



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN GENES (*NQ01*, *GCLM*,
GSTP1, *GSTT1* Y *GSTMI*) DE RESPUESTA A ESTRÉS
OXIDATIVO EN POBLACIONES AMERINDIAS DE MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

OSCAR DANIEL ROSILLO SALAZAR



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. ANGÉLICA GRACIELA MARTÍNEZ
HERNÁNDEZ**

CIUDAD UNIVERSITARIA, D.F. 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno
Apellido paterno
Apellido materno
Nombre(s)
Teléfono
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Carrera
Número de Cuenta

2. Datos del tutor
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

3. Datos del sinodal 1
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

4. Datos del sinodal 2
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

5. Datos del sinodal 3
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

6. Datos del sinodal 4
Grado
Nombre(s)
Apellido paterno
Apellido materno

7. Datos del trabajo escrito
Título

Número de páginas
Año

1. Datos del alumno
Rosillo
Salazar
Oscar Daniel
25 96 40 27
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307143691

2. Datos del tutor
Dra
Angélica Graciela
Martínez
Hernández

3. Datos del sinodal 1
Dra
Sara
Frías
Vázquez

4. Datos del sinodal 2
Dra
Lorena Sofía
Orozco
Orozco

5. Datos del sinodal 3
Dr
Emilio Joaquín
Córdova
Alarcón

6. Datos del sinodal 5
Dr
Federico
Centeno
Cruz

7. Datos del trabajo escrito
Análisis de polimorfismos en genes (NQO1, GCLM, GSTP1, GSTT1 y GSTM1) de respuesta a estrés oxidativo en poblaciones amerindias de México
60 p.
2014

Dedicatoria

A mis padres que con su esfuerzo y dedicación me han apoyado en todo momento para cumplir mis metas y hacer realidad mis sueños.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

A mi asesora de tesis la Dra. Angélica Graciela Martínez Hernández, por la orientación y ayuda que me brindó para la realización de este trabajo, por su interés en mi aprendizaje y por ser la guía de mis primeros pasos en esta incursión en la ciencia.

A la Dra. Lorena Sofía Orozco Orozco, por sus buenos consejos y permitirme crecer académicamente en su laboratorio.

Al Dr. Emilio Joaquín Córdova Alarcón, por su apoyo y consejos de gran utilidad.

Al M en C Miguel Ángel Cid Soto, por ser un gran compañero y por brindarme ayuda en la realización de gráficos.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas, porque sin la participación este proyecto no se hubiera llevado a cabo.

Al Instituto Nacional de Medicina Genómica.

A las personas de las comunidades indígenas que de manera voluntaria proporcionaron las muestras biológicas para su análisis, a quienes participaron en su obtención, y a las autoridades e instituciones que otorgaron su consentimiento y apoyo en la recolección de muestras.

Al Programa de Becas de Inicio de Investigación (PROBEI) de la Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad (CCINSHAE), por su apoyo económico que me permitió conseguir mis objetivos de este proyecto.

Agradecimientos y menciones personales

A mi hermana que ha sido una gran amiga, confidente y un ejemplo.

A mi familia por su cariño y porque siempre me han recordado que con empeño cualquier meta puede ser alcanzada.

A mis amigos que me brindan su confianza y con los que comparto buenos y malos momentos.

A los estudiantes del Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas (INMEGEN), por generar un entorno agradable, por sus consejos y ánimos y porque somos como un gran grupo de buenos compañeros y amigos.

Y a todas aquellas personas que contribuyeron de distintas maneras para que pudiera llegar hasta esta gran etapa en mi vida.

ÍNDICE

Dedicatoria.....	3
Agradecimientos.....	4
Agradecimientos y menciones personales.....	5
Resumen.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Estrés oxidativo y la ruta Nrf2-Keap1.....	9
1.2. Polimorfismos funcionales en genes blanco de Nrf2.....	11
1.3. Composición genética de las poblaciones mexicanas.....	16
2. JUSTIFICACIÓN.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo general.....	22
3.2. Objetivos particulares.....	22
4. MÉTODO.....	23
4.1. Población de estudio.....	23
4.2. Obtención de muestras y extracción de DNA.....	23
4.3. Discriminación alélica.....	24
4.4. PCR Multiplex.....	25
4.5. Mapas de distribución geográfica.....	26
4.6. Análisis estadísticos.....	26
5. RESULTADOS.....	28
5.1. Poblaciones amerindias.....	28
5.2. <i>NQO1</i> C609T.....	34
5.3. <i>GCLM</i> -588C/T.....	39
5.4. <i>GSTP1</i> A1404G.....	41
5.5. <i>GSTT1</i> y <i>GSTM1</i>	43
6. DISCUSIÓN.....	48
7. CONCLUSIONES.....	55
BIBLIOGRAFÍA.....	56

Resumen

El estrés oxidativo provocado por el aumento y la acumulación de radicales libres, contribuye al desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas. Para contrarrestar sus efectos, la célula dispone de agentes antioxidantes que participan en el control homeostático. Diversos polimorfismos funcionales en genes con actividad antioxidante han sido asociados a desórdenes metabólicos, cardiovasculares, pulmonares, neuronales y cáncer en poblaciones de distintas regiones geográficas. Debido a esto, es necesario conocer las frecuencias alélicas y genotípicas de estas variantes en las poblaciones mexicanas.

En este trabajo se analizaron las frecuencias de los polimórficos en los genes antioxidantes *NQO1* C609T, *GCLM* -588C/T, *GSTP1* A1404G y la frecuencia de los genotipos nulos de los genes *GSTT1* y *GSTM1* en 1469 individuos voluntarios pertenecientes a 21 poblaciones amerindias de México y una de Guatemala. La frecuencia de alelos y genotipos de riesgo no mostró un patrón de específico de distribución en las distintas regiones indígenas. Para los polimorfismos en *NQO1*, *GCLM* y *GSTP1*, todas las poblaciones se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, con excepción de las poblaciones náhuatl y tarahumara para *GCLM* -588C/T.

Se observó para estos SNPs que los pueblos amerindios presentan frecuencias de los alelos de riesgo mayores respecto a la población africana, caucásica y asiática. En el caso de los genotipos nulos de *GSTM1* y *GSTT1*, se presentaron en menor porcentaje respecto a asiáticos y caucásicos. Por lo que conocer las frecuencias de estos polimorfismos nos permite sentar las bases para realizar estudios de asociación.

En conclusión, en los pueblos indígenas encontramos diferencias, incluso dentro de las agrupaciones de las mismas familias lingüísticas, lo que concuerda con una heterogeneidad genética poblacional dada por aspectos culturales, sociales, geográficos e históricos forman parte de su identidad.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Estrés oxidativo y la ruta Nrf2-Keap1

El estrés oxidativo (EO) se define como un desequilibrio celular provocado por el aumento y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO) respecto a la capacidad antioxidante. El EO provoca alteraciones en la estructura y función de diversas moléculas, tales como, el ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés), proteínas y lípidos, causando el deterioro progresivo de órganos y sistemas; y ha sido relacionado con múltiples enfermedades crónico-degenerativas (Cencioni *et al.*, 2013). Las células y tejidos se pueden encontrar en EO a causa de un nivel reducido de moléculas antioxidantes, exposición a toxinas y la activación de enzimas que producen ERO. Para contrarrestar los efectos del EO, la célula dispone de agentes antioxidantes que contribuyen al control homeostático y el buen funcionamiento celular (De Tursi-Ríspoli *et al.* 2013).

Una de las vías celulares más importantes de respuesta a la presencia de EO, es la ruta llamada “Nrf2-Keap1” (Figura 1.1). En condiciones basales, el factor de transcripción Nrf2 (del inglés, *nuclear factor erythroid 2-related factor*) se encuentra inhibido en el citoplasma por la proteína Keap1 (del inglés, *Kelch-like ECH-associated protein 1*). Keap1 actúa como sensor de EO, al funcionar como un adaptador entre Nrf2 y el complejo ubiquitín ligasa Cul2-Rbx1 que produce la ubiquitinación de Nrf2 y su constantemente degradación a través de proteosomas 26s (Niture *et al.*, 2010). Cuando la célula se encuentra en EO, ocurre la oxidación de los grupos tiol de las cisteínas en el dominio *IVR* de Keap1, provocando la

liberación y la posterior translocación de Nrf2 al núcleo, donde forma heterodímeros con las proteínas small Maf (del inglés, *muscle aponeurotic fibrosarcoma*). El complejo “Nrf2-small Maf” es capaz de producir la activación transcripcional de cientos de genes involucrados en la protección celular contra el daño provocado por el EO, al poseer gran especificidad para el reconocimiento de secuencias llamadas elementos de respuesta antioxidante (ARE; del inglés, *antioxidant response elements*) localizadas en la región promotora de los genes blanco de esta ruta (Hirotzu *et al.* 2012).

Los genes regulados por la ruta Nrf2-Keap1 codifican para enzimas con diversas funciones celulares en respuesta al EO, entre ellas se encuentran las que presentan actividad Glutación-S-Transferasa (GSTs) cuya tarea está implicada en la antioxidación y la desintoxicación, las que participan en el metabolismo del glutatión (p. ej. Glutamato-Cisteína Ligasa) y de reducción de compuestos electrofílicos como es el caso de las NAD(P)H: quinona oxidorreductasas. Además, esta vía también regula genes implicados en la respuesta anti-inflamatoria, el reconocimiento del daño al DNA y la actividad proteosomal (Lau *et al.*, 2008).

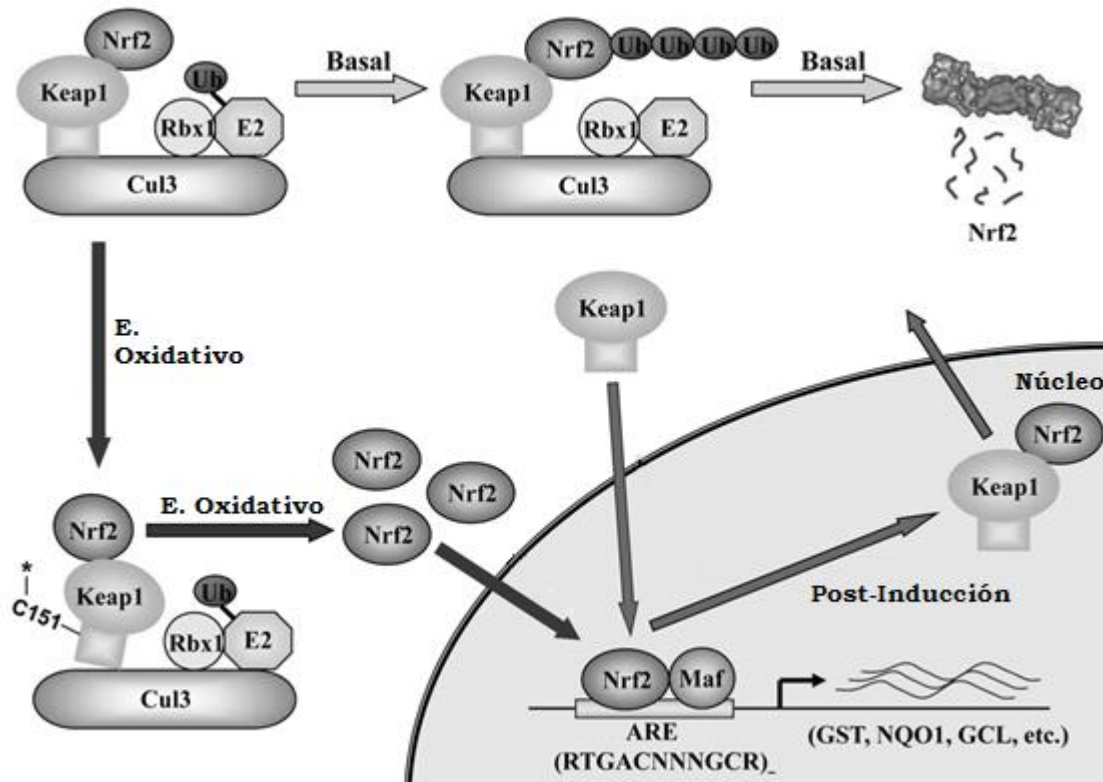


Figura 1.1. Regulación de NRF2 por Keap1.

Traducido al español de Lau *et al.*, 2008. *Pharmacol Res*, 58 (5-6):262-270.

1.2. Polimorfismos funcionales en genes blanco de Nrf2

Diversos estudios han demostrado la presencia de polimorfismos funcionales en algunos de los genes blanco de Nrf2, con la consecuente alteración de la función de las proteínas codificadas (Königsberg-Fainstein, 2007). Un polimorfismo se refiere a una variación en la secuencia de DNA encontrada en al menos el 1% de una población sana (Cargill *et al.*, 1999). Una de las variantes genéticas que ocurren con mayor frecuencia, son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, del inglés *single nucleotide polymorphisms*); porque prácticamente se localizan en cualquier parte del genoma. Los SNPs implican la sustitución de un nucleótido en

la secuencia de DNA, debido a esto, algunos tienen consecuencias funcionales como alterar los niveles de expresión y traducción, el corte y empalme, y la estabilidad del ácido ribonucleico (RNA) mensajero; además de la función de las proteínas (Ramírez-Bello *et al.*, 2013).

En la literatura se ha descrito el papel funcional de varios polimorfismos en genes de respuesta a EO. Entre los mejores estudiados se encuentra el SNP *rs1800566* en el gen *NQO1* localizado en la región cromosómica 16q22.1, que codifica a la enzima Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NAD(P)H): Quinona Oxidorreductasa 1. Se trata de un SNP en el exón 6 del gen, el cual implica la transición de una citosina (C) por una timina (T) en la posición 609 (C609T), resultando en un cambio de un residuo de prolina por uno de serina en el sitio 187 de la proteína (Pro187Ser) (Krajcinovic *et al.*, 2002; Guo *et al.*, 2012). Esto conlleva a una disminución en su actividad, que en estado silvestre consiste en catalizar la reducción de dos electrones en las quinonas, promoviendo la formación de especies químicas menos tóxicas, tales como las hidroquinonas; y con ello protege a la célula del daño oxidativo (Yanling *et al.*, 2013). *NQO1* se expresa en una gran variedad de tejidos, especialmente en células epiteliales y endoteliales, se encuentra sobreexpresado en diferentes tumores. Además, tiene un papel importante en la bioactivación de agentes antitumorales de daño al DNA (Winski *et al.*, 2002).

