de microondas por un minuto y medio para deshacer los grumos de agarosa y dejarlo completamente disuelto, con apariencia transparente.
- Enfriar a temperatura ambiente (pero sin que solidifique) para introducirlo al cuarto de electroforesis y verterlo en un vaso de precipitado.
- Agregar 6  $\mu$ L de colorante de bromuro de etidio grado biología molecular a una concentración de 10mg/mL (Marca Promega®).
- Vaciar la agarosa en el contenedor de gel de la cámara de electroforesis y e insertar el peine para cuando solidifique el gel los pozos queden formados para depositar la muestra.
- Preparar muestras con: 3  $\mu$ L de muestra problema+ 2  $\mu$ L de buffer de carga + 2  $\mu$ L de colorante azul (que contiene azul de bromofenol, azul xilencianol y azul glicerol). Diluir al 1x poniendo 100  $\mu$ L azul y 1000  $\mu$ L de agua bidestilada.
- Cargar una muestra por cada pozo del gel
- Conectar la cámara a la fuente de alimentación con las siguientes condiciones: 95 Volts, 2 amperes y 45 minutos (Figura 9).
- Visualizar el gel en un transiluminador para observar los resultados
- Tomar la fotografía del gel.

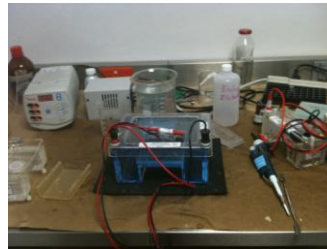


Figura 9. Cámara de Electroforesis, C.B.S. Scientific Co. Modelo MGU-502T made in USA, 250 Volts DC.

Los resultados de la electroforesis se muestran en la Figura 10.

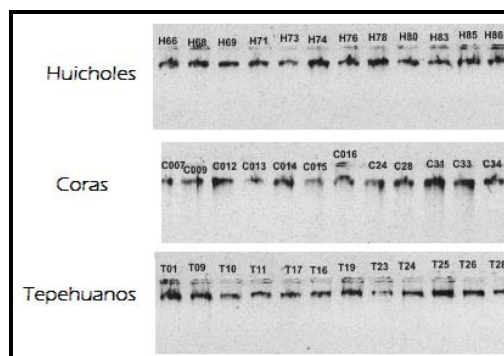


Figura 10. Gel Agarosa al 1% de ADN genómico de Huicholes, Coras y Tepehuanos.

#### 5.6.4 Espectrofotometría.

La concentración de ADN de las muestras se determinó a través de la lectura a 260nm y las muestras se consideraron óptimas (libres de contaminantes por proteínas) cuando la razón de los valores 260/280 fue superior a 1.8. Las mediciones se hicieron en un equipo Nanodrop (Figura 11), en el cual solo se usó una gota de la muestra en el pozo y el equipo registro la concentración en  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .



Figura 11. NanoDrop 2000/2000c

#### 5.6.4 PCR en tiempo real.

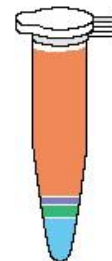
Para la determinación de las variantes alélicas del *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* y *CYP2C19\*4* se utilizó la técnica de PCR en tiempo real, en la cual se amplificaron fragmentos de ADN genómico del gen *CYP2C19*, usando sondas TaqMan específicas para cada fragmento.

Esta técnica es una variante de la PCR convencional que se basa en la detección y cuantificación simultánea de la fluorescencia emitida por los productos de PCR que se acumulan durante el proceso de amplificación. El equipo (figura 8) utiliza una cámara de video para monitorear múltiples reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) de forma simultánea a lo largo del termociclado. La cámara de video detecta la acumulación de ADN de doble cadena en cada PCR utilizando el aumento de la fluorescencia. Esta fluorescencia es transmitida por otro fragmento de ADN (sonda) complementario a una parte intermedia del ADN que queremos amplificar. Esta sonda lleva adherida una molécula fluorescente y otra molécula que inhibe esta fluorescencia (quencher), de tal forma que sólo cuando la sonda es desplazada de su sitio por la acción 5', 3' exonucleasa de la ADN polimerasa, la molécula fluorescente se libera de la acción del "quencher" y emite fluorescencia al ser iluminada con un láser. Los resultados obtenidos con este método indican la sensibilidad de la cinética para el análisis de PCR para cuantificar ADN, de forma selectiva y con un amplio rango. Este también proporciona un medio para determinar diferentes condiciones de reacción sobre la eficacia de la amplificación por lo que da una idea de los procesos fundamentales de PCR (Higuchi et al., 1993). El ADN que se está amplificando será directamente proporcional a la cuantificación de la fluorescencia emitida durante cada ciclo de PCR. Para conocer la cantidad total de ADN que se está amplificado se requiere realizar en paralelo una curva patrón en las mismas condiciones. En la tabla 9 se muestra el cocktail de la reacción con un volumen total 10 µL, utilizado para las muestras de Huicholes, Coras y Tepehuanos.



Tabla 8. Coctel para la reacción de PCR

| Componente                            | Volumen ( $\mu\text{L}$ ) por reacción |
|---------------------------------------|--|
| Master Mix (2X)                       | 5                                      |
| Sonda Taqman (20X)                    | 0.5                                    |
| Agua grado biología molecular         | 3.5                                    |
| Muestra ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) | 1                                      |
| <b>Volumen total</b>                  | <b>10</b>                              |



En la Tabla 10, se muestran las condiciones de PCR, la cual llevó a cabo de acuerdo con el programa de ciclos siguientes.

Tabla 9. Condiciones de PCR en tiempo real

| Condiciones       | Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) | Tiempo            |
|-------------------|------------------------------------|-------------------|
| Desnaturalización | 95                                 | 10 minutos        |
| Hibridación       | 95                                 | 15 seg cada ciclo |
| Extensión         | 60                                 | 1 min             |

} 40 ciclos

Las sondas TaqMan que se utilizaron son:

*CYP2C19*\*2: ensayo; C\_25986767\_70, rs4244285, Secuencia: TTCCCACTATCATTGATTATTTCCC[A/G]GGAACCCATAACAAATTACTIONTAAAA

Los fluoróforos fueron marcados con: FAM para el alelo G (Color azul) y VIC para el alelo A (Color rojo).

*CYP2C19*\*3: ensayo; C\_27861809\_10, rs4986893 Secuencia: ACATCAGGATTGTAAGCACCCCCTG[A/G]ATCCAGGTAAGGCCAAGTTTTTGC

Los fluoróforos fueron marcados: FAM para el alelo G (color azul) y VIC para el alelo A (color rojo).

CYP2C19\*4: ensayo; C\_30634136\_10, rs28399504 Secuencia:  
GTCTTAACAAGAGGAGAAGGCTTCA[A/G]TGGATCCTTTGTGGTCCTTGTGCT

Los fluoróforos fueron marcados: FAM para el alelo A (color azul) y VIC para el alelo G (color rojo)

Siendo FAM el alelo silvestre y VIC el alelo Mutado.