Diversos estudios han mostrado que en presencia del alelo de riesgo T, *NQO1* tiene sólo del 2% al 4% de la actividad enzimática respecto al alelo C ancestral y

se ha observado que las células con el genotipo T/T producen RNA mensajero, pero no presentan actividad, porque la proteína es rápidamente degradada por el proteosoma. La funcionalidad de esta enzima está reducida en individuos heterocigotos (C/T) y es completamente nula en homocigotos (T/T) (Yanling *et al.*, 2013; Dunna *et al.*, 2011). Además, el alelo de riesgo T se ha visto asociado a diversos tipos de cáncer, enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Zhu *et al.*, 2013; Zhu y Li, 2011).

También se ha reportado la funcionalidad de SNPs en genes blanco de Nrf2 relacionados en la síntesis del glutatión (GSH). El GSH es una molécula nucleófila y reductora que reacciona con compuestos electrofílicos y ERO, además, se le considera una de las defensas celulares más eficientes en la detoxificación de sustancias químicas y xenobióticos. En la célula, la enzima Glutamato-Cisteína Ligasa (GCL) participa en la síntesis de Gamma-(L)-glutamil-(L)-cisteína, un precursor del GSH (Pompella *et al.*, 2003). El gen *GCLM* codifica para la subunidad modificadora de la GCL y presenta un SNP (*rs41303970*) funcional en la región promotora. Este polimorfismo conocido como -588C/T implica un cambio de una C por una T ubicada 588 pares de bases anteriores al sitio de inicio de la transcripción (Siedlinski *et al.*, 2008); la modificación conlleva a la inhibición de la expresión de *GCLM* inducido por EO. El alelo de riesgo T de este gen se ha asociado con niveles bajos de GSH en el plasma sanguíneo y a diversas enfermedades tales como, esquizofrenia e infarto al miocardio (Nakamura *et al.*, 2003; Katakami *et al.*, 2009). *GCLM* se localiza en la región cromosómica 1p22, consta de 7 exones y tiene un tamaño de 22.4 kb (Chappell *et al.*, 2008; Hanzawa

et al., 2011). A pesar de la importancia de este SNP, no se han realizado estudios de que indiquen su frecuencia o asociaciones con problemas de salud, más que en pocas poblaciones del mundo, por lo que analizarlo en las poblaciones mexicanas sería de gran importancia.

Otras enzimas cruciales en la desintoxicación celular son las pertenecientes a la familia de las Glutación-S-Transferasas (GSTs), las cuales están involucradas en el metabolismo de un amplio rango de compuestos electrofílicos y en la conjugación de ERO con el GSH. Éstas se dividen en enzimas citosólicas (cGST alfa (A, α), mu (M, μ), Pi (pi, π), omega (ω), zeta (T, θ), delta (δ), sigma (σ), dseta (ζ)), mitocondriales (mGST α , μ , π y k) y microsomales de unión a la membrana (MGST). Cada miembro de la familia tiene múltiples isoenzimas con solapamiento en la especificidad por el sustrato (Raza, 2011).

Diversos estudios han reportado la existencia de variantes genéticas que afectan la capacidad de detoxificación de las GSTs y contribuyen a la activación del proceso inflamatorio (Hayes y Strange, 2006). Como es el caso del gen de la Glutación-S-transferasa Pi 1 (*GSTP1*) que se localiza en la región cromosómica 11q13, con un tamaño de 3,060 pb y constituido por 7 exones y 6 intrones. Este gen presenta un SNP (*rs1695*) localizado en el exón 5, el cual implica la sustitución de una adenina por una guanina en la posición 1404 de la región codificante (A1404G), originando un cambio de una isoleucina por una valina en la posición 105 de la proteína (Ile105Val). Esto genera modificaciones en el sitio de unión con el sustrato alterando su afinidad y hace a la proteína poco termoestable; por lo que su actividad enzimática se ve reducida. La variante alélica de riesgo G

se ha visto asociada con patologías como disfunción endotelial y diversos tipos de cáncer (Johansson *et al.*, 1998; Brackett *et al.*, 2012; Wei *et al.* 2013).

Además de los polimorfismos de tipo SNP en la familia de las GSTs encontramos otras variantes en dos genes que codifican para la Glutación-S-transferasa Mu 1 y Zeta 1 (*GSTM1* y *GSTT1*, respectivamente) conocidas como polimorfismos nulos. El polimorfismo nulo se refiere a la ausencia de un gen en una región cromosómica, presente en un porcentaje mayor o igual al 1% de la población. Cuando en un individuo el gen está ausente en ambos cromosomas homólogos, se dice que presenta un genotipo nulo; por el contrario, los individuos con al menos una copia del gen presentan un genotipo silvestre. La pérdida de *GSTT1* y *GSTM1* se atribuye a la recombinación homóloga entre secuencias altamente parecidas, las cuales de manera independiente, flanquean a ambas regiones genéticas (Parl, 2005; Lima de Figueiredo *et al.*, 2013).

La importancia de estas variantes se atribuye a que la presencia del genotipo nulo conlleva a la falta de actividad enzimática de las GSTs. El gen *GSTM1* (Glutación-S-transferasa Mu 1) localizado en la región 1p13.3, tiene una longitud de 10,411 pb y consta de 7 exones. Su función es facilitar la excreción de un amplio rango de carcinógenos, ERO y agentes quimioterapéuticos. Por otro lado, el gen *GSTT1* (Glutación-S-transferasa Zeta 1) localizado en la región 22q11.23, con un tamaño de 8,150 pb y conformado por 5 exones; se ha visto implicado en la detoxificación de carcinógenos de origen exógeno, incluidos el 1,3-butadieno y el óxido de etileno en el humo del tabaco y del ambiente. Se ha reportado que las frecuencias del genotipo nulo de ambos genes varían entre poblaciones de distintas regiones

geográficas. Además, estas variantes nulas se han encontrado asociadas a diversos tipos de cáncer, fibrosis quística y enfermedades cardiovasculares (Rebbeck, 1997; Landi, 2000; Sharma *et al.*, 2012; Marson *et al.* 2013).

1.3. Composición genética de las poblaciones mexicanas

Los diversos polimorfismos genéticos funcionales que modifican la respuesta contra el EO se encuentran en la mayoría de las poblaciones del mundo, pero sus frecuencias alélicas y genotípicas varían según el grupo étnico y la región geográfica. La variación genética entre las poblaciones se da a través del tiempo mediante procesos evolutivos, tales como la selección natural, deriva génica y mutación, y factores como la endogamia, migración y apareamiento selectivo. De no ocurrir estos eventos, las frecuencias en las poblaciones se mantendrían constantes de generación en generación, de acuerdo con los principios establecidos en el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) (Nussbaum *et al.* 2008). Conocer las frecuencias de las variantes genéticas que afectan la capacidad celular antioxidante en poblaciones de distintas regiones geográficas es importante debido al papel que tienen en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas, principalmente en grupos genéticamente heterogéneos como es el caso de la población mexicana.

La población mexicana posee gran diversidad genética porque está compuesta principalmente por las poblaciones mestiza y amerindia. Históricamente, los pueblos amerindios descienden de poblaciones que cruzaron para llegar a América por el estrecho de Bering desde de Asia y que lograron asentarse y diversificarse exitosamente hace unos pocos miles de años. Por lo que, los nativos

americanos presentan un aporte genético asiático (Rasmussen *et al.*, 2014). Actualmente, en México la población amerindia representa el 9.8% de la población a nivel nacional, es decir, aproximadamente 10 millones de habitantes. Los pueblos amerindios se distribuyen a lo largo del territorio mexicano. Las entidades federativas con mayor población indígena son los Estados de Oaxaca (1.5 millones), Chiapas (1.2 millones), Veracruz, Yucatán y Puebla (los últimos tres con más de 900 mil cada una). Algunos pueblos indígenas han mantenido un grado limitado de mestizaje con otras poblaciones debido a un aislamiento geográfico y/o cultural. (Plan Nacional de Desarrollo, 2010).

Los grupos amerindios poseen rasgos culturales, históricos y lingüísticos propios que les otorgan individualidad. Uno de los elementos más importante es la lengua y de acuerdo a ésta, en el país se reconoce la existencia de 68 agrupaciones lingüísticas o comúnmente utilizadas como equivalentes al concepto de etnia. Algunas lenguas habladas por las distintas agrupaciones están relacionadas filogenéticamente, es decir, comparten un alto parecido fonético y gramatical. Por lo que de acuerdo a sus características, las 68 lenguas se clasifican dentro de 11 familias lingüísticas a lo largo del territorio nacional (Tabla 1.1 y Figura 1.2) (Linares, 2008).

Por otra parte, aproximadamente el 90% de la población mexicana lo constituyen los mestizos, los cuales, son una combinación entre grupos nativos amerindios, caucásicos que llegaron a México en el siglo XVI y africanos traídos al país como esclavos. Las proporciones genéticas de ancestría de la población mestiza se han reportado de 56% amerindia, 40% caucásica y 4% africana. Aunque se sabe que

estas proporciones varían en distintas regiones a lo largo del territorio mexicano (Castelán-Martínez *et al.*, 2013).

Tabla 1.1. Grupos lingüísticos de México categorizados de acuerdo a su familia (INALI).

<u>Fam. Algíca</u>	<u>Fam. Oto-Mangue</u>	<u>Fam. Maya</u>	<u>Fam. Mixe-Zoque</u>
Kickapoo	Amuzgo	Akateko	Ayapaneco
	Cuicateco	Awateko	Mixe
<u>Fam. Yuto-Nahua</u>	Chatino	Chontal de Tabasco	Oluteco
Cora	Chichimeco Jonaz	Chuj	Popoloca de la Sierra
Guarijío	Chinanteco	Cho'l	Sayulteco
Huichol	Chocholteco	Huasteco	Texistepequeño
Mayo	Ixcateco	Ixil	Zoque
Náhuatl	Matlatzinca	Jakalteko	
Pápago	Mazahua	Kaqchikel	<u>Fam. Seri</u>
Pima	Mazateco	K'iche'	Seri
Tarahumara	Mixteco	Lacandón	
Tepehuano del Norte	Otomí	Mam	<u>Fam. Huave</u>
Tepehuano del Sur	Pame	Maya	Huave
Yaqui	Popoloca	Qato'k	
	Tlahuica	Q'anjob'al	<u>Fam. Chontal de Oaxaca</u>
<u>Fam. Cochimí-Yumana</u>	Tlapaneco	Q'eqchi'	Chontal de Oaxaca
Cucapá	Triqui	Teko	
Kiliwa	Zapoteco	Tojolabal	<u>Fam. Totonaco-Tepehua</u>
Kumiai		Tseltal	Tepehua
Ku'ahl	<u>Fam. Tarasca</u>	Tsotsil	Totonaco
Paipai	Tarasco		

El aporte genético de las distintas poblaciones amerindias a las poblaciones mestizas ha sido heterogéneo. Por lo que, poseen un antecedente genético diferenciado entre sí, con un mayor aporte por parte de los pueblos amerindios locales y cercanos. Por lo que también, los mestizos aún tienen la huella de la

diversificación de las poblaciones precolombinas nativas americanas (Wang *et al.*, 2008).

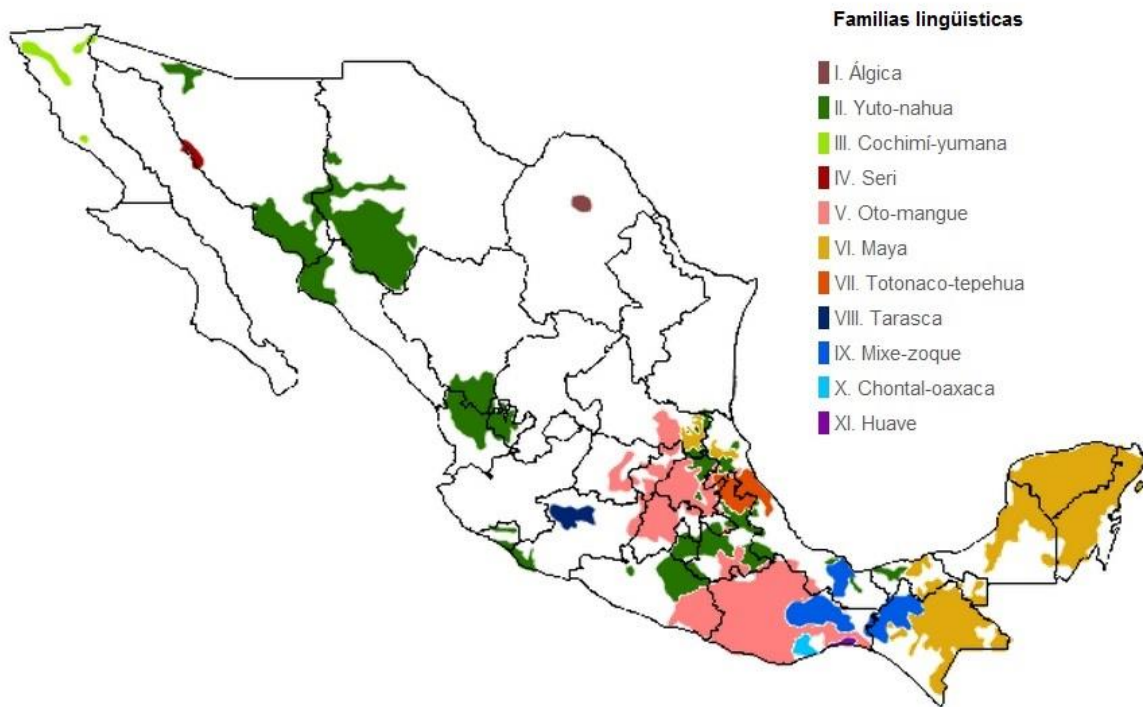


Figura 1.2. Distribución de familias lingüísticas en México

Modificado de www.inali.gob.mx

México es un país caracterizado por una riqueza histórica y cultural, debida en parte a la gran diversidad poblacional que existe; lo que representa una oportunidad para el estudio genético de las poblaciones. Recientemente ha crecido el interés por el conocimiento genómico en población mestiza y amerindia con el objetivo de identificar polimorfismos asociados a enfermedades complejas.

El estudio genético en los pueblos indígenas es de vital importancia porque se ha propuesto una adaptación metabólica a un consumo bajo en calorías en nativos americanos, es decir, los individuos con gran carga genética amerindia (p. ej. la población mestiza mexicana) son especialmente susceptibles a padecer enfermedades metabólicas como diabetes mellitus tipo II (DT2) y el síndrome metabólico (SMet), en conjunto con una dieta rica en calorías y poca actividad física (Campbell *et al.*, 2012). Si consideramos que el EO tiene un papel importante en el desarrollo de DT2 y Smet, resulta importante el estudio de genes antioxidantes en las poblaciones amerindias mexicanas (Castelán-Martínez *et al.*, 2013).

Respecto al estudio de variantes genéticas en poblaciones amerindias en genes de respuesta a estrés oxidativo, Juárez-Velázquez y colaboradores en 2010 analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas de polimorfismos localizados en genes relacionados con hipertensión, trombofilia y estrés oxidativo en 5 poblaciones amerindias mexicanas. Los resultados de este estudio mostraron una gran variabilidad genética entre los distintos grupos. Los autores proponen que estas diferencias pudieran estar relacionadas con el nivel de mestizaje, ya que a menudo hay poblaciones endogámicas pero también hay poblaciones con un alto grado de intercambio genético con poblaciones mestizas y amerindias.

2. JUSTIFICACIÓN

Los polimorfismos genéticos que modifican la respuesta celular a las condiciones de estrés oxidativo, se encuentran en la mayoría de las poblaciones a nivel mundial; pero sus frecuencias alélicas y genotípicas varían según el grupo étnico y la región geográfica. Por lo que determinar las frecuencias de las variantes de *NQO1*, *GCLM*, *GSTP1*, *GSTM1* y *GSTT1* en poblaciones heterogéneas como las amerindias, permitirá en un primer acercamiento, conocer si estas variantes están enriquecidas o ausentes respecto a otras poblaciones de distintas regiones geográficas, comparar entre las diferentes agrupaciones y familias lingüísticas; además de sentar las bases para realizar estudios de asociación, tomando en cuenta en la susceptibilidad que confieren en el desarrollo de diversas enfermedades crónico-degenerativas e inflamatorias.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Conocer las prevalencias de polimorfismos localizados en los genes antioxidantes *NQO1*, *GCLM*, *GSTP1*, *GSTT1* y *GSTM1* en poblaciones amerindias mexicanas.

3.2. Objetivos particulares

- Determinar si las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos *NQO1* C609T, *GCLM* -588C/T, *GSTP1* A1404G y *GSTT1* y *GSTM1* nulos en 22 poblaciones amerindias.
- Conocer la distribución geográfica en México de las frecuencias de alelos y genotipos de riesgo para los polimorfismos analizados.
- Realizar comparaciones de las frecuencias alélicas entre las etnias y entre las familias lingüísticas.
- Comparar la frecuencia alélica encontrada para los polimorfismos estudiados en grupos amerindios con la reportada en otras poblaciones.

4. MÉTODO

4.1. Población de estudio

Se incluyeron 1469 voluntarios sin parentesco familiar con ancestría amerindia, pertenecientes a 22 diferentes etnias. Los criterios para ser considerados amerindios que se tomaron en cuenta en este trabajo han sido utilizados con anterioridad en otros estudios (Lazalde-Ramos *et al.*, 2013), los cuales fueron:

- Haber nacido en las localidades correspondientes a cada grupo étnico
- Hablar la lengua nativa
- Autodefinirse como amerindios
- Tener padres y/o abuelos amerindios

La obtención y uso de las muestras fue aprobado por los Comités Científico, Ético y de Bioseguridad del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), además de que cada uno de los participantes firmó una carta de consentimiento informado. Se excluyó a todo aquel individuo cuya muestra biológica no tuviera la calidad suficiente para el estudio.

4.2. Obtención de muestras y extracción de DNA

Las muestras utilizadas forman parte de un banco de DNA genómico creado con propósitos de investigar variantes relacionadas a problemas metabólicos en la población amerindia. La obtención de las muestras y la extracción del DNA se realizaron por investigadores y estudiantes del Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas del INMEGEN entre los años 2010 y 2014.

De cada sujeto se obtuvieron 20 mL de sangre periférica con tubos Vacutainer™ con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para estudios genómicos y con heparina para pruebas bioquímicas de laboratorio. La extracción de DNA genómico se realizó con el kit Gentra® Puregene® Blood Kit de QIAGEN® siguiendo las instrucciones del fabricante.

4.3. Discriminación alélica

La genotipificación de los SNPs *GSTP1* A1404G (*rs1695*), *NQO1* C609T (*rs1800566*) y *GCLM* -588C/T (*rs41303970*) se llevó a cabo mediante el uso de sondas TaqMan® (Applied Biosystems®, AB). Los ensayos TaqMan® de discriminación alélica para cada SNP, contenían dos sondas complementarias para cada uno de los alelos marcadas con un fluorocromo diferente (VIC/FAM) en el extremo 5' y con un atenuador en el extremo 3'. El fundamento de usar esta técnica yace en que durante cada fase de extensión de la reacción de PCR, la DNA polimerasa rompe la sonda hibridada a su secuencia de DNA complementaria, liberando el fluorocromo del atenuador, resultando en la emisión de un tipo fluorescencia particular (VIC/FAM) para individuos homocigotos o de ambas en heterocigotos (Figura 5.2).

Todas las reacciones de PCR contenían 25 ng de DNA genómico, 2.5 µL de TaqMan® Universal Master Mix (AB) (2x), 0.09 µL de primers y sondas (10X) y agua para completar un volumen final de 5 µL. En todos los ensayos se incluyeron controles negativos. La amplificación se realizó con el termociclador GeneAmp® PCR System 9700 bajo las siguientes condiciones: 50°C por 2 min, 95°C por 10 min, 45 ciclos de amplificación (95°C por 15 s y 62°C por 1 min) y 4°C por tiempo

indeterminado. Para la discriminación alélica se utilizaron el equipo 7900 HT Fast Real-Time PCR System (AB) y el software *Sequence Detection Systems 2.3* 7900HT (AB) para determinar la señal de fluorescencia de las sondas específicas marcadas con las sondas VIC o FAM para cada SNP.

4.4. PCR Multiplex

La genotipificación de los polimorfismos en los genes *GSTT1* y *GSTM1* se realizó de manera simultánea en una PCR multiplex. Para esta PCR se utilizaron oligonucleótidos específicos para amplificar fragmentos de los genes *GSTM1* (215 pb) y *GSTT1* (480 pb), además, se amplificó un fragmento del gen Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (*GAPDH*, 315 pb) como control interno positivo. El total de la reacción fue 25 μL , conteniendo 3 μL de DNA genómico (100 ng/ μL), 2 μL de PCR Buffer II 10x, 2 μL de MgCl_2 10x, 1.4 μL de dNTPs 10x, 1 μL de los primers *GAPDH* A (10 ng/ μL) y *GAPDH* B (10 ng/ μL), 0.35 μL de los primers *GSTT1* F (100 ng/ μL), *GSTT1* R (100 ng/ μL), *GSTM1* F (100 ng/ μL) y *GSTM1* R (100 ng/ μL) (Tabla 3.1), 0.13 μL de DNA polimerasa AmpliTaq Gold (Applied Biosystems) y 13.07 μL de H_2O miliQ. Para la amplificación se utilizó un termociclador GeneAmp® PCR System 9700 con el siguiente programa: desnaturalización inicial a 94°C por 10 min; 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, alineamiento a 62°C por 1 min y extensión a 72 °C por 1 min; extensión final a 72°C por 10 min y a 4°C por tiempo indefinido.

Los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 2%, utilizando como revelador GelRed® y visualizados en un transiluminador. La presencia de las bandas en el gel de electroforesis correspondientes a *GSTT1* y *GSTM1* indica

un genotipo silvestre o conocido en inglés como *wild type genotype* (WT) y la ausencia de éstas, un genotipo nulo o *null genotype* (Null). *GAPDH* fue utilizado como control positivo interno (Figura 5.1).

Tabla 4.1. Oligonucleótidos utilizados en la PCR multiplex para la determinación de los genotipos *GSTT1* y *GSTM1*

Gen	Primer	Secuencia	TM	Tamaño (bp)
<i>GSTT1</i>	GSTT1 F	5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3'	55.8°C	480
	GSTT1 R	5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'	61.7°C	
<i>GAPDH</i>	GAPDH A	5'-CAT CTC TGC CCC CTC TGC TGA-3'	61.2°C	315
	GAPDH B	5'-GGA TGA CCT TGC CCA CAG CCT-3'	62.2°C	
<i>GSTM1</i>	GSTM1 F	5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3'	54.0°C	215
	GSTM1 R	5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'	55.9°C	

4.5. Mapas de distribución geográfica

Con el software R (R Development Core Team, 2008) se graficaron las frecuencias del alelo/genotipo de riesgo para cada polimorfismo estudiado. Las coordenadas geográficas para el mapa fueron de su lugar de nacimiento indicado en el cuestionario clínico (Tabla 5.2).

4.6. Análisis estadísticos

Se obtuvieron las frecuencias alélicas y genotípicas de cada etnia y familia lingüística y con ellas se realizaron las pruebas de desviación del Equilibrio de Hardy-Weinberg mediante el uso de la prueba χ^2 de bondad de ajuste de Pearson,

utilizando el test diseñado por Strom y Wienker en el 2009 disponible en <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>. Además, se determinaron los valores de heterocigosidad observada y esperada, que permiten decir si una población tiene un alto nivel de endogamia o si se trata de una población abierta, es decir, en constante flujo genético.

Se hicieron comparaciones de las frecuencias alélicas de los 3 SNPs y las de los genotipos nulos de *GSTM1* y *GSTT1* entre las distintas etnias, entre las familias lingüísticas y de población amerindia respecto a otras frecuencias previamente reportadas en la literatura para otras poblaciones, mediante pruebas de χ^2 de homogeneidad. Un valor de $P < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo en todos los casos.

5. RESULTADOS

5.1. Poblaciones amerindias

En este trabajo se incluyeron 1438 individuos amerindios voluntarios sin parentesco familiar proveniente de etnias ubicadas en diferentes estados del territorio mexicano y 31 de Huehuetenango, Guatemala. Del total de la población amerindia, el 31.5% fueron hombres y el 68.5% mujeres con una edad promedio de 50.3 ± 16 años. Los individuos fueron agrupados en 22 grupos lingüísticos localizados en el noroeste, oriente, centro y sur de México y el noreste de Guatemala. De acuerdo a la categoría de familia lingüística, se representaron 6 familias lingüística de las 11 totales presentes en el país, con al menos una agrupación. Los grupos por familia lingüística contemplados en este trabajo corresponden a: (1) mayo, yaqui, tarahumara y náhuatl en la familia Yuto-Nahua, (2) qato'k, maya, chuj, kaqchikel, mam, huasteco, jakalteko, tojolabal y q'anjob'al en la familia Maya, (3) mixe y popoluca de la sierra en la familia Mixe-Zoque, (4) chinanteco, otomí, zapoteco, mazateco y mixteco en la familia Oto-Mangue, (5) totonaco en la familia Totonaco-Tepehua, y (6) seris como el único grupo que conforma a la familia Seri (Tabla 5.1).

Se realizó la genotipificación de los individuos para conocer las frecuencias de los alelos y genotipos de riesgo para los polimorfismos en cuestión en las agrupaciones y familias lingüísticas (Tablas 5.4-5.8) mediante las técnicas de PCR multiplex y discriminación alélica (Figura 5.1 y 5.2). Las distribuciones genotípicas para todas las variantes analizadas se encontraron en equilibrio de Hardy-

Weinberg, con excepción de las observadas para *GCLM* en las etnias Náhuatl y Tarahumara ($P=0.093$; $P=0.044$) (Tabla 5.2). Los valores de heterocigosidad sugieren que el desequilibrio observado en los tarahumaras se debe a endogamia y en los nahuas se debe a que son una población con constante intercambio genético (Tabla 5.2). Esto es de esperarse porque los tarahumaras habitan la sierra en lugares con poca comunicación, en algunos casos, es necesario caminar durante horas para llegar con otros individuos de la misma comunidad (Pintado-Cortina, 2004). Por otra parte, el desequilibrio encontrado en el grupo Náhuatl se puede atribuir a que las poblaciones nahuas habitan lugares muy diversos y más accesibles, de manera que se permite el flujo genético con otras poblaciones cercanas (Valle-Esquivel, 2003).

Cabe mencionar, que a pesar de la determinación de frecuencias de los genotipos nulos y silvestres de los genes *GSTT1* y *GSTM1* (Tablas 5.7 y 5.8), estos genotipos no fueron analizados por el Test de equilibrio de Hardy-Weinberg porque el método utilizado para su genotipificación no permite la discriminación entre heterocigotos y homocigotos para el genotipo silvestre. Por lo tanto, el término de genotipo silvestre (WT) se refiere tanto a individuos heterocigotos como homocigotos para el alelo silvestre y el genotipo nulo (Null) exclusivamente a homocigotos para el alelo nulo (Figura 5.1).

Tabla 5.1. Datos demográficos de las poblaciones amerindias de estudio

Población	N	Edad Promedio (DE)	Hombres (%)	Mujeres (%)	Entidad Federativa
Maya	540	50.2 (15.3)	32.6	67.4	
Kaqchikel	35	64.9 (17.5)	54.3	45.7	Chiapas
Chuj	17	44.2 (10.7)	35.3	64.7	Chiapas; Guatemala
Q'anjob'al	29	47.5 (17.1)	24.1	75.9	Chiapas; Guatemala
Mam	45	52.1 (16.3)	26.7	73.3	Chiapas
Maya	235	47.7 (14.6)	22.1	77.9	Yucatán
Qato'k	15	57.2 (9.3)	53.3	46.7	Chiapas
Jakalteko	40	55.3 (14.4)	32.5	67.5	Chiapas
Huasteco	78	49.8 (11.5)	51.3	48.7	San Luis Potosí
Tojolabal	46	48.4 (17.2)	41.3	58.7	Chiapas
Mixe-Zoque	123	51.6 (16.6)	31.7	68.3	
Mixe	88	55.4 (16.5)	31.8	68.2	Oaxaca
Popoluca de la Sierra	35	42.1 (12.8)	31.4	68.6	Veracruz
Oto-Mangué	386	48 (16.2)	28.2	71.8	
Chinanteco	77	51.8 (16.7)	31.2	68.8	Oaxaca
Mazateco	57	47.7 (12.5)	43.9	56.1	Oaxaca
Mixteco	128	39.4 (11.9)	8.8	91.3	Oaxaca
Otomí	66	54.5 (17.9)	40.9	59.1	Hidalgo
Zapoteca	58	49 (15.7)	32.8	67.2	Oaxaca
Seri	19	53.3 (14.3)	36.8	63.2	
Seri	19	53.3 (14.3)	36.8	63.2	Sonora
Totonaco-Tepehua	93	54.5 (16.8)	32.3	67.7	
Totonaca	93	54.5 (16.8)	32.3	67.7	Veracruz; Puebla
Yuto-Nahua	308	51.4 (16.9)	32.8	67.2	
Mayo	29	50.1 (12.5)	51.7	48.3	Sonora Puebla; San Luis
Náhuatl	152	54.5 (18.1)	30.9	69.1	Potosí
Tarahumara	90	47.6 (16.4)	30.0	70.0	Chihuahua
Yaqui	37	48.9 (13.1)	32.4	67.6	Sonora
Total	1469	50.3 (16.1)	31.5	68.5	

Se muestran las diferentes etnias agrupadas de acuerdo a su familia lingüística, para cada una se detalla el tamaño de muestra, edad promedio con su desviación estándar, el porcentaje de hombres y mujeres y la entidad federativa a la cual pertenecen.