### **5.7 Aspectos Éticos**

Por el tipo de estudio se consideró que no existen riesgos mayores para los participantes. El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Hospital General de Durango. Anexo 2.

La integración de los grupos étnicos se realizó a través de invitación directa a la población adulta de las comunidades de Nayarit y Durango.

Las personas aceptaron participar a través de la firma de una carta de consentimiento informado, donde se les indicaron los objetivos del estudio. Se realizó historia clínica dirigida con determinación de medidas antropométricas, así como toma de muestra sanguínea en condiciones de ayuno. Se colectaron 8 mL de sangre total usando vacutainer con EDTA, para los análisis de pruebas Bioquímicas, los cuales se realizaron en el Instituto de Investigación Científica de la Universidad Juárez del Estado de Durango.

### **5.8 Análisis Estadístico.**

Las diferencias entre los grupos para las variables numéricas se estimaron con la prueba de ANOVA y para las variables cuantitativas con la prueba de  $\chi^2$ .

Se estimaron las frecuencias alélicas (Prueba de probabilidades exacta de Fisher), heterocigosidad y equilibrio de Hardy-Weinberg.

---

## **5.9 Recursos materiales**

Las técnicas de extracción y genotipificación se llevaron a cabo en las Instalaciones del Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Durango, el estudio cuenta con el apoyo del Fondo Sectorial en Salud 2009-01-113063.

## VI. RESULTADOS

### 6.1 Datos antropométricos de grupos Indígenas

Se analizaron 50 muestras de cada grupo: Huicholes de los cuales 31 (62%) Mujeres y 19 (38%) Hombres, de Coras 32 (64%) Mujeres y 18 (36%) Hombres y de Tepehuanos 30 (60%) Mujeres y 20 (40%) Hombres. En la Tabla 10 se muestran las características antropométricas de las tres poblaciones, destacando que la población más joven es la Tepehuana y que tanto la circunferencia de cintura como el IMC son significativamente mayores en los individuos Huicholes y Coras

**Tabla 10. Resultados de datos antropométricos de los 3 grupos estudiados.**

|                                | <u>Huichol</u> | <u>Cora</u>  | <u>Tepehuanos</u> | F    | P                        |
|--------------------------------|----------------|--------------|-------------------|------|--------------------------|
|                                | n= 50          | n= 50        | n= 50             |      |                          |
| <b>Edad (años)*</b>            | 44.5 (20 - 84) | 51 (18 - 86) | 37.5 (18 - 90)    | 18.0 | 0.0001 <sup>†, ††</sup>  |
| <b>Peso (Kg)</b>               | 58.9 ± 10.1    | 60.4 ± 14.7  | 55 ± 11           | 2.6  | 0.075                    |
| <b>Talla (m)</b>               | 1.54 ± 0.1     | 1.55 ± 0.1   | 1.58 ± 0.1        | 1.7  | 0.173                    |
| <b>Cintura (cm)</b>            | 92.5 ± 9.6     | 87 ± 12.7    | 79.3 ± 9.7        | 19.1 | 0.002 <sup>**†, ††</sup> |
| <b>IMC (Kg/cm<sup>2</sup>)</b> | 24.8 ± 5.4     | 24.6 ± 4.9   | 21.9 ± 3.9        | 5.6  | 0.004 <sup>†, ††</sup>   |

Datos expresados en media ± desviación estándar

\*Mediana (percentil 25, 75)

Anova post-hoc Bonferroni datos paramétricos; Kruskal-Wallis datos no paramétricos

\*\* Huicholes vs Coras

† Huicholes vs Tepehuanos

†† Tepehuanos vs Coras

## 6.2 Datos de pruebas bioquímicas de los tres grupos indígenas

De las pruebas bioquímicas realizadas en las poblaciones de estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas en creatinina, triglicéridos, pruebas de función hepática, lipoproteínas e Índice Aterogénico, como se muestra en la tabla 11.

**Tabla 11. Resultados de Pruebas Bioquímicas de los 3 grupos estudiados.**

|                              | <u>Huichol</u>     | <u>Cora</u>       | <u>Tepehuanos</u>  | F    | P   |
|------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------|---|
|                              | n= 50              | n= 50             | n= 50              |      |   |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>    | 0.7 (0.4 - 1.0)    | 0.7 ( 0.4 - 1.9)  | 0.7 ( 0.5 - 3.5)   | 1.9  | 0.35  |
| <b>Glucosa (mg/dL)*</b>      | 70 ± 23.7          | 84 ± 26.9         | 78 ±13.7           | 4.0  | 0.13  |
| <b>Colesterol (mg/dL)*</b>   | 170.12 ± 31.8      | 168 ± 38.2        | 153.7 ± 35.9       | 3.1  | 0.12  |
| <b>Trigliceridos (mg/dL)</b> | 143 (11 - 703)     | 156 (56 - 547)    | 91 ( 37 - 320)     | 17.7 | 0.0002 <sup>††</sup>                                |
| <b>AST (IU/L)</b>            | 35.9 (13.5 - 87.4) | 16.1 (2 - 75)     | 34 (20 - 150)      | 59.5 | <0.0001 <sup>**</sup> , <sup>††</sup>               |
| <b>ALT (IU/L)</b>            | 26 (1 - 89)        | 9.5 (1 - 44)      | 29 (6 - 97)        | 48.9 | <0.0001 <sup>**</sup> , <sup>††</sup>               |
| <b>LDL (mg/dL)</b>           | 83.5 (29 - 150)    | 85.4 (41 - 166)   | 68 (39 - 137)      | 19.4 | 0.0001 <sup>†</sup> , <sup>††</sup>                 |
| <b>HDL (mg/dL)</b>           | 42.9 (26.6 - 75.4) | 39 (16 - 70)      | 49.5 (31.2 - 91.8) | 27.9 | 0.0008 <sup>†</sup> , <sup>††</sup>                 |
| <b>VLDL (mg/dL)</b>          | 28.9 (12 - 141)    | 31 (11 - 109)     | 18.2 (7.4 - 64)    | 18.7 | 0.0001 <sup>†</sup> , <sup>††</sup>                 |
| <b>I. Aterogénico</b>        | 4.05 ( 2.3 - 6.5)  | 4.54 (1.9 - 11.2) | 2.9 (1.9 - 4.6)    | 35.9 | 0.0005 <sup>**</sup> , <sup>†</sup> , <sup>††</sup> |

Datos expresados en Mediana (percentil 25, 75)

\* Media ± desviación estándar

Anova post-hoc Bonferroni datos paramétricos; Kruskal-Wallis datos no paramétricos

<sup>\*\*</sup>Huicholes vs Coras

<sup>†</sup>Huicholes vs Tepehuanos

<sup>††</sup> Tepehuanos vs Coras

### 6.3 PCR en tiempo real

Se usó el equipo El StepOne™ PCR en tiempo real, el sistema es de 48 pozos versión 2.2 (Figura 12).