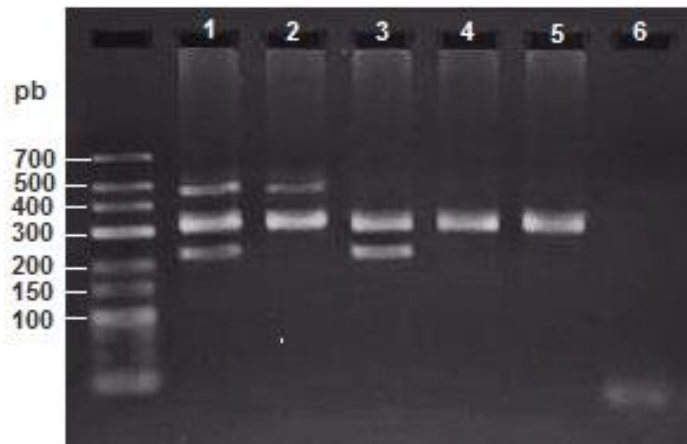


Figura 5.1. Amplificación de *GSTT1* (480 pb), *GAPDH* (315 pb) y *GSTM1* (215 pb).

Posibles Genotipos de *GSTT1/ GSTM1*: 1. WT/WT. 2. WT/Null. 3. Null/WT. 4. y 5. Null/Null y 6.

Control Negativo.

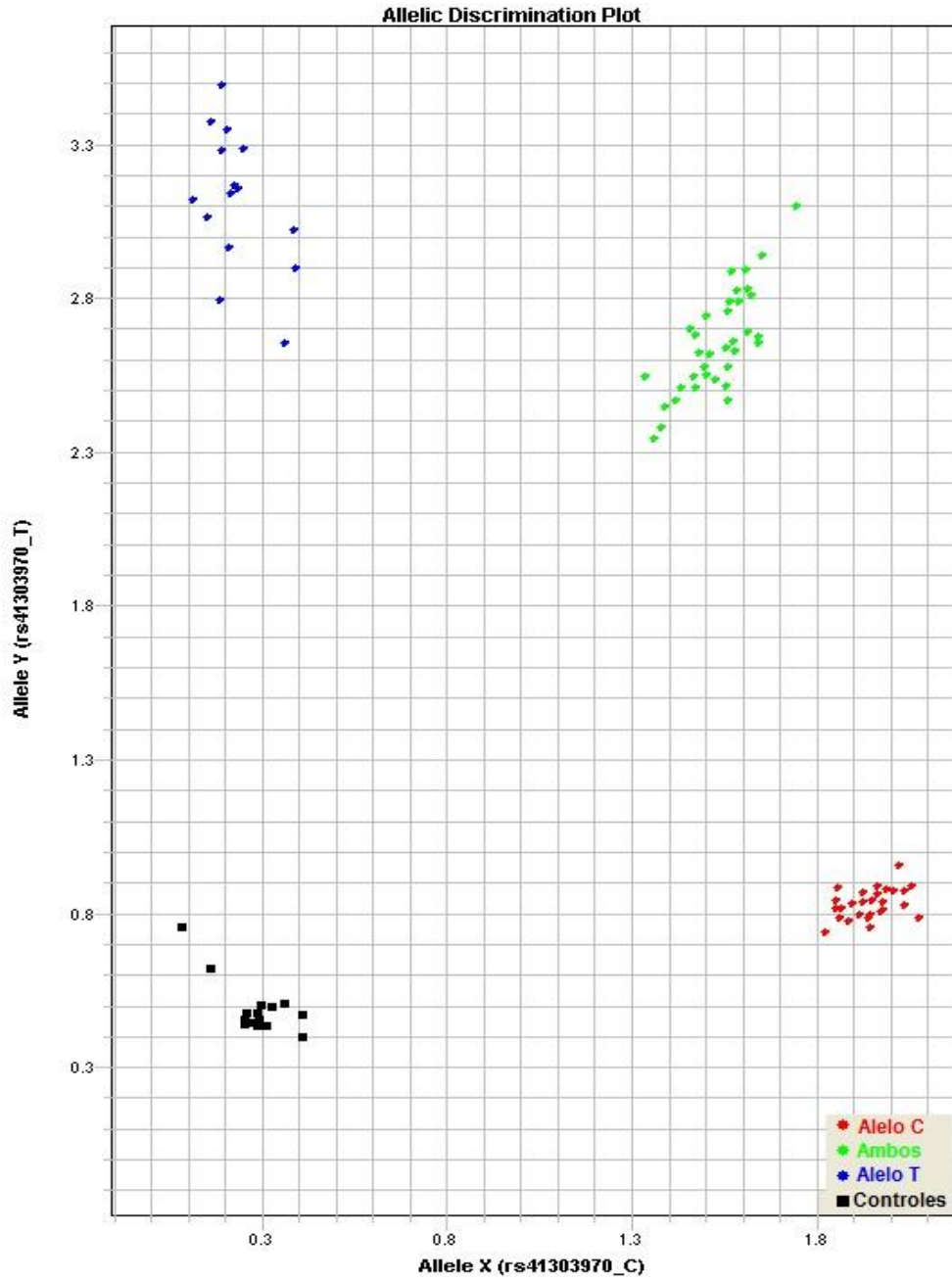


Figura 5.2. Gráfica de discriminación alélica.

Se muestra la discriminación alélica en la población huasteca para el SNP en *GCLM* (*rs41303970*) donde se observan tres genotipos T/T (azul), C/T (verde) y C/C (rojo), y los controles negativos (negro).

Tabla 5.2. Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) y test de equilibrio de Hardy-Weinberg

Población	<i>NQO1</i>		<i>GCLM</i>		<i>GSTP1</i>	
	He	Ho	He	Ho	He	Ho
Kaqchikel	0.5	0.57	0.5	0.51	0.48	0.35
Chuj	0.44	0.53	0.5	0.59	0.47	0.38
Q'anjob'al	0.5	0.55	0.46	0.52	0.49	0.35
Mam	0.5	0.42	0.5	0.47	0.4	0.34
Maya	0.5	0.51	0.5	0.53	0.49	0.35
Qato'k	0.49	0.47	0.48	0.53	0.44	0.37
Jakalteko	0.5	0.5	0.5	0.58	0.41	0.39
Huasteco	0.48	0.4	0.49	0.47	0.49	0.33
Tojolabal	0.49	0.59	0.48	0.43	0.45	0.32
Mixe	0.5	0.52	0.47	0.38	0.49	0.28
Popoluca	0.45	0.57	0.49	0.46	0.5	0.32
Chinanteco	0.5	0.47	0.46	0.36	0.46	0.28
Mazateco	0.49	0.49	0.49	0.56	0.47	0.37
Mixteco	0.5	0.51	0.46	0.55	0.46	0.37
Otomí	0.5	0.61	0.49	0.42	0.43	0.32
Zapoteca	0.48	0.53	0.48	0.5	0.47	0.35
Seri	0.49	0.58	0.33	0.42	0.1	0.49
Totonaca	0.5	0.55	0.5	0.52	0.49	0.34
Mayo	0.49	0.41	0.35	0.38	0.5	0.31
Náhuatl	0.5	0.47	0.5	0.58 *	0.5	0.37
Tarahumara	0.46	0.46	0.45	0.36 *	0.46	0.28
Yaqui	0.5	0.57	0.43	0.41	0.46	0.31

*No se encuentran en Equilibrio de Hardy-Weinberg

5.2. *NQO1* C609T

El alelo de riesgo T del SNP C609T en *NQO1* en la población amerindia se encontró en una frecuencia de 0.523 (Tabla 5.4). En comparación con poblaciones de otras regiones geográficas, en amerindios, la frecuencia del alelo T fue significativamente más elevada ($P < 0.05$) respecto a caucásicos españoles (0.178), africanos (0.177), asiáticos (0.404) y mestizos mexicanos (0.442) (Huo *et al.* 2005; Bress *et al.*, 2012; Hamamachi *et al.*, 2013; Moreno-Macías *et al.*, 2013). En las poblaciones amerindias el alelo de riesgo mostró gran variación; se presentó en un rango de 0.324 en el grupo Chuj del Estado de Chiapas con la menor frecuencia, al 0.650 en los Tarahumaras del Estado de Chihuahua con la mayor entre las etnias (Tabla 5.6).

Para la proporción alélica de riesgo de *NQO1*, al igual que para los demás polimorfismos, se realizó un mapa utilizando las coordenadas geográficas de la localidad de nacimiento correspondiente de los pueblos indígenas de las diferentes agrupaciones (Tabla 5.3 y Figuras 5.3-5.7). La distribución geográfica de frecuencias del alelo T en el mapa (Figura 5.3), mostró que en el norte y oriente de México y la península de Yucatán se presentan frecuencias elevadas, por el contrario en el sureste, principalmente en el Estado de Oaxaca se encuentran los valores más bajos.

La familia lingüística Mixe-Zoque presentó la menor frecuencia (0.472) del alelo de riesgo para este SNP, a diferencia de la Yuto-Nahua (0.557), lo que era de esperarse porque en esta familia se encuentran las etnias con los valores más

elevados. Cuando se compararon entre familias lingüísticas, la Yuto-Nahua es la única que presentó diferencias respecto a la Mixe-Zoque (0.472) y Oto-Mangue (0.49).

Tabla 5.3. Coordenadas Geográficas de la Localidad de las Agrupaciones Lingüísticas

Agrupación Lingüística	Latitud Norte	Longitud Oeste
Kaqchikel	-92.11182	15.2315776
Chuj	-91.4100698	14.3212269
Q'anjob'al	-91.41005175	14.32122361
Mam	-92.13310561	15.30380495
Maya	-88.10432848	21.01193402
Qato'k	-92.14449199	15.2209475
Jakalteko	-92.25394866	16.30445264
Huasteco	-99.01110083	21.37296218
Tojolabal	-92.04323871	16.39056833
Mixe	-95.05303849	16.56542056
Popoluca de la Sierra	-96.39495926	17.49342022
Chinanteco	-96.23192241	18.0357732
Mazateco	-96.31439833	18.04315936
Mixteco	-97.42518454	17.10240227
Otomí	-99.13016526	20.28593318
Zapoteca	-96.28275136	16.5715749
Seri	-110.5644369	29.0529937
Totonaca	-97.37305346	20.061701
Mayo	-109.3737247	26.54387925
Náhuatl	-99.1930242	18.51377008
Tarahumara	-108.1652264	27.22161321
Yaqui	-110.540835	27.54509318

5.4. Frecuencias genotípicas y alélicas de NQO1, GCLM y GSTP1 en las familias lingüísticas

	Maya (n=540)	Mixe- Zoque (n=123)	Oto- Mangue (n=386)	Seri (n=19)	Totonaco- Tepehua (n=93)	Yuto- Nahua (n=308)	Total Amerindios (n=1469)
NQO1							
Genotipo							
CC	0.22	0.26	0.25	0.16	0.2	0.21	0.23
CT	0.5	0.54	0.51	0.58	0.55	0.47	0.5
TT	0.29	0.2	0.24	0.26	0.25	0.32	0.27
Alelo							
C	0.47	0.53	0.51	0.45	0.48	0.44	0.48
T	0.53	0.47	0.49	0.55	0.52	0.56	0.52
GCLM							
Genotipo							
CC	0.25	0.37	0.37	0.58	0.27	0.38	0.32
CT	0.51	0.4	0.46	0.42	0.52	0.47	0.48
TT	0.24	0.23	0.18	0	0.22	0.15	0.2
Alelo							
C	0.51	0.57	0.6	0.79	0.53	0.62	0.56
T	0.49	0.43	0.4	0.21	0.47	0.38	0.44
GSTP1							
Genotipo							
AA	0.14	0.2	0.14	0	0.17	0.17	0.15
AG	0.5	0.46	0.42	0.11	0.54	0.49	0.47
GG	0.36	0.34	0.44	0.89	0.29	0.33	0.38
Alelo							
A	0.39	0.43	0.35	0.05	0.44	0.42	0.39
G	0.61	0.57	0.65	0.95	0.56	0.58	0.61

Tabla 5.5. Frecuencias genotípicas de *NQO1*, *GCLM* y *GSTP1* en las agrupaciones lingüísticas

Población	N	<i>NQO1</i>			<i>GCLM</i>			<i>GSTP1</i>		
		CC	CT	TT	CC	CT	TT	AA	AG	GG
Kaqchikel	35	0.2	0.57	0.23	0.2	0.51	0.29	0.11	0.57	0.31
Chinanteco	77	0.31	0.47	0.22	0.45	0.36	0.18	0.16	0.39	0.45
Chuj	17	0.41	0.53	0.06	0.18	0.59	0.24	0.12	0.53	0.35
Q'anjob'al	29	0.24	0.55	0.21	0.38	0.52	0.1	0.24	0.38	0.38
Mam	45	0.29	0.42	0.29	0.27	0.47	0.27	0.02	0.51	0.47
Maya	235	0.2	0.51	0.29	0.25	0.53	0.22	0.18	0.49	0.33
Mayo	29	0.34	0.41	0.24	0.59	0.38	0.03	0.17	0.62	0.21
Mazateco	57	0.18	0.49	0.33	0.3	0.56	0.14	0.16	0.44	0.4
Mixe	88	0.22	0.52	0.26	0.44	0.38	0.18	0.18	0.48	0.34
Mixteco	128	0.23	0.48	0.3	0.44	0.46	0.1	0.15	0.39	0.46
Qato'k	15	0.2	0.47	0.33	0.13	0.53	0.33	0.07	0.53	0.4
Náhuatl	152	0.23	0.47	0.3	0.26	0.58	0.16	0.22	0.46	0.32
Otomí	66	0.23	0.61	0.17	0.21	0.42	0.36	0.09	0.45	0.45
Popoluca	35	0.37	0.57	0.06	0.2	0.46	0.34	0.26	0.4	0.34
Jakalteko	40	0.3	0.5	0.2	0.18	0.58	0.25	0.08	0.43	0.5
Seri	19	0.16	0.58	0.26	0.58	0.42	0	0	0.11	0.89
Tarahumara	90	0.12	0.46	0.42	0.48	0.36	0.17	0.11	0.51	0.38
Huasteca	78	0.21	0.4	0.4	0.35	0.47	0.18	0.17	0.53	0.31
Tojolabal	46	0.13	0.59	0.28	0.17	0.43	0.39	0.07	0.54	0.39
Totonaca	93	0.2	0.55	0.25	0.27	0.52	0.22	0.17	0.54	0.29
Yaqui	37	0.22	0.57	0.22	0.49	0.41	0.11	0.11	0.49	0.41
Zapoteca	58	0.33	0.53	0.14	0.34	0.5	0.16	0.12	0.5	0.38

Tabla 5.6. Frecuencias alélicas de NQO1, GCLM y GSTP1 en las agrupaciones lingüísticas

Población	N	NQO1		GCLM		GSTP1	
		C	T	C	T	A	G
Kaqchikel	35	0.49	0.51	0.46	0.54	0.4	0.6
Chinanteco	77	0.55	0.45	0.64	0.36	0.35	0.65
Chuj	17	0.68	0.32	0.47	0.53	0.38	0.62
Q'anjob'al	29	0.52	0.48	0.64	0.36	0.43	0.57
Mam	45	0.5	0.5	0.5	0.5	0.28	0.72
Maya	235	0.45	0.55	0.51	0.49	0.42	0.58
Mayo	29	0.55	0.45	0.78	0.22	0.48	0.52
Mazateco	57	0.42	0.58	0.58	0.42	0.38	0.62
Mixe	88	0.48	0.52	0.63	0.37	0.42	0.58
Mixteco	128	0.46	0.54	0.67	0.33	0.34	0.66
Qato'k	15	0.43	0.57	0.4	0.6	0.33	0.67
Náhuatl	152	0.46	0.54	0.55	0.45	0.45	0.55
Otomí	66	0.53	0.47	0.42	0.58	0.32	0.68
Popoluca	35	0.66	0.34	0.43	0.57	0.46	0.54
Jakalteco	40	0.55	0.45	0.46	0.54	0.29	0.71
Seri	19	0.45	0.55	0.79	0.21	0.05	0.95
Tarahumara	90	0.35	0.65	0.66	0.34	0.37	0.63
Huasteca	78	0.4	0.6	0.58	0.42	0.43	0.57
Tojolabal	46	0.42	0.58	0.39	0.61	0.34	0.66
Totonaca	93	0.48	0.52	0.53	0.47	0.44	0.56
Yaqui	37	0.5	0.5	0.69	0.31	0.35	0.65
Zapoteca	58	0.59	0.41	0.59	0.41	0.37	0.63

Al comparar las etnias dentro de la misma familia lingüística, se observó heterogeneidad respecto a las proporciones alélicas; debido a que en la familia Maya, los chuj (0.324) presentaron una frecuencia significativamente menor ($P < 0.05$) en comparación con los mayas (0.547), huastecos (0.596) y tojolabales (0.576). En la familia Mixe-Zoque, los popolucas de la Sierra (0.343) y mixes (0.523) presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). En la familia Oto-Mangue, únicamente se encontró que los zapotecas (0.405) no presentaban frecuencias similares ($P < 0.05$) respecto de los mazatecos (0.579) y mixtecos (0.535). En la

familia Yuto-Nahua se presentaron diferencias ($P<0.05$) cuando se compararon a los tarahumara (0.650) y mayos (0.488).

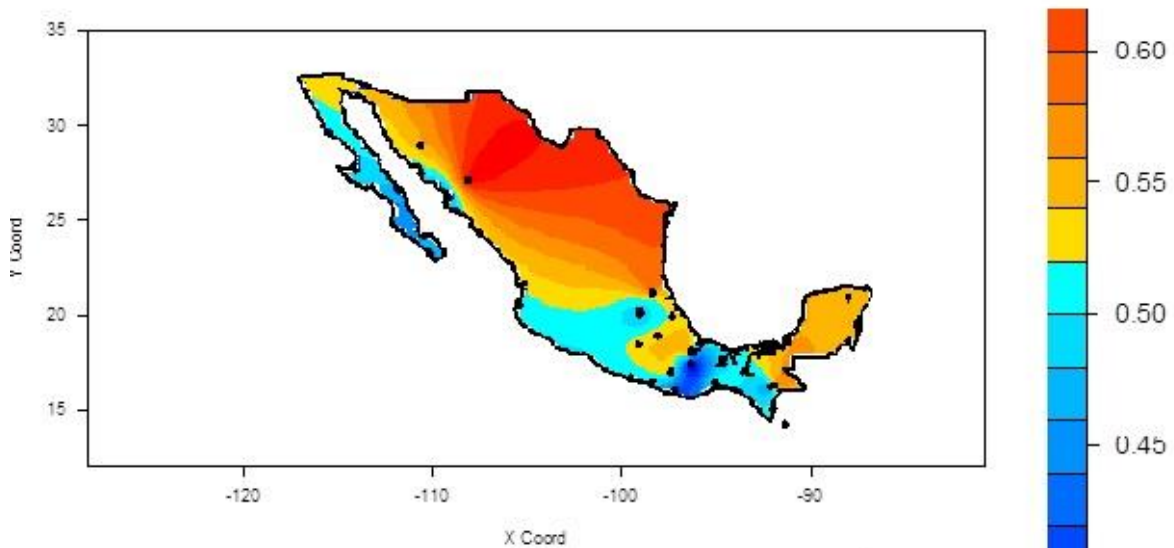


Figura 5.3. Distribución geográfica del alelo de riesgo T para el polimorfismo *NQO1* en la población amerindia.

5.3. *GCLM* -588C/T

Existen muy pocos estudios de la variante -588C/T en el gen *GCLM*. Para las poblaciones mestizas mexicanas y africanas, no hay reportes en la literatura que indiquen su comportamiento. Este trabajo es el primero donde se estudiaron las frecuencias alélicas y genotípicas para el SNP en poblaciones mexicanas. En la población amerindia total se observó una frecuencia del alelo de riesgo T entre 0.211 en los seris (Sonora), al 0.609 en los tojolabales (Chiapas). La frecuencia del alelo T en los indígenas (0.44) (Tabla 5.4) fue más elevada ($P<0.05$) en comparación con las poblaciones caucásicas (0.14) y asiáticas (0.19) (Engström *et al.*, 2011; Hanzawa *et al.*, 2011). Únicamente en el grupo mayo (0.224) y seri

(0.211) no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) con estas referencias (Tabla 5.6).

En la figura 5.4 se muestra la distribución de frecuencias del alelo T de *GCLM* en el territorio mexicano. Éstas se presentan en forma de gradiente a lo largo del país; en el noroeste de México son bajas (0.211, Seri – 0.344, Tarahumara), en el bajío, oriente y centro intermedias (0.344, Mixe – 0.576, Otomí) y en el sureste altas, principalmente en el Estado de Chiapas (0.362, Q'anjob'al – 0.609, Tojolabal). Lo que correlaciona cuando comparamos a las de las familias lingüísticas, la familia Seri (0.211) del noroeste del país, presentó la menor frecuencia, por el contrario la familia Maya (0.493) ampliamente distribuida en el sur del país, la mayor frecuencia para el alelo de riesgo (Tabla 5.4). Por eso, cuando se realizó la comparación de las frecuencias entre las familias lingüísticas, la familia Maya resultó diferente a la Oto-Mangue y Yuto-Nahua, en cambio, la familia Seri resultó diferente a ($P < 0.05$) a todas. No hubo diferencias entre el resto.

El análisis por etnias de la misma familia lingüística indicó que en la familia Maya, los q'anjob'ales (0.362) únicamente difieren ($P < 0.05$) de los tojolabales (0.609). Los grupos Mixe (0.369) y Popoluca de la Sierra (0.571) de la familia Mixe-Zoque, tuvieron frecuencias genotípicas distintas ($P < 0.05$). Dentro de la familia Oto-Mangue, los otomíes (0.576) presentaron una frecuencia alélica mayor ($P < 0.05$) al resto de los grupos que la componen. Un caso similar al anterior ocurre con el grupo Náhuatl (0.454) de la familia Yuto-Nahua (Tabla 5.6).

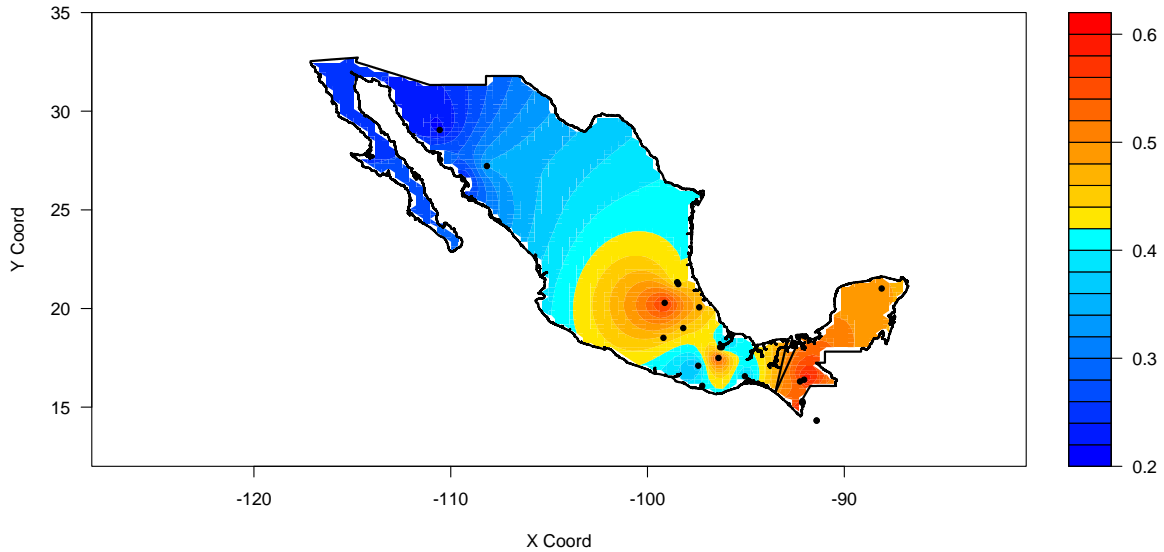


Figura 5.4. Distribución geográfica de las frecuencias del alelo T para el polimorfismo -588C/T del gen *GCLM* en población amerindia.

5.4. *GSTP1* A1404G

En la población amerindia la prevalencia del alelo de riesgo fue del 61.3%. En general, los grupos tienen una frecuencia significativamente mayor ($P < 0.05$) del alelo G (Mayo, 0.517- Seri, 0.947) en comparación a las reportadas en la literatura para los asiáticos (0.206) caucásicos (0.357) y africanos (0.42) (Watson *et al.*, 1998; García-González *et al.*, 2012; Oskina *et al.*, 2014). Pero, respecto a los mestizos mexicanos (0.551), los amerindios tuvieron valores similares ($P > 0.05$) (Moreno-Macías *et al.*, 2013).

Es importante mencionar que en los seris no hubo presencia del genotipo homocigoto para el alelo ancestral A/A, lo cual se vio reflejado en que el alelo G se presente en el 94.7% de estos (Tabla 5.5). Es probable que no se encontraran

individuos con ese genotipo por el tamaño de la población ($n=19$), aunque en poblaciones con un valor de n menor si se presentó como en el caso del grupo Chuj y Qato'k .

Un estudio realizado en el año 2010 reportó las frecuencias alélicas del SNP A1404G en *GSTP1* para las poblaciones maya (0.62), yaqui (0.65), huichol (0.86), tarasca (0.59) y triki (0.70). Éstas se encuentran dentro del rango encontrado en este trabajo (0.517-0.947) para las poblaciones amerindias; respecto a los yaquis y mayas no hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre las frecuencias reportadas por Juárez et al. (2010) y las presentadas en este trabajo (mayas, 0.577; yaquis 0.649) (Juárez-Velázquez *et al.*, 2010).

A pesar de que el análisis entre agrupaciones dentro de la misma familia lingüística no indicó gran variación en la mayoría de las familias, mostró que el grupo Mam (0.722) tuvo una mayor frecuencia del alelo G ($P<0.05$) respecto a los q'anjob'al (0.569), mayas (0.577) y huastecos (0.571). En las etnias de otras familias lingüísticas no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$). Pero cuando se analizaron las frecuencias entre la categoría de familia lingüística, se observó que la familia Seri (0.95) fue distinta ($P<0.05$) a todas las familias, al igual que la Oto-Mangue (0.65), con una excepción respecto a la Maya.

La distribución geográfica del alelo G para *GSTP1* se muestra en la figura 5.5. Los seris, a pesar de encontrarse en la misma entidad federativa que los mayos y yaquis (Estado de Sonora) se observa claramente distinta en color rojo a comparación del resto del territorio en tonos azules, debido a la alta prevalencia

del alelo de riesgo (0.947) y ausencia del genotipo homocigoto silvestre en la población. En el estado de Chiapas, se observan tonalidades de azul que indican frecuencias intermedias para esta variante.

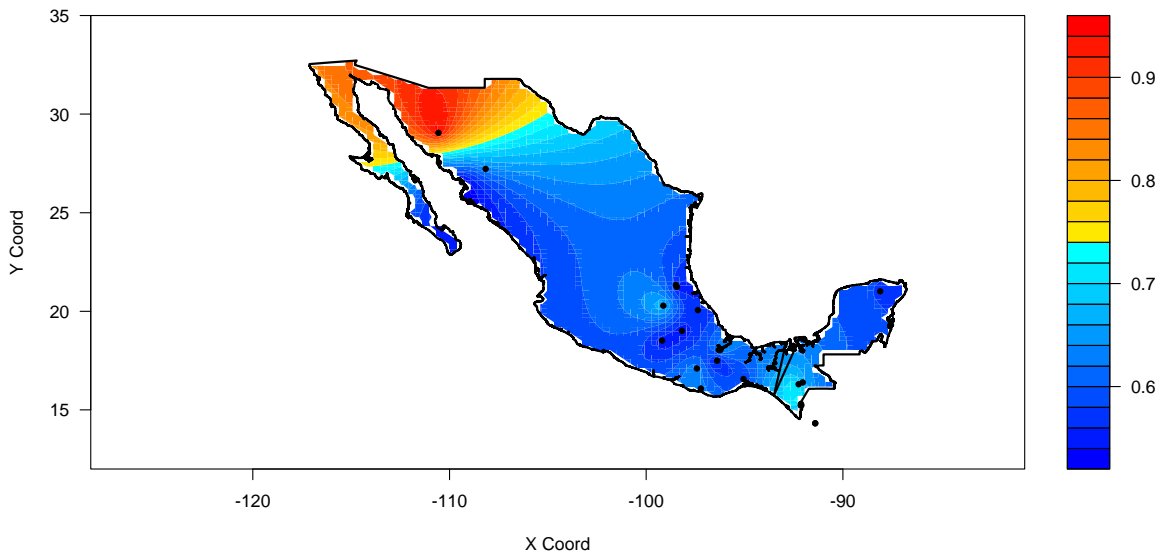


Figura 5.5. Distribución geográfica del alelo de riesgo G para el polimorfismo GSTP1 en la población amerindia.