Figura 12. StepOne Real-Time PCR System by Applied biosystem

#### 6.3.1 Discriminación y curvas de la PCR en tiempo real.

En la figura 13, el eje de las “y” se encuentra el alelo G que es el silvestre (color azul) y en el eje de las “x” se encuentra el alelo A que es el mutado (color rojo), los datos se distribuyen a lo largo de la grafica de acuerdo a la concentración del alelo contenida. En el mutado como se tiene mayor componente del alelo A (color rojo) este se encuentra al final del eje de las “x” y donde se muestra que no hay presencia del Alelo G (color azul), para los heterocigotos estos se encuentran situados en el centro ya que contienen un alelo G y uno A (color verde) y el alelo G se encuentra localizado en la parte superior izquierda de la figura donde se encuentra mayormente el componente G (color azul) y los cuadros negros son los controles negativos los cuales no contienen muestra.

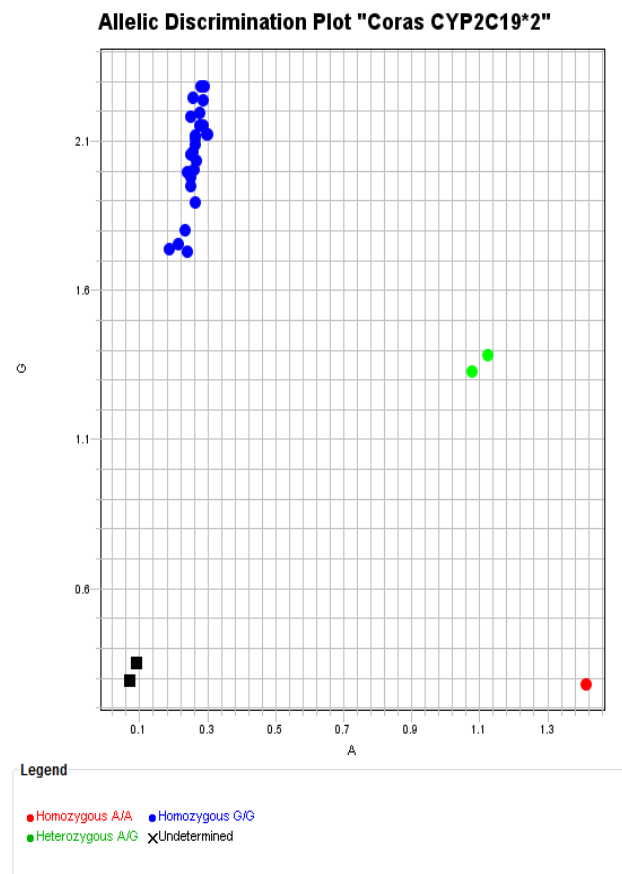


Figura 13. Discriminación alélica para el polimorfismo *CYP2C19\*2* en Coras, con los tres genotipos.

### 6.3.2 Curvas de amplificación.

En las curvas de amplificación se grafica; el incremento en la cantidad del producto (eje "y") con respecto al número de ciclos (eje "x") y la presencia de uno u otro fluoróforo para determinar Homocigotos silvestres o mutados o bien la coexistencia en los heterocigotos (Figura 14, 15 y 16).

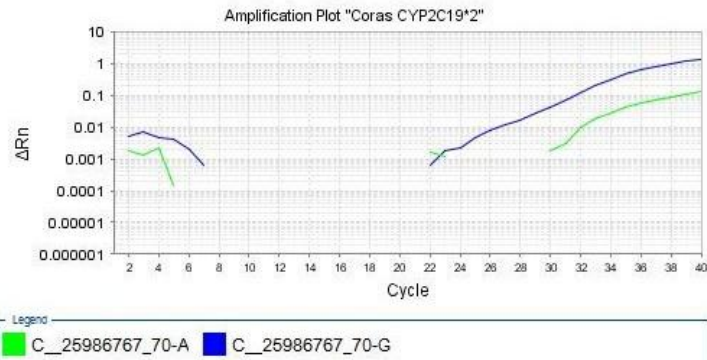


Figura 14. Curva de amplificación de un individuo Cora, se observa que el Fluoróforo FAM amplifica antes que el VIC dado así un genotipo Silvestre.

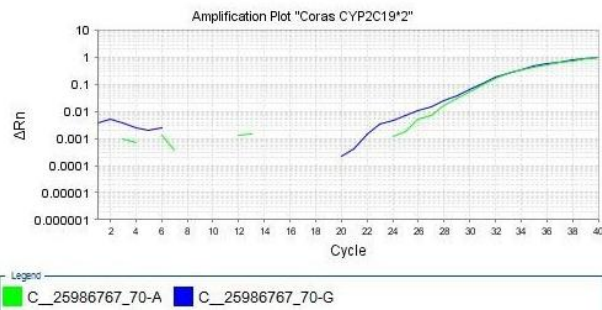


Figura 15. Curva de amplificación de un individuo Cora, donde se observan los dos fluoróforos amplificando juntos con lo que se obtiene un genotipo heterocigoto.

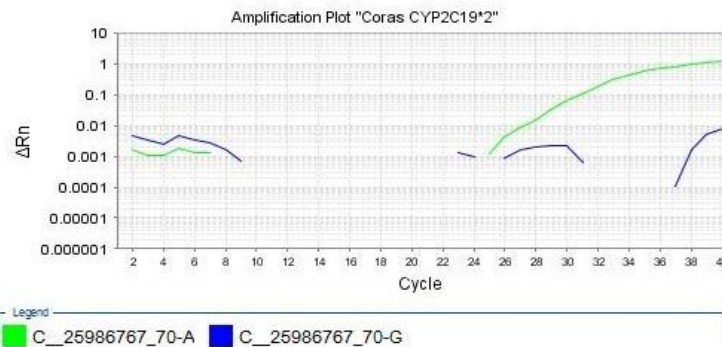


Figura 16. Curva de amplificación de un individuo Cora, donde se observa que el Fluoróforo que amplifica antes es el VIC lo cual da como resultado un genotipo homocigoto mutado.



## 6.4 Frecuencias Alélicas

El análisis de los tres diferentes polimorfismos solo reveló la presencia de *CYP2C19*\*2, ya que los alelos \*3 y \*4 no fueron encontrados en las poblaciones de estudio. (Tabla 12).

**Tabla 12. Frecuencias alélicas del polimorfismo del *CYP2C19*\*2 en Huicholes, Coras y Tepehuanos.**

| <i>CYP2C19</i> *2 | Frecuencia Alélica (%) |          |
|-------------------|------------------------|----------|
|                   | G                      | A        |
| Huichol           | 0.91 (91)              | 0.09 (9) |
| Cora              | 0.92 (92)              | 0.08 (8) |
| Tepehuano         | 0.9 (90)               | 0.1 (20) |

Analizando las frecuencias alélicas del *CYP2C19*\*2 con la prueba de Anova de una vía en los grupos estudiados no se encontró diferencia estadísticamente significativa siendo la p de 0.3679 con una F=2.