5.5. GSTT1 y GSTM1

El genotipo nulo de *GSTT1* se presenta en un 10% de la población amerindia (Tabla 5.7), de acuerdo con lo reportado en poblaciones de otras regiones geográficas, en amerindios se observó que ocurre en menor proporción ($P < 0.05$) respecto a mestizos mexicanos (15.2%), africanos (18.4), caucásicos (23.5%) y asiáticos (47.7%) (Pérez-Morales *et al.*, 2011; García-González *et al.* 2012; Van Emburgh *et al.*, 2013; Yamada *et al.*, 2014). Entre los grupos amerindios la frecuencia del genotipo nulo fue variable, desde un 0% en los mayas, kaqchikeles y seris, hasta un 26.7% en el grupo Qato'k (Tabla 5.8).

En el mapa de distribución geográfica podemos observar que las poblaciones del Estado de Chiapas presentan en menor proporción el genotipo nulo, a excepción de la agrupación Qato'k (26.7) ubicada cerca de la frontera con Guatemala. Los seris del Estado de Sonora y otras poblaciones del Estado de Chiapas como la Mam y Kaqchikel, presentan un comportamiento monomórfico, en el que sólo observamos el genotipo *wild type*. Las etnias del centro del país presentan frecuencias similares entre sí (Figura 5.4).

Las familias Yuto-Nahua y Oto-Mangue muestran en un 11.4% ausencia del gen *GSTT1*, por el contrario la Seri (0%) no presentó este genotipo, a pesar de esto no se encontraron diferencias significativas entre las familias lingüísticas, pero si comparando las etnias que comprenden a las mismas. En la familia Maya, los kaqchikeles (0%), mames (0%) y huasteco (2.6%) fueron estadísticamente distintos ($P < 0.05$) comparados con los mayas (13.2%) y los qato'k (26.7%). Los mixes (6.8%) y popolucas de la Sierra (20%) de la familia Mixe-Zoque presentaron diferencias significativas, mientras que en la familia Oto-Mangue y Yuto-Nahua sólo se encontraron diferencias al comparar a los otomíes (6.1%) con los chinantecos (19.5%) y a los tarahumaras (16.7%) con nahuas (7.9%), respectivamente (Tabla 5.8).

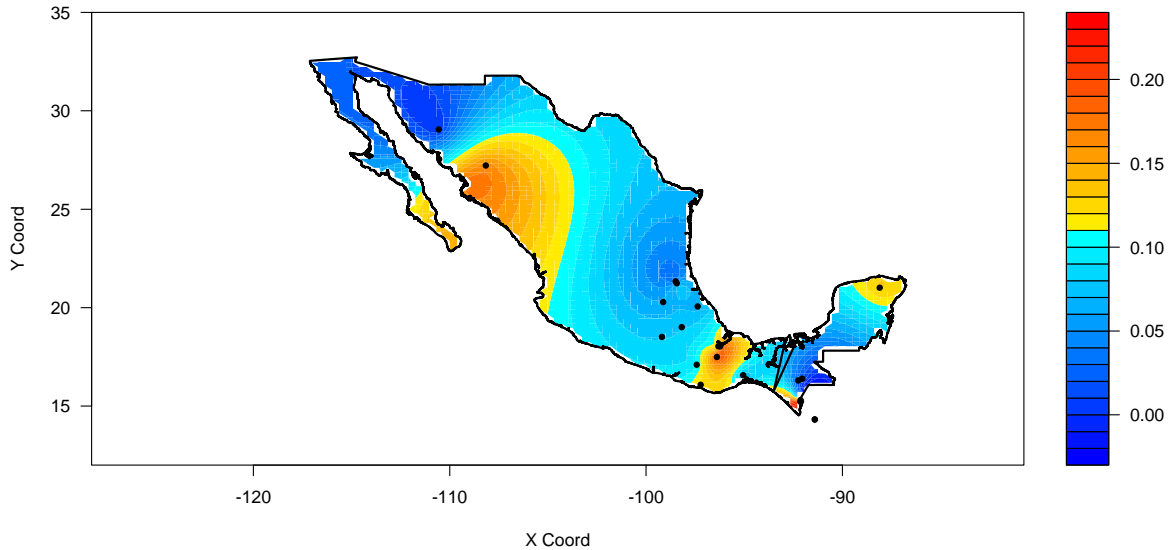


Figura 5.6. Distribución geográfica de las frecuencias del genotipo nulo de GSTT1 en la población amerindia.

Por otra parte, la prevalencia del genotipo nulo del gen *GSTM1* en la población total amerindia fue del 43% (Tabla 5.7), dado por las frecuencias en los grupos amerindios que se encontraron en un rango del 31.2% en los totonacas de los Estados de Veracruz y Puebla, al 65.7% en los popolucas de la sierra del Estado de Veracruz (Tabla 5.8). Respecto a lo reportado para mestizos (37.4%) y africanos (32.2%), la frecuencia en amerindios fue significativamente mayor (Pérez-Morales *et al.* 2011; Van Emburgh *et al.*, 2013); por el contrario tuvieron a comparación de los asiáticos (56.2%) una menor (Yamada *et al.*, 2014). Respecto a la población caucásica española (49.3%) no se observaron diferencias (García-Gómez *et al.*, 2012).

Cuando se compararon a las familias lingüísticas entre sí, la Oto-Mangue resultó distinta ($P < 0.05$) de la Maya, Totonaco-Tepehua y Yuto-Nahua, y la Totonaco-Tepehua de los Mixe-Zoque, Oto-Mangue y Seri. El análisis de las etnias dentro

de la familias mostró frecuencias similares entre éstas, excepto la Mixe-Zoque, en la que los popolucas de la Sierra (65.7%) presentaron un porcentaje mayor en comparación a los mixes (37.5%, $P<0.05$). En la familia Oto-Mangue, únicamente se observaron diferencias significativas entre zapotecas (39.4%) y otomíes (60.3%). En el mapa de distribución geográfica se observa que las poblaciones de los Estados de Oaxaca y Sonora tienen una mayor ausencia del gen *GSTM1*. Por el contrario, las poblaciones del oriente de México y del Estado de Chiapas presentaron el menor porcentaje de *GSTM1* nulo. Un dato contrastante, es que en el Estado de Veracruz se encuentran los totonacas y popolucas de la sierra que presentan la menor y mayor frecuencia, respectivamente (Figura 5.5).

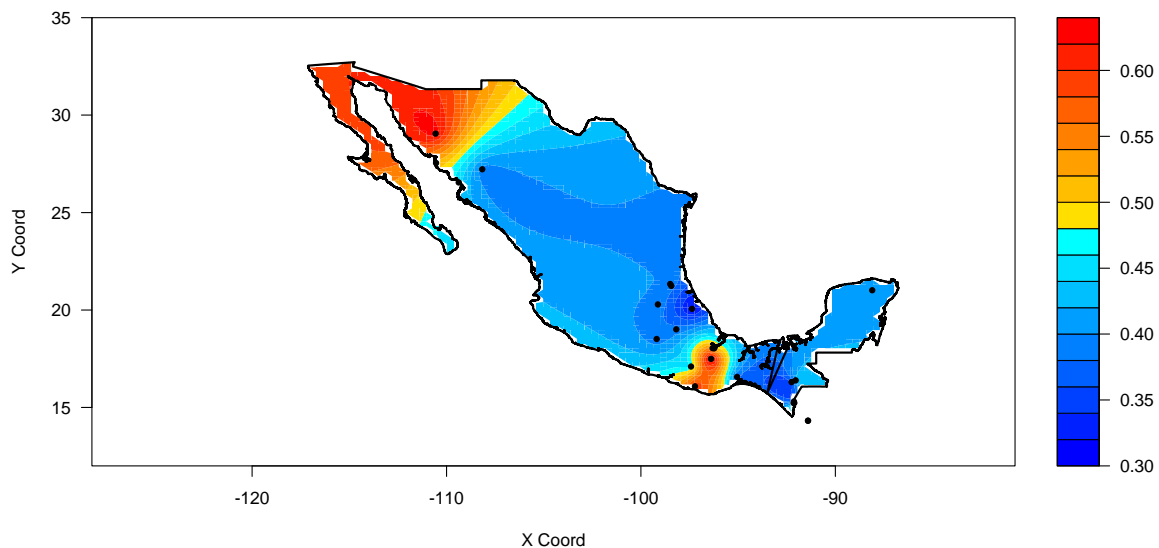


Figura 5.7. Distribución geográfica de las frecuencias del genotipo nulo de *GSTM1* en la población amerindia.

Tabla 5.7. Frecuencias genotípicas de *GSTM1* y *GSTT1* en las familias lingüísticas

Familia	N	<i>GSTM1</i>		<i>GSTT1</i>	
		Null	WT	Null	WT
Maya	540	0.41	0.59	0.08	0.92
Mixe-Zoque	123	0.46	0.54	0.11	0.89
Oto-Mangue	386	0.49	0.51	0.11	0.89
Seri	19	0.63	0.37	0	1
Totonaco-Tepehua	93	0.31	0.69	0.06	0.94
Yuto-Nahua	308	0.41	0.59	0.11	0.89
Total general	1469	0.43	0.57	0.1	0.9

Tabla 5.8. Frecuencias genotípicas de *GSTM1* y *GSTT1* en las agrupaciones lingüísticas

Población	n	<i>GSTM1</i>		<i>GSTT1</i>	
		Null	WT	Null	WT
Kaqchikel	35	0.54	0.46	0	1
Chinanteco	77	0.51	0.49	0.19	0.81
Chuj	17	0.41	0.59	0.06	0.94
Q'anjob'al	29	0.38	0.62	0.07	0.93
Mam	45	0.36	0.64	0	1
Maya	235	0.42	0.58	0.13	0.87
Mayo	29	0.45	0.55	0.17	0.83
Mazateco	57	0.54	0.46	0.11	0.89
Mixe	88	0.38	0.63	0.07	0.93
Mixteco	128	0.45	0.55	0.09	0.91
Qato'k	15	0.47	0.53	0.27	0.73
Náhuatl	152	0.39	0.61	0.08	0.92
Otomí	66	0.39	0.61	0.06	0.94
Popoluca	35	0.66	0.34	0.2	0.8
Jakalteko	40	0.35	0.65	0.03	0.98
Seri	19	0.63	0.37	0	1
Tarahumara	90	0.39	0.61	0.17	0.83
Huasteca	78	0.4	0.6	0.03	0.97
Tojolabal	46	0.43	0.57	0.02	0.98
Totonaca	93	0.31	0.69	0.06	0.94
Yaqui	37	0.51	0.49	0.08	0.92
Zapoteca	58	0.6	0.4	0.12	0.88

6. DISCUSIÓN

Los resultados observados de las frecuencias para los polimorfismos en genes antioxidantes se relacionaron con aspectos históricos, lingüísticos, sociales y de salud en las poblaciones amerindias. En este sentido, las poblaciones Mixe y Popoluca de la Sierra pertenecientes a la familia Mixe-Zoque presentan diferencias significativas respecto a las frecuencias alélicas de todos los SNPs, con excepción de *GSTP1* A1404G. La familia Mixe-Zoque tiene dos subfamilias (Mixe y Zoque) que en el pasado se asociaban únicamente a tres etnias: mixes, zoques y popolucas. El grupo lingüístico popoluca, estaba constituido por diversos pueblos, algunos eran clasificados como hablantes de una variante lingüística relacionada con la lengua mixe y otros con la zoque (CDI, s.f.). Estos pueblos popolucas tienen una extensa y compleja historia de interacción y relación con otros grupos; por lo que entre estos han sido llamados olmecas, zoque-popolucas y mixe-popolucas (CDI, 2009). Actualmente, los pueblos popolucas fueron fragmentados y reclasificados (Tabla 6.1), de manera que la nueva clasificación concuerda con lo observado en este trabajo para estos polimorfismos, es decir, el pueblo denominado popoluca de la Sierra no presenta similitudes con el mixe, al menos para estas variantes. Debido a lo anterior, es interesante realizar un análisis genético que ayude a profundizar y esclarecer las relaciones filogenéticas entre las poblaciones de esta familia (Torres, 2004; Wichmann, 1995).

Tabla 6.1. Clasificación lingüística de la familia Mixe-Zoque

Mixe-Zoque
Mixeano
Mixe
Tapachulteco
Sayulteco
Oluteco
Zoqueano
Zoqueano del Golfo
Texitepequeño
Ayapaneco
Popoloca de la Sierra
Zoque

Tomado de: Catálogo de Lenguas indígenas Nacionales, INALI.
www.inali.gob.mx

En la familia Maya con frecuencia se observa que las etnias de Chiapas presentan pocas diferencias entre sí mismas, pero cuando las comparamos respecto a los mayas (Yucatán) y huastecos (San Luis Potosí), observamos un gran número de diferencias respecto a estos polimorfismos, lo que tiene un sentido lógico respecto a la clasificación lingüística (Tabla 6.2). Dado que las variantes lingüísticas del mam, huasteco y maya presentan el más alto grado de variación respecto al resto de las lenguas mayenses, se cree que fueron las primeras lenguas que se derivaron de un tronco común: el proto-maya (Pérez-Suárez, 2004). Además, estas diferencias genéticas probablemente estén relacionadas con que el huasteco sea la única lengua separada del resto de las lenguas mayances y los mayas de Yucatán estén geográficamente distantes de las agrupaciones lingüísticas de Chiapas y Guatemala; estas últimas se clasifican como lenguas cercanas entre sí, y además, sus hablantes tienen estrecha relación social. Por ejemplo, las poblaciones indígenas del Estado de Chiapas como los mames, que son vecinos de pequeños grupos de chujes, quichés, kaqchikeles, mochós y

jacaltecos interactúan comercial y culturalmente, se visitan, organizan juegos de fútbol, etcétera. Incluso los mames que viven en las faldas del volcán Tacaná mantienen un estrecho contacto con individuos del mismo grupo de Guatemala (CDI, s.f.).