## 6.5 Frecuencias genotípicas

Posteriormente se realizó la prueba exacta de Fisher para determinar diferencias en los genotipos del *CYP2C19*\*2 obteniendo como resultados una  $X^2 = 3.15$ , grados de libertad = 4 y una  $p = 0.533$ , por lo tanto no hay diferencia estadísticamente significativa en los genotipos de los grupos étnicos estudiados (Tabla 13).

**Tabla 13. Prueba exacta de Fisher para determinar diferencias en los genotipos del *CYP2C19*\*2 en las poblaciones de estudio.**

| <i>CYP2C19</i> *2 | Frecuencia Genotípica n (%) |         |       |
|-------------------|-----------------------------|---------|-------|
|                   | G/G                         | G/A     | A/A   |
| Huichol           | 41 (82)                     | 9 (18)  | -     |
| Cora              | 43 (86)                     | 6 (12)  | 1 (2) |
| Tepehuano         | 40 (80)                     | 10 (20) | -     |

## **6.6 Equilibrio de Hardy- Weinberg (HW).**

Las poblaciones estudiadas se encontraron en equilibrio HW para el polimorfismo *CYP2C19*\*2. Una población es considerada en equilibrio cuando la  $p > 0.05$ . Con la fórmula del binomio cuadrado perfecto donde  $p$  = Frecuencia del alelo silvestre y  $q$  = frecuencia del alelo mutado (Anexo 4).

## VII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 7.1 Datos antropométricos y pruebas bioquímicas

Se observó que el grupo étnico de Tepehuanos son los más jóvenes, los que tienen menos obesidad, obesidad central y los que tienen perfil lipídico menos alterado en comparación con Huicholes y Coras.

Dado que la obesidad juega un papel importante en la alteración del perfil lipídico siendo el principal factor de riesgo la dieta y el sedentarismo, el cambio en los estilos de vida como dieta se ve en el incremento de consumo de grasas saturadas, carbohidratos y grasas poliinsaturadas (Rodríguez et al., 2009) lo que puede condicionar a la aparición de enfermedades destacando las más importantes como Diabetes Mellitus y cardiovasculares.

Por lo tanto las diferencias obtenidas en cuanto a la obesidad y la edad, puede ser debido a que el grupo étnico de Tepehuanos se encuentra en un área geográfica de difícil acceso, por lo tanto estos individuos caminan distancias largas en busca de alimento o bien lo siembran ellos mismos (Torres *et al.*, 2003), teniendo una alimentación menos cargada de grasas saturadas y ejercitándose, pero los grupos étnicos de Huicholes y Coras están localizadas a pie de carretera lo que facilita recibir ayuda de diferentes fuentes, con despensas con alto contenido en grasa y carbohidratos, haciendo a los individuos más sedentarios ya que no necesitan caminar para conseguir dicha ayuda (Rodríguez et al., 2009). En cuanto a la edad puede ser debido a que se incluyeron personas más jóvenes dentro del grupo de Tepehuanos.

## 7.2 Frecuencias Alélicas y Genotípicas

El polimorfismo *CYP2C19*\*2 es el que tiene mayor frecuencia en las poblaciones indígenas estudiadas (tabla 13). En la tabla 14 se muestran las frecuencias para el polimorfismo *CYP2C19*\*2 en poblaciones Hispánicas y en otras poblaciones (Tabla 15).

**Tabla 14. Frecuencia de las variantes alélicas del *CYP2C19*\*2 en población Hispana.**

| Grupo             | N   | <i>CYP2C19</i> |                  |
|-------------------|-----|----------------|------------------|
|                   |     | *2             | Referencia       |
| México-Americanos | 346 | 0.097          | Suarez y Llerena |
| Bolivianos        | 778 | 0.078          | 2007             |
| Huichol           | 50  | 0.09           | Este estudio     |
| Cora              | 50  | 0.08           | Este estudio     |
| Tepehuano         | 50  | 0.1            | Este estudio     |

**Tabla 15. Frecuencias alélicas del *CYP2C19*\*2 en diferentes poblaciones**

| Población reportada      | Frecuencia (%) Alelo *2 | Número de sujetos | Referencias                     |
|--------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------------|
| Huichol                  | 9%                      | 50                | En este estudio                 |
| Cora                     | 8%                      | 50                | En este estudio                 |
| Tepehuano                | 10%                     | 50                | En este estudio                 |
| Belgas                   | 9.1%                    | 121               | <u>Allabi et al, 2003</u>       |
| México- Americanos       | 9.7%                    | 346               | <u>Luo et al, 2006</u>          |
| Inuit (Esquimales)       | 12%                     | 90                | <u>Jurima-Romet et al, 1997</u> |
| Caucásicos               | 12.7%                   | 273               | <u>Luo et al, 2006</u>          |
| Caucásicos franceses     | 13%                     | 172               | <u>Ibeanu et al, 1998</u>       |
| Áfrico- Americanos       | 18.2%                   | 236               | <u>Luo et al, 2006</u>          |
| Indios nativos de Canadá | 19.1%                   | 115               | <u>Nowak et al, 1998</u>        |

---

|   |              |            |                                    |
|---|--------------|------------|------------------------------------|
| <b>Chinos Bai</b>   | <b>25.7%</b> | <b>202</b> | <b><u>Xiao et al, 1997</u></b>     |
| <b>Japoneses</b>  | <b>27.4%</b> | <b>217</b> | <b><u>Takakubo at el, 1996</u></b> |
| <b>Este Asiático (Chinos, Japoneses, Coreanos)</b>          | <b>28.9%</b> | <b>161</b> | <b><u>Luo et al, 2006</u></b>      |
| <b>Chinos</b>   | <b>29%</b>   | <b>69</b>  | <b><u>Nowak et al, 1998</u></b>    |
| <b>Sureste Asiático (Filipinos, Vietnamitas, Cambodian)</b> | <b>31.2%</b> | <b>80</b>  | <b><u>Luo et al, 2006</u></b>      |
| <b>Chinos de Han</b>  | <b>36.6%</b> | <b>101</b> | <b><u>Xiao et al, 1997</u></b>     |
| <b>Sepik, Papua Nueva Guinea</b>                            | <b>45%</b>   | <b>401</b> | <b><u>Masta et al, 2003</u></b>    |

---

La frecuencia de este polimorfismo más alta es encontrada en poblaciones Asiáticas (Chinos, Japoneses, Filipinos, Vietnamitas, Coreanos) y las poblaciones europeas (Caucásicos, Belgas y Franceses), Estados unidos de América (Canadá, México) tienen la frecuencia más baja de este polimorfismo (Tabla 16).

Debido que las regiones donde se encuentran estos pueblos indígenas (Huicholes, Coras y Tepehuanos), era lugar de refugio de quienes huían de la justicia virreinal (negros, mulatos, españoles e indígenas de otros territorios) (Jáuregui, 2004), por lo tanto se destaca que la mayor frecuencia de este polimorfismo se encuentra en personas europeas, lo que podría explicar la presencia de este polimorfismo en nuestras comunidades indígenas.

En las poblaciones indígenas analizadas en el presente estudio no se encontraron individuos con el alelo mutado del *CYP2C19\*3*. Estudios realizados en poblaciones hispanas muestran una frecuencia baja de este polimorfismo (Tabla 16); de igual forma diferentes poblaciones muestran una frecuencia alta en poblaciones asiáticas (Tabla 17).