Tabla 6.2. Familia Lingüística Maya

Maya	
	Huastecano
	Huasteco
	Chicomuselteco
	Yucatecano-maya nuclear
	Yucateco-Lacandón
	Yucateco-Lacandón
	Maya
	Lacandón
	Mopán-Itzá
	Mopán
	Itzá
	Maya nuclear
	Cholano-tzeltalano
	Cholano
	Ch'ol-Chontal
	Ch'ol
	Chontal de Tabasco
	Ch'ortí-Choltí
	Tzeltalano
	Tzeltal
	Tsotsil
	Q'anjob'aleano-chujeano
	Q'anjob'aleano
	Q'anjob'al-Akateko-Jakalteko
	Q'anjob'al
	Akateko
	Jakalteko
	Qato'k
	Chujeano
	Chuj
	Tojolabal
	K'icheano-Mameano
	K'icheano
	Q'echi'
	Uspanteko
	Poqom-K'icheano
	Poqom
	Poqomchi'
	Poqomam
	Kicheano nuclear
	K'iche'
	Kaqchikel-Tz'utujil
	Kaqchikel
	Tz'utujil
	Sakapulteko
	Sipakapense
	Mameano
	Teko-Mam
	Teko
	Mam
	Awakateko-Ixil
	Awakateko
	Ixil

Tomado de: Catálogo de Lenguas indígenas Nacionales, INALI (www.inali.gob.mx)

De acuerdo con el Instituto Nacional de Lenguas Indígenas, dentro de la agrupación lingüística mixteca se encuentra una población que habla una variante lingüística llamada Tacuate o Mixteco de Santa María Zacatepec. Algunos autores consideran que los tacuates tienen rasgos que los diferencian del resto de los mixtecos (Castillo-Cisneros, 2006). En este trabajo se subdividió a los hablantes de esta variante del resto de los mixtecos para analizar sus frecuencias y se observó que los tacuates no presentan diferencias significativas ($P < 0.5$) para ninguno de los polimorfismos aquí reportados. Es importante profundizar en el estudio genético dentro de los pueblos que conforman a las agrupaciones lingüísticas, ya que algunos presentan rasgos particulares que podrían correlacionar con futuros análisis genéticos.

La agrupación lingüística Seri es la única perteneciente a la familia con el mismo nombre. Las poblaciones seris habitan en la costa desértica del Estado de Sonora y mantienen relaciones comerciales con la población mestiza de Hermosillo y políticas con otros grupos indígenas. No acostumbran salir de su localidad en busca de trabajo y conservan su lengua con gran vitalidad. Se dice que existe resentimiento hacia los mestizos debido al recuerdo de las matanzas y lucha por sus territorios (CDI, 2005). Esto probablemente influya en que este grupo se caracterice por la ausencia de algunos genotipos y la presencia de frecuencias significativamente distintas al resto de los pueblos indígenas. Sería importante realizar estudios que profundicen en los rasgos genéticos de esta etnia.

Por otra parte, en materia de salud, los polimorfismos aquí analizados se han reportado asociados principalmente con susceptibilidad de desarrollar diversos

tipos de cáncer. A pesar de la poca información disponible respecto a los problemas de salud en las comunidades indígenas, se ha reportado que una de las causas comunes entre mujeres es el cáncer de mama (CaMa) cuya tasa de muerte ocurre en 16 de cada 100 mil mujeres indígenas. Las regiones mayo-yaqui, popoluca-náhuatl, mixteca y frontera sur, entre otras, registran un mayor nivel de mortalidad por CaMa, el cual se ha encontrado en asociación con la ausencia de *GSTT1* y *GSTM1* (CEAMEG, 2012; Possuelo *et al.*, 2013). De acuerdo con los mapas de distribución geográfica de ambos polimorfismos, las áreas donde se encuentran los yaqui, popolucas y mixtecos para *GSTM1*, y mayos, popolucas, mixtecos y mochós para *GSTT1*, corresponden respectivamente a las que tienen frecuencias elevadas de sus genotipos nulos (Figuras 5.6 y 5.7). Por lo que, resulta importante, en un futuro, estudiar la posible una asociación entre las variantes genéticas y la susceptibilidad a estas enfermedades en los grupos indígenas.

Además, recientemente las enfermedades metabólicas se han vuelto un problema de salud pública, debido al incremento acelerado de sus prevalencias en las últimas décadas. Las poblaciones nativas americanas se encuentran en gran riesgo, debido al estilo de vida que se ha ido modificando hacia una falta de actividad física, mala nutrición y gran ingesta calórica, lo que conlleva un aumento de problemas de salud (CDI, 2005). Los grupos amerindios sufren de enfermedades metabólicas de manera desproporcionada respecto al resto de las poblaciones, como es el caso de la DT2 (Ríos-Burrows *et al.*, 2000). Durante los últimos años, en la literatura se ha detallado que estas enfermedades están

estrechamente relacionadas; un factor común entre sí mismas es el EO presente en el tejido adiposo, el cual es parte de su fisiopatología porque provoca una desregulación en la producción de adipocitocinas, e incluso lleva a un importante aumento de ERO en el plasma sanguíneo afectando a nivel sistémico (Furukawa *et al.*, 2013).

De acuerdo con los resultados preliminares en los nativos americanos estudiados, se observó una prevalencia alta en problemas metabólicos; aproximadamente del 42.1% para SMet, del 18.2% para DT2 y del 18.9% para obesidad (*manuscrito en preparación*). Estos datos, probablemente se encuentren relacionados a la elevada frecuencia observada en amerindios, respecto a otras poblaciones, de los alelos y genotipos de riesgo para las variantes genéticas que afectan la capacidad celular antioxidante. Algunos de estos polimorfismos, como los presentes en *NQO1*, *GCLM* y *GSTT1*, se han asociado con anterioridad a la fisiopatología de enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Zhu *et al.*, 2012; Nakamura *et al.* 2003; Katakami *et al.*, 2009; Abu-Amero *et al.*, 2006). Por lo que, los resultados obtenidos en este trabajo permitirán sentar las bases para realizar estudios de asociación en poblaciones amerindias y conocer si existen asociaciones no descritas con los componentes del SMet.

De acuerdo a discutido anteriormente, los pueblos amerindios poseen rasgos culturales, históricos y lingüísticos que les confieren identidad, por lo que las diferencias genéticas observadas en los grupos pueden atribuirse a estos. El pasado histórico y la lengua de las etnias nos ayudan a entender las similitudes y diferencias entre las frecuencias genéticas, en conjunto, con el grado de

aislamiento geográfico, el tamaño poblacional y las costumbres que contribuyen o limitan el flujo genético con otras poblaciones. El conocer las frecuencias de los polimorfismos funcionales en *NQO1*, *GCLM*, *GSTP1*, *GSTM1* y *GSTT1* en las poblaciones amerindias, permitió saber que estas variantes están enriquecidas, y en algunos casos ausentes entre las diferentes etnias. Las diferencias entre los grupos amerindios indicaron que existe heterogeneidad genética. Además, en este trabajo se proporcionan las bases para realizar futuros estudios de asociación, tomando en cuenta el papel de las variantes de riesgo en la susceptibilidad a padecer enfermedades crónico-degenerativas.

7. CONCLUSIONES

- Los tarahumaras y nahuas no están en equilibrio Hardy-Weinberg para el polimorfismo *GCLM* -588C/T, probablemente por endogamia y flujo genético respectivamente. El resto de las poblaciones se encontraron en equilibrio.
- Las frecuencias observadas en las poblaciones amerindias muestran una gran heterogeneidad genética. Incluso, dentro de etnias pertenecientes a la misma familia lingüística.
- La distribución de los alelos y genotipos de riesgo en el territorio mexicano no muestran un patrón de distribución particular, a pesar de esto, las regiones seri, mayo-yaqui, popoluca y frontera sur presentan generalmente frecuencias distintas al resto.
- Las frecuencias observadas para las variantes en *NQO1*, *GCLM*, *GSTP1* y *GSTM1* en las poblaciones amerindias son mayores a las reportadas para los caucásicos de España y africanos, por lo que se sugiere que los amerindios hayan contribuido en el aporte de estas variantes a la población mestiza mexicana.
- El análisis entre los grupos lingüísticos mostró que aquellas poblaciones que se consideran lingüísticamente cercanas son similares para las variantes genéticas estudiadas en este trabajo, por lo que profundizar en el análisis genético de las poblaciones contribuirá en conocer las relaciones genéticas entre éstas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abu-Amero, K. K., Al-Boudary, O. M., Mohamed, G. H., Dzimiri, N. (2006). T^{null} and M^{null} genotypes of the glutathione S-transferase gene are risk factor for CAD independent of smoking. *BMC Medical Genetics*: 7:38.
- Brackett, J., Krull, K. R., Scheurer, M. E., Liu, W., Srivastava, D. K., Stovall, M., Merchant, T. E., Packer, R. J., Robison, L. L., Okcu, M. F. (2012). Antioxidant enzyme polymorphisms and neuropsychological outcomes in medulloblastoma survivors: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Neuro-Oncology*, 14(8):1018-1025.
- Bress, A., Patel, S. R., Minoli, A. P., Campbell, R. T., Kittles, R. A., Callavari, L. H. (2012). Effect of NQO1 and CYP4F2 genotypes of warfarin dose requirements in Hispanic-Americans and African-Americans. *Pharmacogenomics*, 13(16):1925-1935.
- Castelán-Martínez, O. D., Hoyo-Vadillo, C., Sandoval-García, E., Sandoval-Ramírez, L. González- Ibarra, M., Solano-Solano, G., Gómez-Díaz, R. A., Parra, E. J., Cruz, M., Valladares-Salgado, A. (2013). Allele frequency distribution of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 polymorphisms in six Mexican populations. *Gene* 38512. pp.6.
- Castillo-Cisneros, M. C.(2006). Tacuates: Pueblos Indígenas del México Contemporáneo. Mexico: CDI.
- Campbell, D. D., Parra, M. V., Duque, C., Gallego, N., Franco, L., Tandon, A., Hünemeier, T., Bortolini, C., Villegas, A., Bedoya, G., McCarthy, M., Price, A., Reich, D., Ruiz-Linares, A. (2012). Amerind Ancestry, Socioeconomic Status and the Genetics of Type 2 Diabetes in a Colombian Population. *PLoS ONE* 7(4): e33570.
- Cargill, M., Altshuler, D., Ireland, J., Sklar, P., Ardlie, K., Patil, N., Lane, C. L., Lim, E. P., Kalyanamaran, N., Nemesh, J., Ziaugra, L., Friedland, L., Rolfe, A., Warrington, J., Lipshutz, R., Daley, G. Q., Lander, E. S. (1999).

Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genetics*, 22:231-237.

Carless, M. A., Lea, R. A., Curran, J. E., Appleyard, B., Gaffney, P., Geen, A., Griffiths, L. R. (2002). The GSTM1 null genotype confers an increased risk for solar keratosis development in an Australian Caucasian population. *The Journal of Investigative Dermatology*, 119:1373-1378.

Cencioni, C., Spallotta, F., Martelli, F., Valente, S., Mai, A., Zeiher, A. M., Gaetano, C. (2013). Oxidative Stress and Epigenetic Regulation in Ageing and Age-Related Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 14:17643-17663.

Centro de estudios para el adelanto de las mujeres y la equidad de género, CEAMEG. (2012). Información analítica. Cámara de diputados, LXI Legislatura. 260 pp.

Chappell, S., Daly, L., Morgan, K., Guetta-Baranes, T., Roca, J., Rabinovich, R., Lotya, J., Millar, A. B., Donnelly, S. C., Keatings, V., MacNee, W., Stolk, J., Hiemstra, P. S., Miniati, M., Monti, S., O'Connor, C. M., Kalsheker, N. (2008). Genetic variants of microsomal epoxide hydrolase and glutamate-cysteine ligase in COPD. *European Respiratory Journal*, 32:931-937.

Chatterjee, S., Lyle, N., Mandal, A. y Kundu, S. (2010). GSTT1 and GSTM1 gene deletions are not associated with hepatotoxicity caused by antitubercular drugs. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 35(4):465-470.

Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI). (2005). *Lenguas indígenas en riesgo: Seris*. México: CDI. 72 p.

Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI). (2009). *Monografías: Popolucas*. Recuperado el 26 de marzo de 2014, de <http://www.cdi.gob.mx/>.

- Cookson, W., Liang, L, Abecasis, G., Moffatt, M., Lathrop, M. (2009). Mapping complex disease traits with global gene expression. *Nature Reviews Genetics*, 10:184-193.
- Crimi, E., Sica, V., Williams-Ignarro, S., Zhang, H., Slutsky, A. S., Ignarro, L. J., Napoli, C. (2006). The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radical Biology & Medicine*, 40:398-406.
- De Tursi-Ríspoli, L., Vázquez-Tarragón, A., Vázquez-Prado, A., Sáez- Torno, G., Ismail, A. M., Gumbau-Puchol, V. (2013). Estrés oxidativo: estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. *Nutrición Hospitalaria*, 28 (3); 671-675.
- Dunna, N. R., Anuradha, C., Vure, S., Sallaja, K., Raghunadhara, D., Rajappa, S., Vishnupriya, S. (2011). NQO1*2 [NAD(P)H: quinone oxireductase 1] polymorphism and its influence on acute leukemia risk. *Biology and Medicine*, 3(3):19-25.
- Engström, K., Wennberg, M., Strömberg, U., Bergdahl, I., Hallmans, G., Jansson, J., Lund, T., Norberg, M., Rentschler, G., Skerfving, S., Broberg, K. (2011). Evaluation of the impact of genetic polymorphisms in glutathione-related genes on the association between methylmercury or n-3 polyunsaturated long chain fatty acids and risk of myocardial infarction: a case-control study. *Environmental Health*, 10:33.
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, A., Esquivel-Chirinp, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Riviera, G., Valadez-Vega, C., Morales-González, J. A. (2011). Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 12:3117-3232.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114: 1752-1761.

- García-González, M. A., Quintero, E., Bujanda, E., Nicolás, D., Benito, R., Strunk, M., Santolaria, S., Sopeña, F., Bandía, M., Hijona, E., Pérez-Aísa, M. A., Méndez-Sánchez, I. M., Thomson, C., Carrera, P., Piazuelo, E., Jiménez, P., Espinel, J., Campo, R., Manzano, M., Geijo, F., Pellisé, M., González-Huix, F., Espinós, J., Titó, L., Zaballa, M., Pazo, R., Lanás, A. (2012). Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis*, 27(6):771-777.
- Guo, S., Gao, M., Li, X., Li, Y., Chu, S., Zhu, D., Niu, W. (2012). Lack of Association between NADPH Quinone Oxidoreductase 1 (NQO1) Gene C609T Polymorphism and Lung Cancer: A Case-Control Study and a Meta-Analysis. *PLoS ONE* 7(10): e47939.
- Hamamachi, T., Tajima, O., Uezono, K., Tabata, S., Abe, H., Ohnaka, K., Kono, S. (2013). CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and NQO1 polymorphisms and colorectal adenomas in Japanese men. *World Journal of Gastroenterology*. 19 (25): 4023-4030.
- Hanzawa, R., Ohnuma, T., Nagai, Y., Shibata., Maeshima. H., Baba, H., Hatano, T., Takebayashi, Y., Hotta, Y., Kitazawa, M., Arai, H. (2011). No association between glutathione-synthesis-related genes and Japanese schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 65:39-46.
- Hayes, J. D., Strange, R. C. (2006). Glutathione S-Transferase Polymorphisms and Their Biological Consequences. *Pharmacology*, 61:154-166.
- He, H., Zhang, X., Sun, J., Hu, S., Ma, Y., Dong, Y., Lu, J. (2014). Glutathione S-transferase gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Tumor biology*. DOI 10.1007/s13277-014-1810-7.
- Hirotsu, Y., Katsuoka, F., Funayama, R., Nagashima, T., Nashida, Y., Nakayama, K., Engel, J. D., Yamamoto, M. (2012). Nrf2-MafG heterodimers contribute globally to antioxidant and metabolic network. *Nucleic Acid Research*, 40(20):10228-10239.