Tabla 16. Frecuencia de las variantes alélicas del *CYP2C19*\*3 en población Hispana.

| Grupo             | N   | <i>CYP2C19</i> |                  |
|-------------------|-----|----------------|------------------|
|                   |     | *3             | Referencia       |
| México-Americanos | 346 | 0.001          | Suarez y Llerena |
| Bolivianos        | 778 | 0.001          | 2007             |
| Huichol           | 50  | -              | Este estudio     |
| Cora              | 50  | -              | Este estudio     |
| Tepehuano         | 50  | -              | Este estudio     |

Tabla 17. Frecuencia alélica del polimorfismo *CYP2C19*\*3 en diferentes poblaciones

| Población reportada                                | Frecuencia % Alelo *3 | Número de sujetos | Referencias                      |
|--|-----------------------|-------------------|----------------------------------|
| Belga  | 0%                    | 121               | Allabi <i>et al</i> , 2003       |
| Benín (África)                                     | 0%                    | 119               | Allabi <i>et al</i> , 2003       |
| Indios nativos de Canadá                           | 0%                    | 115               | Nowak <i>et al</i> , 1998        |
| Inuit (Esquimales)                                 | 0%                    | 90                | Jurima-Romet <i>et al</i> , 1997 |
| México -Americanos                                 | 0.1%                  | 346               | Luo <i>et al</i> , 2006          |
| Franceses Caucásicos                               | 0.3%                  | 172               | Ibeanu <i>et al</i> , 1998       |
| Africo-americanos                                  | 0.8%                  | 236               | Luo <i>et al</i> , 2006          |
| Caucásicos   | 0.9%                  | 273               | Luo <i>et al</i> , 2006          |
| Bai Chino  | 5.2%                  | 202               | Xiao <i>et al</i> , 1997         |
| Del Sudeste Asiático (Filipinas, Camboya, Vietnam) | 5.7%                  | 80                | Luo <i>et al</i> , 2006          |
| Chinos   | 7%                    | 69                | Nowak <i>et al</i> , 1998        |
| Han China  | 7.4%                  | 101               | Xiao <i>et al</i> , 1997         |
| Asia Oriental (chino, japonés, coreano)            | 9.6%                  | 161               | Luo <i>et al</i> , 2006          |
| Japoneses  | 10.8%                 | 217               | Takakubo <i>et al</i> , 1996     |
| Sepik, Papua Nueva Guinea                          | 16%                   | 401               | Masta <i>et al</i> , 2003        |

Este polimorfismo esta presente con mayor frecuencia en poblaciones Asiáticas, no así en poblaciones europeas y de América siendo en estas baja la presencia de este polimorfismo o bien nulas (Tabla 18).

El polimorfismo *CYP2C19\*4* no fue encontrado en ninguna de las tres poblaciones evaluadas en este estudio. Este hallazgo se relaciona con la baja frecuencia del mismo encontrada por Ferguson *et al.*, (1998) en población Francesa caucásica de 0.03 (3%) y en población de Brasil (0.3%) para este polimorfismo (Santos *et al.*, 2011). En población Judía Ashkenazi estudiada por Scott *et al.*, (2007) se encontró una frecuencia de 0.018.

### **7.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg**

Las poblaciones estudiadas mostraron equilibrio, esto pudiera ser debido a que hay poca migración de la población, según el INEGI 2005, los movimientos migratorios de los Tepehuanos de Durango y Coras son escasos, respecto a los movimientos migratorios de Huicholes pues se observa que, entre el año 2000 y el 2005, Jalisco perdió 882 Huicholes, en tanto que Nayarit ganó 599 y Zacatecas 192.

De lo anterior se pueden observar las siguientes asunciones propuestas por (Weinberg y Hardy)

- No hay Selección
- No hay migración
- Hay igual proporción de hombres y mujeres

Una observación importante del modelo HW es que, cuando una población está en desequilibrio, con solo una generación de apareamiento al azar se restituye el equilibrio genético; la población permanecerá en equilibrio o sin cambios mientras persistan las condiciones del equilibrio HW.

## 7.4 Importancia Clínica

En la tabla 18 se muestran los medicamentos que comúnmente usan los pueblos indígenas de este estudio.

**Tabla 18. Medicamentos usados en las poblaciones de estudio.**

| Grupo Indígena   | Medicamentos   |
|------------------|--|
| <b>Huichol</b>   | Captopril, aspirinas, paracetamol, carbamazepina, naproxeno, complejo B, ampicilina, trimetropin con sulfatametoxazol y omeprazol.   |
| <b>Cora</b>      | Paracetamol, ambroxol, ampicilina, calcio, complejo B, Ranitidina Captopril, furosemida, Amlodipina, hidralazina, peptobismol, aspirina, metformina, ácido fólico, neumelubina, naproxeno, miconazol |
| <b>Tepehuano</b> | Ibuprofeno, ácido fólico, aspirina, ranitidina, mejorales, alka-setser, omeprazol, paracetamol, ampicilina, terramicina, capropril.  |

Puede observarse que los Tepehuanos usan el omeprazol lo que es importante, pues de haber mutaciones en el gen *CYP2C19* encargado de biotransformar este fármaco se podría presentar toxicidad, efectos adversos o ausencia del efecto terapéutico.

Algunos de los eventos relacionados con este polimorfismo tienen gran importancia clínica, destacan entre ellos: enfermedades cardiovasculares, infarto al miocardio, accidente cerebro vascular y muerte. Los estudios realizados por Rubtsov (1997), en sujetos con antecedente de infarto al miocardio, mostraron que quienes recibían tratamiento con clopidogrel, presentaron casi el doble de probabilidades de sufrir un evento cardiovascular secundario, esto último por pérdida de los alelos con la función de metabolizar este medicamento es decir quienes presentan los polimorfismos *CYP2C19* \* 2, *CYP2C19* \*3, \*4 o *CYP2C19* \*5 tienen 3.58 veces más riesgo de eventos cardiovasculares que aquellos que no presentan ningún polimorfismo. Estos resultados sugieren que el tratamiento con clopidogrel es menos eficaz en individuos que son homocigotos para alelos *CYP2C19* que producen pérdida de la función.



En un estudio hecho por Dumon et al (2010), en población caucásica y afroamericana, tratada con ritonavir asociado a omeprazol, se observó un aumento en los niveles de omeprazol, asociados con el alelo de riesgo *CYP2C19\*2*. En un meta-análisis conducido por Sofi et al, (2010), se encontró que el polimorfismo *CYP2C19\*2* estaba asociado con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares y trombosis en pacientes con enfermedad arterial coronaria que recibieron clopidogrel; la población de estudio fue en su mayoría europeos.

## VIII. CONCLUSIONES

- Este estudio aporta información en cuanto al polimorfismo *CYP2C19\*2* ya que no existen referencias de estudios realizados en poblaciones indígenas de México.
- Nuestros resultados indican que no hay diferencia entre los grupos étnicos estudiados y las frecuencias de los alelos del *CYP2C19\*2*.
- La ausencia de los polimorfismos *CYP2C19\*3* y *\*4* en las poblaciones estudiadas podría ser el resultado de mutaciones o secuencias *de novo* ya que estas solo aparecen en las generaciones pero no son hereditarias.
- Estos datos genéticos podrían ser importantes para determinar las directrices en los tratamientos de medicamentos en estas poblaciones

## **IX. RECOMENDACIONES**

Para estudios relacionados con este polimorfismo, sería recomendable incrementar el tamaño de muestra y confirmar los resultados a través secuenciación automatizada.

## **X. SUGERENCIA PARA TRABAJOS FUTUROS**

Este estudio se complementará a través del estudio de la farmacocinética de algunos fármacos de prescripción frecuente con el objeto de establecer la asociación genotipo-fenotipo. Ello permitirá evaluar la respuesta terapéutica de los individuos de las poblaciones estudiadas para proporcionar tratamientos más eficaces y seguros.

## XI. Bibliografía

- Armijo JA (1983). Principios de farmacocinética clínica. En: Flórez J, Martínez Lage JM, eds. *Neurofarmacología fundamental y clínica*. Pamplona: EUNSA; 63-108.
- Allabi C., Luc G.J, Pierre D.J, Heusterspreute M, and Horsmans Y. (2003). Genetic polymorphisms of *CYP2C9* and *CYP2C19* in the Beninese and Belgian populations. *Br J Clin Pharmacol*. December; 56(6): 653–657. doi: 10.1046/j.1365-2125.2003.01937.x
- Bertilsson L, Lou YQ, Du YL, Liu Y, Kuang TY, Liao XM, Wang KY, Reviriego J, Iselius L y Sjöqvist F (1992). Pronounced differences between native Chinese and Swedish populations in the polymorphic hydroxylations of debrisoquinona and S-mephenytoin. *Clin Pharmacol Ther*: 51: 388-397.
- Bing Zhu, MD, PhD, Dong-Sheng Ou-Yang, MS, Xiao-Ping Chen, MS, Song-Lin Huang, BS, Zhi-Rong Tan, BS, Nan He, MS, and Hong-Ha0 Zhou, MD (2001). Assessment of cytochrome P450 activity by a five-drug cocktail approach, Copyright by the American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics. IO. I Oh7/mcp. I I98 I3.
- BOLETIN (2003). Polimorfismos genéticos y respuesta farmacológica I: Enzimas biotransformadoras. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago. *Servicio de Farmacología Clínica*. Vol. 1- N° 18, septiembre-octubre, 101-103.
- De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. (1994). Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)- mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol Pharmacol*; 46: 594-598.
- De Morais SMF, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. (1996). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin in humans. *J Biol Chem*; 269: 15419-15422.

- Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. Division of Clinical Pharmacology, Indiana University School of Medicine, Wishard Hospital, Indianapolis 46202, USA. *Clin Pharmacokinet.* ; 41(12):913-58.
- Edwards RJ, Adams DA, Watts PS, Davies DS, Boobies AR, (1998). Development of a comprehensive panel of antibodies against the major xenobiotic metabolizing forms of cytochrome P450 in humans. *Biochem Pharmacol*: 56: 377-387.
- Ferguson RJ, DeMorais, SM Benhamou S, Bouchardy, Blaisdel, Ibeaun G, et al. (1998). A new genetic defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*: 284: 356-361.
- Gardiner SJ, Begg EJ. (2006) Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. *Pharmacol Rev*; 58: 521-590.
- Goldstein JA. (2001). Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol*; 52 (4):349–355. [PubMed: 11678778]
- Goldstein JA, de Morais SMF. (1994). Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 285 – 99. Figure 1. 4 of 5 Traditional medicine to modern pharmacogenomics
- Goodman y Gilman, (2006). "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica". Ed. McGraw-Hill Interamericana.
- Hasler A.J, Estrabrook R, Murray M, Pikuleva I, Waterman M, Capdevila J, Holla V, Helving C, Falck R.J, Farrell G, Kaminsky S.L., Spivack D.S., Boitier E. y Beaune P. (1999). Human Cytochromes P450. *Molecular Aspects of medicine* 20, 1-137.

- Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R. (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y)*. Sep; 11(9):1026-30.
- Hodgson, E, Goldstein, J.A. (2001). Metabolism of toxicants: phase I reactions and pharmacogenetics. In: *Introduction to Biochemical Toxicology*. 2nd Ed. (Ed. Hodgson, E y Smart, R.C.) Wiley-Interscience.
- Ibeanu GC, Goldstein JA, Meyer U, Benhamou S, Bouchardy C, Dayer P, Ghanayem BI, Blaisdell J. (1998). Identification of new human CYP2C19 alleles (CYP2C19\*6 and CYP2C19\*2B) in a Caucasian poor metabolizer of mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. Sep;286(3):1490-5
- Imaoka S, Yamada T, Hiroi T, Hayashi K, Sakaki T, Yabusaki Y, Funse Y (1996). Multiple forms of human P450 expressed in *Saccharomyces cerevisiae*, systematic characterization and comparison with those of the rat. *Biochem Pharmacol*; 51: 1041-1050.
- INEGI, (2005). Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas / Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, "Perfil sociodemográfico de la población que habla lengua indígena", México, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- INEGI, (2010). Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas / Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, México, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
- INI (1999) Información básica sobre los pueblos indígenas en México. Instituto Nacional Indigenista. Disponible en [www.sedesol.gob.mx](http://www.sedesol.gob.mx)
- Jáuregui, J. (2004) / Coras. México: CDI: PNUD. 47 p.: ils., retrs., tabs. (Pueblos indígenas del México contemporáneo) ISBN 970-753-032-4.

- Jordi Salas-Salvadó, Miguel A. Rubio, Monserrat Barbany, Basilio Moreno y Grupo Colaborativo de la SEEDO. (2007). Para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. . *Med Clin (Barc)*; 128 (5): 184-196
- Jurima R.M, Goldstein JA, LeBelle M, Aubin RA, Foster BC, Walop W, Rode A. (1997). CYP2C19 genotyping and associated mephenytoin hydroxylation polymorphism in a Canadian Inuit population. *Aug*;6(4):329-39
- Kaneko, A.; Kaneko, O.; Taleo, G.; Bjorkman, A.; Kobayakawa, T. (1997). High frequencies of CYP2C19 mutations and poor metabolism of proguanil in Vanuatu. *Lancet* 349: 921-922.
- Kaneko A, Lum JK, Yaviong L, Takahashi N, Ishizaki T, Bertilsson L, Kobayakawa T, Björkman A. (1999). High and variable frequencies of CYP2C19 mutations: medical consequences of poor drug metabolism in Vanuatu and other Pacific islands. University School of Medicine, Japan. *Pharmacogenetics*. Oct;9(5):581-90.
- Klotz U, Schwab M, Treiber G. (2004). CYP2C19 polymorphism and proton pump inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 95 (1): 2–8.
- Lares A.I, Sosa M.M, Elizondo A.G, Flores P.C, Flores OP.J and Bradley A.F. (2005). Phenotypical Expression of CYP2D6 in Amerindians of Tepehuano Origin from Durango, Mexico. *CIIDIR IPN Durango. Proc. West. Pharmacol. Soc.* 48: 102-107 (2005)
- Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. (2002). Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*; 12 (3):251–263.
- López, M., Guerrero, J., Jung-Cook, H., & Alonso, M. (2005). CYP2D6 genotype and phenotype determination in a mexican meztizo population. *Eur J Clin Pharmacol Vol 61* , 749-754.