Hou, L., Chatterjee, N., Huang, W., Baccarelli, A., Yadavalli, S., Yeager, M., Bresalier, R. S., Chanock, S. J., Caporaso, N. E., Ji, B., Weissfeld, J. L., Hayes, R. B. (2005). CYP1A1 Val 462 and NQO1 Ser 187 polymorphisms, cigarette use, and risk for colorectal adenoma. *Carcinogenesis*, 26 (6):1122-1128.

Instituto Nacional de Lenguas Indígenas (INALI). (s.f.). *Monografías*. Recuperado el 24 de marzo de 2014, de <http://www.inali.gob.mx>.

Instituto Nacional de Lenguas Indígenas. Catálogo de las Lenguas Indígenas Nacionales: Variantes lingüísticas de México con sus autodenominaciones y referencias geoestadísticas. Disponible en: <http://www.inali.gob.mx/clin-inali>.

Johansson A.S., Stenberg, G., Widersten, M., Mannervik, B. (1998). Structure-activity relationships and thermal stability of human glutathione transferase P1-1 governed by the H-site residue 105. *Journal of Molecular Biology*, 278(3):687-698.

Juárez-Velázquez, R., Canto, P., Canto-Cetina, T., Rangel-Villalobos, H., Rosas-Vargas, H., Rodríguez, M., Canizales-Quinteros, S., Velazquez-Wong, A.C., Ordoñez-Razo, R. M., Vilchis-Dorantes, G., Coral-Vázquez, R. M. (2010). Analysis of polymorphisms in genes (AGT, MTHFR, GPIII, and GSTP1) associated with hypertension, thrombophilia and oxidative stress in Mestizo and Amerindian populations of México. *Disease Markers*, 28:323-331.

Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1: 244-257.

Katakami, N., Sakamoto, K., Kaneto, H., Matsuhisa, M., Shimizu, I., Ishibashi, F., Osonoi, T., Kashiwagi, A., Kawamori, R., Hori, M., Yamasaki, Y. (2009). Combined effect of oxidative stress-related gene polymorphisms on atherosclerosis. *Biochemical and Biophysiological Research Communications*, 379: 861-865.

- Katakami, N., Kaneto, H., Matsuoka, T., Takahara, M., Imamura, K., Ishibashi, F., Kanda, T., Kawai, K., Osonoi, T., Kashiwagi, A., Kawamori, R., Matsuhisa, M., Shimomura, I., Yamasaki, Y. (2010). Accumulation of gene polymorphisms related to oxidative stress is associated with myocardial infarction in Japanese type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*, 212:534-538.
- Königsberg-Fainstein, M. (2007). Nrf2: La Historia de un Nuevo Factor de Transcripción que Responde a Estrés Oxidativo. *Revista de Educación Bioquímica*, 26(1):18-25.
- Krajinovic, M., Sinnett, H., Richer, C., Labuda, D., Sinnett, D. (2002). Role of NQO1, MPO and CYP2E1 genetic polymorphisms in the susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *International Journal of Cancer*, 97:230-236.
- Landi, S. (2000). Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutation Research*, 463: 247-283.
- Lau A., Villeneuve, N. F., Sun, S., Wong, P. K., Zhang, D. D. (2008). Dual Roles of Nrf2 in Cancer. *Pharmacological Research*, 58 (5-6): 262-270.
- Lazalde-Ramos, B. P., Martínez-Fierro, M., Galaviz-Hernández, C., Garza-Veloz, I., Naranjo, M. E. G., Sosa-Macías, M., Llenera, A. (2014). CYP2D6 gene polymorphisms and predicted phenotypes in eight indigenous groups from northwestern Mexico. *Pharmacogenomics*, 15(3): 339-348.
- Lima de Figueiredo-Teixeira, R., Quinhones-Pires Lopes, M., Suffys P. N., Rezende-Santos, A. (2013). Tuberculosis Pharmacogenetics: State of The Art, Tuberculosis - Current Issues in Diagnosis and Management, Dr. Bassam Mahboub (Ed.)
- Lorenz, J. G., Smith, D. G. (1996). Distribution of four founding mtDNA haplogroups among native north americans. *American journal of physical anthropology*, 101(3): 307-323.

- Marson, F. A. Bertuzzo, C. S., Secolin, R., Ribeiro, A. F., Ribeiro, J. D. (2013) Genetic interaction of GSH metabolic pathway in cystic fibrosis. *BMC Medical Genetics*, 14: 60-67.
- Moreno-Macías, H., Dockery, D., Schwartz, J., Gold, D., Laird, N., Sienra-Monge, J., Del Rio-Navarro, B., Ramirez-Aguilar, M., Baraza-Villarreal, A., Li, H., London, S., Romieu, I. (2013). Ozone exposure, vitamin C intake and genetic susceptibility of asthmatic children in Mexico City: A cohort study. *Respiratory Research* 14:14.
- Nakamura, S., Sugiyama, S., Fujioka, D., Kawabata, K., Ogawa, H., Kugiyama, K., (2003). Polymorphism in Glutamate-Cysteine Ligase Modifier Subunit Gene Is Associated With Impairment of Nitric Oxide-Mediated Coronary Vasomotor Function. *Circulation*, 108:1425-1427.
- Navarrete L., F. (2008). Los pueblos indígenas de México: Los Pueblos Indígenas del México Contemporáneo. México: CDI. 141p.
- Niture, S. K., Kaspar, J. W., Shen, J., Jaiswal, A. K. (2010). Nrf2 Signaling and Cell Survival. *Toxicology Applied Pharmacology*, 244(1):37-42.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., Willard, H. F. (2008). Genética en Medicina. Thompson & Thompson. Elsevier. España. pp. 584.
- Oskina, N. A., Ermolenko, N. A., Boyarskih, U. A., Lazarev, A. F., Petrova, V. D., Ganov, D. I., Tonacheva, O. G., Lifschitz, G. I., Filipenko, M. L. (2014). Associations Between SNPs within Antioxidant Genes and the Risk of Prostate Cancer in the Siberian Region of Russia. *Pathology and Oncology Research*. DOI 10.1007/s12253-014-9742-5.
- Parl, F. F. (2005). Glutathione S-transferase genotypes and cancer risk. *Cancer Letters*, 211:123-129.

- Pérez-Morales, R., Méndez-Ramírez, I., Castro-Hernández, C., Martínez-Ramírez, O., Gonsebatt, M., Rubio, J. (2011). Polymorphisms associated with the risk of lung cancer in healthy Mexican Mestizo population: Application of the additive model for cancer. *Genetics and Molecular Biology*, 34(4):546-552.
- Pérez-Suárez, T. (2004). Las lenguas mayas: historia y diversidad. *Revista Digital Universitaria*, 5 (7): 1-11.
- Pintado-Cortina, A. P. (2004). Tarahumaras (Pueblos indígenas del México contemporáneo) CDI: PNUD. 39 p.
- Plan Nacional de Desarrollo / Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (2010). Programa para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas 2009-2011. México:CDI. 93 p.
- Pompella, A., Viviskis, A., Paolicchi, A., De Tata, V., Casini, A. F. (2003). The changing faces of glutathione, a celular protagonist. *Biochemical Pharmacology*, 66:1499-1503.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Ramírez-Bello, J. Vargas-Alarcón, G. Fragoso, J.M. (2013). Single nucleotide polymorphisms (SNPs): functional implications of regulatory-SNP (rSNPs) and structural RNA (srSNPs) in complex disease. *Gaceta Médica de México*; 2: 220-8.
- Rasmussen, M., Anzick, S., Waters, M. R., Skoglund, P., DeGiorgio, M., Stafford, T. W., Rasmussen, S., Moltke, I., Albrechtsen, A., Doyle, S.M., Poznik, G. D., Gudmundsdottir, V., Yadav, R., Malaspina, A., Stockton, S., Allentoft, M., Cornejo, O.E., Tambets, K., Eriksson, A., Heintzman, P., Karmin, M., Korneliussen, T. S., Meltzer, D. J., Pierre, T. L., Stenderup, J., Saag, L., Warmuth, V., Lopes, M., Malhi, R. S., Brunak, S., Sicheritz-Ponten, T., Barnes, I., Collins, M., Orlando, L., Balloux, F., Gupta, R., Metspalu, M., Bustamante, C. D., Jakobsson, M., Nielsen, R. (2014). The genome of a

Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature*, 506: 225-229.

Raza, H. (2011). Dual localization of glutathione S-transferase in the cytosol and mitochondria: implications in oxidative stress, toxicity and disease. *Federation of European Biochemical Societies*, 278(22): 4243–4251.

Rebbeck, T. R. (1997). Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes *GSTM1* and *GSTT1* in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 6:733-743.

Ríos-Burrows, N., Geiss, L. S., Engelgau, M. M., Acton, K. J. (2010). Prevalence of Diabetes Among Native Americans and Alaska Natives, 1990, 1997: An increasing burden. *Diabetes Care*, 23: 1786-1790.

Sharma, A., Pandey, A., Pandey, S., Sehgal, A., Sharma, J. K. (2012). Genetic Polymorphisms of *GSTM1* and *GSTT1* Genes in Delhi and Comparison with other Indian and Global Populations. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(2):5647-5652.

Siedlinski, M., Postma, D. S., Van Diemen, C.C., Blokstra, A. Smit, H.A, Boezen, H. M. (2008). Lung Function Loss, Smoking, Vitamin C Intake and Polymorphisms of the Glutamate-Cysteine Ligase Genes. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 178:13-19.

Strom, T. M., Wienker, T. F. [electrónico]: De Finetti. Case-control studies: Test for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and test for association. Programa computacional.

Torres C., G. (2004). Mixes: Pueblos Indígenas del México Contemporáneo, México: CDI: PNUD. 47 p.

Tusié-Luna M., T. (2001). El mapa de la variabilidad genética, los SNPs y algunas de sus aplicaciones en medicina. *La Revista de Investigación Clínica*, 55(4):308-310.

- Valle-Esquivel, J. (2003). Nahuas de la Huasteca: Pueblos indígenas del México contemporáneo. CDI:PNUD. 31 p.
- Van Emburgh, B. O., Hu, J. J., Levine, E. A., Mosley, L. J., Perrier, N. D., Freimans, R. I., Allen, G. O., Rubin, P., Sherrill, G. B., Shaw, C. S., Carey, L. A., Sawyer, L. R., Miller, M. S. (2013). Polymorphisms in *CYP1B1*, *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1*, and susceptibility to breast cancer. *Oncology Reports*, 19 (5):1311-1321.
- Wang, S., Ray, N., Rojas, W., Parra, M. V., Bedoya, G., Gallo, C., Poletti, G., Mazzotti, G., Hill, K., Hurtado, A. M., Camarena, B., Nicolini, H., Klitz, W., Barrantes, R., Molina, J. A., Freimer, N. B., Bortolini, M C, Salzano, F. M., Petz-Erlor, M., Tsuneto, L. T., Dipierri, J. E., Alfaro, E. L., Baillet, G., Bianchi, N. O., Llop, E., Rothhammer, F., Excoffier, L., Ruiz-Linares, A. (2008). Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genetics* 4(3):e1000037.
- Watson, M. A., Stewart, R. K., Smith, G. B., Massey, T. E., Bell, D. A. (1998). Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution, *Carcinogenesis*, 19:275-280.
- Wei, B., Zhou, Y., Xu, Z., Ruan, J., Cheng, H., Zhu, M., Hu, Q., Ke, J., Yan, Z., Zhou, D., Xuan, F., Zhou, H., Wang, Z., Huang, X., Wang, Q. (2013). GSTP1 Ile105Val Polymorphism and Prostate Cancer Risk Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS ONE* 8(8):e71640.
- Winski, S. L., Koutalos, Y., Bentley, D. L., Ross, D. (2002). Subcellular Localization of NAD(P)H:quinone Oxidoreductase 1 in Cancer Cells. *Cancer Research*, 62:1420-1424.
- Wichmann, S. (1995). The Relationship Among the Mixe-Zoquean Languages of Mexico. University of Utah Press. 619 pp.

- Xu, C-h., Wang, Q., Zhan, P., Qian, Q., Yu, L.-K. (2014). GSTP1 Ile 105 Val polymorphism is associated with lung cancer risk among Asian population and smokers: An updated meta-analysis. *Molecular Biology Reports*. DOI 10.1007/s11033-014-3290-7.
- Yamada, I., Matsuyama, M., Ozaka, M., Inoue, D., Muramatsu, Y., Ishii, H., Junko, U., Ueno, M., Egawa, N., Nakao, H., Mori, M., Matsuo, K., Nishiyama, T., Ohkawa, S., Hosono, S., Wakai, K., Nakamura, K., Tamakoshi, A., Kumura, S., Nojima, M., Takahashi, M., Shimada, K., Yagyu, K., Kikuchi, S., Lin, T. (2014). Lack of Associations between Genetic Polymorphisms in GSTM1, GSTT1, and GSTP1 and Pancreatic Cancer Risk: A Multi-Institutional Case-Control Study in Japan. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15: 391-395.
- Yan, J. Na, L., Pin, D., Niankai, Z., Yan, S., Min, H., Junfeng, W., Min, C. (2011). Polymorphisms in *GSTM1*, *GSTT1* and *GSTP1* and Nasopharyngeal Cancer in the East of China: a Case-Control Study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12:3097-3100.
- Yanling, H., Yuhong, Z., Wenwu, H., Lei, X., Mingwu, C. (2013). NQO1 C609T polymorphism and esophageal cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. *BMC Medical Genetics*, 14:31.
- Zhu, H., Li, Y. (2012). NAD(P)H:Quinone Oxidoreductase 1 and its Potential Role in Cardiovascular Diseases and Related Conditions. *Cardiovascular Toxicology*, 12:39-45.
- Zhu, C. L., Huang, Q., Liu, C. H., Lin, X. S., Xie, F., Shao, F. (2013). NAD(P)H: Quinone Oxidoreductase 1 (NQO1) C609T Gene Polymorphism Association with Digestive Tract Cancer: A Meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14 (4):2349-2354.