- Luo Huaí Rong, Aloumanis Vasileios, Lin Keh-Ming, Gurwitz David and Wan Yu-Jui Yvonne. (2004). Polymorphisms of CYP2C19 and CYP2D6 in Israeli Ethnic Groups. *Am. J. Pharmacogenomics*4 (6) 395-40.
- Luo HR, Poland RE, Lin KM, Wan YJ. (2006). Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther.* Jul; 80(1):33-40. Epub 2006 Jun 8
- Masta A, Lum JK, Tsukahara T, Hwaihwanje I, Kaneko A, Paniu MM, Sapuri M, Takahashi N, Ishizaki T, Kobayakawa T, Hombhanje FW. (2003). Analysis of Sepik populations of Papua New Guinea suggests an increase of CYP2C19 null allele frequencies during the colonization of Melanesia. *Pharmacogenetics.* Nov;13(11):697-700.
- Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS. (2009). Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*; 360(4):354–362.
- Miranda G.E., Ostrosky W.P (2004). Bases científicas de las respuestas idiosincráticas en la terapéutica. El papel del gen *CYP2D6*. Cd. Universitaria, México D.F.
- Nasu K, Kubota T, Ishizaki T. (1997). Genetic analysis CYP2C19 in Japanese population. *Pharmacogenetics*;7: 405-409:
- Navarrete L. F, (2008). Los pueblos indígenas de México / Federico Navarrete Linares – México: CDI. 141 p.: mapas, tabs., fots. – (Pueblos Indígenas del México Contemporáneo). Incluye bibliografía, ISBN 978-970-753-157-4
- NCBI (2010). Revisada en el 2010 para el gen CYP2C19 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>



- Nebert DW, González FJ (1987). P450 genes; structure, evolution, and regulation. *Annu Rev Biochem*: 56: 945-993
- Nebert DW, et al Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee, página web: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> fecha de revisión 223 Febrero 2010 la cual fue actualizada el 19 sep 2008.
- Neurath J / Huicholes. México: CDI: PNUD, (2003). 27 p.: maps., retrs., tabs. – (Pueblos indígenas del México contemporáneo) Incluye bibliografía ISBN 970-753-009-X.
- Nowak Mp, Sellers EM, Tyndale RF. (1998). Canadian Native Indians exhibit unique CYP2D6 and CYP2C19 mutant allele frecuencies. *Clin Pharmacol Ther*; 64: 378-383.
- Obach RS, Zhang QY, Dunbar D, Kaminsky LS. (2001). Metabolic characterization of the major human small intestinal cytochrome p450s. Pfizer Inc., Department of Drug Metabolism, Central Research Division, Groton, Connecticut, USA. *Drug Metab Dispos*. Mar;29(3):347-52.
- Ortiz de Montellano PR (ed) (1995) *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 2nd Ed., Plenum Press, New York.
- Reyes V, J. A. (2006). *Tepehuanes del sur / Jorge Antonio Reyes Valdez*. México: CDI. 40 p.: maps., retrs., tabs. – (Pueblos indígenas del México contemporáneo) ISBN 970-753-053-7.
- Rodríguez M.M., Guerrero R.F., Rascón P.R.A. (2009). Dietary factors related to the increase of cardiovascular risk factors in traditional Tepehuanos communities from México. A 10 year follow-up study. Mexican Social Security Institute, Biomedical Research Unit.
- Roh HK, Dahl ML, Tybring G, Yamada H, Cha YN, Bertilsson L. (1996). CYP2C19 genotype and phenotype determined by omeprazole in a Korean

population. Department of Medical Laboratory Sciences and Technology, Karolinska Institute, Huddinge Hospital, Sweden. *Pharmacogenetics*. Dec;6(6):547-51.

- Rowland M, Tozer TM. (1980). *Clinical pharmacokinetics: Concepts and applications*. Philadelphia: lea & Febiger.
- Santiago C, Bandrès F, Gomèz-Gallego F. (2002). Polimorfismos de Citocromo P450: papel como marcador Biológico. Laboratorio de Biopatología. Dpto de Toxicología y legislación sanitaria. Facultad de Medicina universidad Complutense de Madrid. Pp130-140.
- Sosa M.M, Elizondo A.G, Flores P.C, Flores P.J, Bradley A.F, Lares-A.I. (2006). *CYP2D6* Genotype and Phenotype in Amerindians of Tepehuano Origin and Mestizos of Durango, Mexico. *J Clin Pharmacol*. 46: 527-536.
- Santos CJL Paulo, Soares AG Renata, Santos BG Diogo, Nascimento M Raimundo, Coelho LLM George, Nicolau C José, Mill G José, Krieger E José, Pereira C Alexandre. (2011). *CYP2C19* and *ABCB1* gene polymorphisms are differently distributed according to ethnicity in the Brazilian general population. *BMC Medical Genetics* 12:13 <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/12/13>.
- Scott SA, Edelman L, Kornreich R, Erazo M, Desnick RJ. (2007). *CYP2C9*, *CYP2C19* and *CYP2D6* allele frequencies in the Ashkenazi Jewish population. *Pharmacogenomics*. Jul;8(7):721-30.
- Semenkovich CF. (2007). Disorders of lipid metabolism. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; chap 217.
- Shimada T., Yamazaki H. Mimura M, Unui Y, Guengerich FP (1994). Inter-individual 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. *J Pharmacol Exp Ther*; 270: 414-423

- Takakubo F, Kuwano A, Kondo I. (1996). Evidence that poor metabolizers of (S)-mephenytoin could be identified by haplotypes of CYP2C19 in Japanese. *Jun*;6(3):265-7
- Torres JL, Villoro R, Ramírez T, Zurita B, Hernández P, Lozano R, Franco F. (2003). La salud de la población indígena en México.
- Weber WW. (1997). Human drug-metabolizing enzyme variants. En: *Pharmacogenetics*. Motulsky AG, Borrow M Edts. Oxford University Pres;131-239.
- Weide V.J and Steijns W. S.L (1999). Cytochrome P450 enzyme system: genetic polymorphisms and impact on clinical pharmacology. Department of Clinical Chemistry, Psychiatric Hospital Veldwijk. 36: 722-729.
- Wislocki PG, Miwa GT, Lu AYH (1980) In: *Enzymatic Basis of Detoxication* (Jakoby WB. Ed) Vol 1, pp 135-182, academic Press, New York
- Xiao ZS, Goldstein JA, Xie HG, Blaisdell J, Wang W, Jiang CH, Yan FX, He N, Huang SL, Xu ZH, Zhou HH. (1997). Differences in the incidence of the CYP2C19 polymorphism affecting the S-mephenytoin phenotype in Chinese Han and Bai populations and identification of a new rare CYP2C19 mutant allele. *J Pharmacol Exp Ther.* Apr; 281 (1):604-9.

## **xii. Agradecimientos**

Agradezco a la Institución en la que realice mis estudios de Maestría el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional.

A mi asesor Dr. Carlos Galaviz H. Por el apoyo, la asesoría, por su comprensión y por su amistad.

Al Dr. Ismael Lares Assef por su trato amable por confiar en mí, por los consejos y la ayuda que me dio a lo largo de mis estudios.

A la Dra. Martha Sosa Macías por su apoyo, por haberme permitido ser parte de este proyecto por brindarme su confianza y por tenerme paciencia cuando me explicaba.

Al Dr. Fernando Guerrero y Martha Rodríguez por apoyarme en la parte estadística, por escucharme y gracias por sus valiosos consejos.

Dr. Gerardo, gracias por haber participado como parte de mi comité revisor y por enseñarme los fundamentos de la Metodología.

Dr. Isaías Chaires Hernández por ser parte de mi comité de revisión, por enseñarme y tenerme paciencia en la clase de Estadística aplicada.

A mis compañeros por hacer más placentera la estadía en la maestría.

Pero sobre todo a aquellos que no confiaron en mis capacidades por que me daban aliento para seguir adelante.

**XIII. ANEXOS**

## ANEXO 1

**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL****CIIDIR - Unidad Durango****HOJA DE RECOLECCION DE DATOS**

TÍTULO DEL PROYECTO: “Polimorfismos del citocromo P450 en Indígenas del noroeste de México”

**1. Identificación**

Nombre: \_\_\_\_\_ No. folio \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Fecha del estudio: \_\_\_\_\_

Lugar de origen: \_\_\_\_\_ Lugar de residencia: \_\_\_\_\_

Tiempo de residir: \_\_\_\_\_ Lengua nativa: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_

**2. Evaluación Nutricional**

Peso (kg): \_\_\_\_\_ Talla (m): \_\_\_\_\_  
cintura \_\_\_\_\_

**Relación Peso/Talla:** \_\_\_\_\_

Pruebas de función renal:

Creatinina: \_\_\_\_\_ Urea: \_\_\_\_\_

Pruebas de función hepática:

TGO: \_\_\_\_\_ TGP: \_\_\_\_\_

Prueba de Genotipificación

Genotipo: \_\_\_\_\_ RFLP: \_\_\_\_\_

**Anexo 2. Acta de aprobación del proyecto por el comité de ética.**



HOSPITAL  
GENERAL  
DE  
DURANGO

Secretaría  
de Salud



**Durango**  
RAZÓN DE NUESTRO ESFUERZO

"2007: Año de la Familia y sus Valores"

HOSPITAL GENERAL DE DURANGO  
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
OFICIO No.

**ACTA DE APROBACION**

Durango, Dgo., 14 de Noviembre de 2007

**DRA. MARTHA SOSA MACIAS**  
Investigador Principal  
PRESENTE.

Por este conducto, informamos a usted que El Comité de Investigación del Hospital General de Durango, habiendo revisado y analizado se decidió **aprobar el Protocolo de Investigación intitolado:**

**"Polimorfismos genéticos del CYP2C9/19 y CYP3A4 en población indígena de México"**

Así como, estamos de acuerdo en que sea usted el Investigador Principal de dicho trabajo, el cual deberá ser desarrollado, bajo las normas internacionales de ética y buena práctica clínica en este Hospital.

ATENTAMENTE

EL COMITÉ DE INVESTIGACION



**DR. MIGUEL CASARES RAMIREZ**  
Presidente

MCR\LARC\m



SERVICIOS DE SALUD  
DE DURANGO  
HOSPITAL GENERAL  
DURANGO



**DR. LUIS ANGEL RUANO CALDERON.**  
Secretario

Calle 5 de Febrero y Antonio Norman Fuentes S/N / C.P. 34000  
Durango, Dgo. / Tels. (618) 813 00 11, 811 94 11

## Anexo 3. Equilibrio de Hardy-Weinberg

### 6.9.1 Huicholes:

$$\text{frec. Alélica} = (0 \cdot 2) / (50 \cdot 2) = 0.09$$

$$p^2 + 2pq + q^2$$

$$p^2 = (0.91)^2 \times 50$$

$$2pq = 2(0.09 \cdot 0.91) \times 50$$

$$q^2 = (0.09)^2 \times 50$$

|    | Obs | Esp   |
|----|-----|-------|
| HW | 41  | 41.4  |
| HT | 9   | 8.19  |
| HM | 0   | 0.405 |

$$X^2 = (\text{Obs} - \text{Esp})^2 / \text{Esp}$$

$$X^2 = \frac{(41 - 41.4)^2}{41.4} + \frac{(9 - 8.19)^2}{8.19} + \frac{(0 - 0.405)^2}{0.405}$$

$$X^2 = 0.488$$

$$p = 0.21215$$

### 6.9.2 Coras:

$$\text{frec. Alélica} = (1 \cdot 2) / (50 \cdot 2) = 0.08$$

$$p^2 + 2pq + q^2$$

$$p^2 = (0.92)^2 \times 50$$

$$2pq = 2(0.08 \cdot 0.92) \times 50$$

$$q^2 = (0.08)^2 \times 50$$

|    | Obs | Esp  |
|----|-----|------|
| HW | 43  | 42.3 |
| HT | 6   | 7.35 |
| HM | 1   | 0.3  |

$$X^2 = (\text{Obs} - \text{Esp})^2 / \text{Esp}$$

$$X^2 = \frac{(43 - 42.3)^2}{42.3} + \frac{(6 - 7.35)^2}{7.35} + \frac{(1 - 0.3)^2}{0.3}$$

$$X^2 = 1.9$$

$$p = 0.61232$$

### 6.9.3 Tepehuanos

$$\text{Frec. Alélica} = (HM \cdot 2 + HT) / (N \cdot 2) = (0 \cdot 2 + 10) / (50 \cdot 2) = 0.1$$

$$\text{Equilibrio HW} = p^2 + 2pq + q^2$$

$$p = (0.9)^2 = 0.81 \times 50$$

$$2pq = 2(0.9 \cdot 0.1) = 0.18 \times 50$$

$$q = (0.1)^2 = 0.01 \times 50$$

|    | Obs | Esp  |
|----|-----|------|
| HW | 40  | 40.5 |
| HT | 10  | 9    |
| HM | 0   | 0.5  |

$$X^2 = (\text{Obs} - \text{Esp})^2 / \text{Esp}$$

$$X^2 = \frac{(40 - 40.5)^2}{40.5} + \frac{(10 - 9)^2}{9} + \frac{(0 - 0.5)^2}{0.5}$$

$$X^2 = 0.61$$

$$p = 0.2623$$